



MD 4480 C1 2017.12.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4480** (13) **C1**  
(51) Int.Cl: *A61K 35/76* (2006.01)  
*C12N 7/00* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

|  |  |
|--|--|
| <p>(21) Nr. depozit: a 2016 0014<br/>(22) Data depozit: 2014.07.16</p> <p>(31) Nr.: 13176757.6<br/>(32) Data: 2013.07.16<br/>(33) Țara: EP<br/>(41) Data publicării cererii:<br/>2016.07.31, BOPI nr. 7/2016</p>                               | <p>(45) Data publicării hotărârii de<br/>acordare a brevetului:<br/>2017.05.31, BOPI nr. 5/2017</p> <p>(85) 2016.02.15<br/>(86) PCT/EP2014/065277, 2014.07.16<br/>(87) WO 2015/007788 A1, 2015.01.22</p> |
| <p>(71) Solicitant: DITESAN LTD., LV<br/>(72) Inventatori: VENSKUS Dite, LV; KALVINS Ivars, LV; PJANOVA Dace, LV; PETROVSKA Ramona, LV; AUZINS Jurgis, LV<br/>(73) Titular: DITESAN LTD., LV<br/>(74) Mandatar autorizat: GLAZUNOV Nicolae</p> |  |

(54) Virus ARN oncolitic stabil genetic, metodă de producere și de utilizare a acestuia

(57) Rezumat:

1  
Invenția se referă la enterovirusul modificat ECHO tip 7, care poate fi utilizat pentru tratamentul unor tumori maligne.

Esența invenției constă în producerea enterovirusului modificat ECHO tip 7 prin modificarea virusului nativ ECHO 7 izolat printr-o metodă cunoscută din fecale umane și identificat în baza secvenței genomului, unde modificarea se realizează inițial prin adaptarea virusului în celulele canceroase atenuate cu

2  
preparatul antitumoral dacarbazină, apoi virusul modificat este trecut în cultură de fibroblaști embrionari umani cu reproducerea ulterioară în celule de melanom uman și pasajul ulterior în cultură de fibroblaști embrionari umani tratată cu ribavirină, izolarea și purificarea printr-o metodă cunoscută.

Revendicări: 12

Figuri: 2

Secvențe: 55

MD 4480 C1 2017.12.31

**(54) Genetically stable oncolytic RNA virus, method of manufacturing and use thereof**

**(57) Abstract:**

1  
The invention relates to a modified enterovirus of ECHO 7 type, suitable for treating various malignant tumors.

Summary of the invention consists in manufacturing a modified enterovirus of ECHO 7 type by modification of native ECHO 7 virus, isolated by a known method from human feces and identified by genome sequence, wherein the modification is performed initially by conducting the virus adaptation in cancer cells, attenuated by anti-

2  
cancer agent decarbazine, further passaging the modified virus in human embryonal fibroblast culture, followed by propagation in human melanoma cells and further passaging in human embryonal fibroblast culture, that was treated by ribavirin, isolation and purification by known method.

Claims: 12

Fig.: 2

Sequences: 55

**(54) Генетически стабильный онколитический РНК вирус, способ его производства и применения**

**(57) Реферат:**

1  
Изобретение относится к модифицированному энтеровирусу ЕСНО 7, который может быть использован для лечения некоторых злокачественных опухолей.

Сущность изобретения состоит в производстве модифицированного энтеровируса ЕСНО 7 типа путем модификации природного вируса ЕСНО 7, выделенного известным способом из фекалий человека и идентифицированного по последовательности генома, где модификацию осуществляют изначально путем адаптации вируса в раковых клетках,

2  
ослабленных противоопухолевым средством дакарбазином, затем переносят модифицированный вирус в культуру эмбриональных фибробластов человека с последующим репродуцированием в клетках меланомы человека и дальнейшим переносом в культуру эмбриональных фибробластов человека, обработанную рибавирином, выделяют и очищают известным способом.

П. формулы: 12

Фиг.: 2

Последовательности: 55

**Descriere:**

Prezenta invenție se referă la elaborarea unui nou preparat medicamentos anticanceros, produs printr-o metodă biotehnologică, și anume la un virus ARN oncolitic stabil genetic, la o metodă de producere și de utilizare a acestuia.

Abilitatea virusurilor de a distruge celulele canceroase este cunoscută de mai bine de un secol, iar în terapia cancerului experimental s-au produs numeroase rezultate pozitive de perspectivă cu diverse virusuri, cu toate acestea utilizarea lor în practica clinică este îngreuiată de dificultatea de a prevedea interacțiunea dintre tumoare și gazda acesteia, precum și dintre virus și răspunsul sistemului imunitar uman la anticorpii împotriva virusului (Kelly E., Russell S.J. History of oncolytic viruses: genesis to genetic engineering. Mol. Ther., 2007, nr.15, p. 651-659).

Deși investigațiile clinice privind utilizarea virusurilor în terapia cancerului au început în urmă cu mai mult de 50 de ani, în prezent doar două virusuri sunt aprobate pentru utilizare clinică în tratamentul cancerului. Ele reprezintă adenovirusul cu gena E1B 55K eliminată [1] și enterovirusul nemodificat pasivizat din familia Picornaviridae de tip Echo [2] în calitate de imunostimulatoare antitumorale.

Astfel, elaborarea unor noi virusuri oncolitice eficiente este încă o problemă de actualitate (Han Hsi Wong, Nicholas R. Lemoine, Yaohe Wang. Viruses, 2010, nr. 2, p. 78-106)

În scopul de a spori potențialul virusului în ceea ce privește selectivitatea infectării celulelor canceroase și intensificarea activității oncolitice, a fost dezvăluit un număr de virusuri modificate. Ele sunt caracterizate prin deleția unor gene concrete, astfel prevenind propagarea lor în celulele normale, sau prin integrarea unor gene suplimentare pentru îmbunătățirea proprietăților oncolitice.

Cu toate acestea, cunoștințele limitate în ceea ce privește modificările genetice care asigură selectivitatea și eficiența împotriva celulelor tumorale, conduce la aceea că virusurile modificate posedă o activitate citolitică mai redusă, comparativ cu virusul nativ, sau un răspuns antiviral mai puternic al sistemului imunitar uman (Han Hsi Wong, Nicholas R. Lemoine, Yaohe Wang. Viruses, 2010, nr. 2, p. 78-106), (Meerani S., Yang Yao. Oncolytic viruses in cancer therapy. European Journal of Scientific Research, vol. 40, no.1, 2010, p.156-171).

Deși virusurile sunt instrumente uzuale pentru transportul vectorilor în celule, utilizarea lor este limitată de imunogenitatea înaltă a virusurilor (Peng Z. Current status of genedicine in China: recombinant human Ad-p53 agent for treatment of cancers. Hum. Gene. Ther., 2005, no. 16, p. 1016-1027).

Una dintre proprietățile adverse cele mai grave ale virusurilor nemodificate de tip ECHO, inclusiv ECHO 7, este capacitatea lor de a provoca infecții, care pot avea un rezultat fatal (Wreghitt T.G., Gandy G.M., King A., Sutehall G. Fatal neonatal ECHO 7 virus infection, The Lancet, vol. 324, 1984, p. 465). Aceste virusuri sunt cunoscute a fi responsabile pentru bolile mâinilor, picioarelor și cavității bucale în Malaezia (Hand, foot and mouth disease in Malaysia. 25 October 2000, <http://www.vadscorner.com/echovirus7.html>), pentru miocardită la copiii cu leucemie (Midula M., Marzetti G., Borra G., Sabatino G. Myocarditis associated with ECHO 7 type infection in leukemic child. Acta Paediatrica, Vol. 65, Issue 4, 1976, p. 649-651), meningită aseptică, boli paralitice și febră (<http://viroloqv-online.com/viruses/Enteroviruses8.htm>). De aceea patogenitatea este una dintre cele mai importante limitări, care urmează a fi depășită în utilizarea virusurilor de tip ECHO 7 în tratarea pacienților cu cancer.

Astfel, problema pe care o rezolvă prezenta invenție este elaborarea unui virus oncolitic selectiv, foarte eficient, fără patogenitate în celulele normale și cu un răspuns imunologic redus, având o stabilitate genetică înaltă. Este bine știut și cunoscut că virusurile ARN pot evolua foarte ușor la trecerea în culturi de celule, ceea ce poate modifica fenotipul, conducând la creșterea patogenității. Astfel, pentru obținerea unui medicament pe bază de virus oncolitic, folosind o tulpină de virus nepatogen ECHO 7 de tip sălbatic în calitate de materie primă, este extrem de important să se găsească o procedură care ar permite să genereze o modificare oncolitică a acestui virus, care ar păstra caracterul nepatogen al virusului nativ și i-ar asigura o stabilitate genetică.

Această problemă a fost rezolvată în mod surprinzător printr-o modificare direcționată a virusului cu ARN monofilar prin elaborarea unei metode, în care s-a utilizat potențialul înalt de mutație al virusului cu ARN monofilar în combinație cu o selecție direcționată a mutanților, care asigură separarea rapidă din ansamblu a tipurilor mutante cu activitate oncolitică înaltă și

selectivă. Multe celule canceroase sunt rezistente la virus (virusul nu poate intra în celulă și supraviețui acolo). Printr-o selectare atentă a unor linii celulare, în care virusul este modificat, și o pretratare adecvată a celulelor canceroase, este posibilă crearea unui virus nepatogen stabil genetic pentru tratamentul cancerului. Virusul, conform prezentei invenții, este în esență prima

5 dezvoltare a unui virus oncolitic stabil genetic pe bază de virus de tip ECHO-7, totodată, virusul stabil genetic menționat asigură aplicabilitate pentru o producere pe termen lung (o reproducere multiplă) în calitate de medicament.

A fost elaborată o modificare a virusului ECHO 7 nativ, identificat prin secvența genomului Seq No 2, metoda cuprinzând inițial efectuarea adaptării virusului în celulele canceroase, atenuate cu un agent anticanceros, cum ar fi dacarbazina, pasajul virusului modificat în cultură de fibroblaste embrionare umane, reproducerea în celulele melanomului uman și pasajul în cultură de fibroblaste embrionare umane, opțional tratate cu ribavirină, izolarea virusului și purificarea virusului. Virusul poate fi izolat și purificat prin metode cunoscute. Utilizarea unui agent anticanceros, cum ar fi dacarbazina în concentrații subtoxice pentru modificarea celulelor

10 canceroase și utilizarea acestor celule canceroase tratate în calitate de celule gazdă pentru replicarea virusului a condus la crearea unui virus mutant cu genom stabil, potrivit pentru aplicare în calitate de medicament foarte eficient pentru tratarea cancerului.

În procesul realizării adaptării virusului pot fi utilizate mai mult de un tip de linii celulare.

Invenția se explică prin desenele din fig. 1- 2, care reprezintă:

20 - fig. 1, o comparație a genomurilor (Seq ID No 1) virusului și virusului nemodificat (nativ) (Seq ID No 2) și

- fig. 2, o comparație a secvențelor de aminoacizi ale virusului modificat (Seq ID No 4) și ale virusului nemodificat (nativ) (Seq ID No 5).

LISTA SECVENȚELOR forma desfășurată

25 Seq ID No 1: Virus modificat;  
Seq ID No 2: Virus nemodificat (nativ);  
Seq ID No 3: Virus modificat după reproducere timp de 12 luni;  
Seq ID No 4: Secvența de aminoacizi a virusului modificat;  
Seq ID No 5: Secvența de aminoacizi a virusului nemodificat;  
30 Seq ID No 6: Primer Eo7-1 F; SEQ ID No 7: Primer Eo7-1 R;  
SEQ ID No 8: Primer Eo7-2F; SEQ ID No 9: Primer Eo7-2R;  
SEQ ID No 10: Primer Eo7-3F; SEQ ID No 11: Primer Eo7-3R;  
SEQ ID No 12: Primer Eo7-4F; SEQ ID No 13: Primer Eo7-4R;  
SEQ ID No 14: Primer Eo7-5F; SEQ ID No 15: Primer Eo7-5R;  
35 SEQ ID No 16: Primer Eo7-6F; SEQ ID No 17: Primer Eo7-6R;  
SEQ ID No 18: Primer Eo7-7F; SEQ ID No 19: Primer Eo7-7R;  
SEQ ID NO 20: Primer Eo7-8F; SEQ ID NO 21: Primer Eo7-8R;  
SEQ ID NO 22: Primer Eo7-9F; SEQ ID No 23: Primer Eo7-10F;  
SEQ ID NO 24: Primer Eo7-9R; SEQ ID No 25: Primer Eo7-11F;  
40 SEQ ID NO 26: Primer Eo7-11R; SEQ ID No 27: Primer Eo7-12F;  
SEQ ID NO 28: Primer Eo7-12R; SEQ ID No 29: Primer Eo7-13F;  
SEQ ID No 30: Primer Eo7-13R; SEQ ID NO 31: Primer Eo7-14F;  
SEQ ID NO 32: Primer Eo7-14R; SEQ ID NO 33: Primer Eo7-15F;  
SEQ ID No 34: Primer Eo7- 15R; SEQ ID No 35: Primer Eo7-16F;  
45 SEQ ID No 36: Primer Eo7- 17F; SEQ ID NO 37: Primer Eo7-16R;  
SEQ ID No 38: Primer Eo7- 18F; SEQ ID NO 39: Primer Eo7-18R;  
SEQ ID No 40: Primer Eo7- 19F; SEQ ID No 41: Primer Eo7-19R;  
SEQ ID No 42: Primer Eo7- 20F; SEQ ID No 43: Primer Eo7-20R;  
SEQ ID No 44: Primer Eo7- 21F; SEQ ID NO 45: Primer Eo7-21R;  
50 SEQ ID No 46: Primer Eo7- 22F; SEQ ID No 47: Primer Eo7-22R;  
SEQ ID No 48: Primer Eo7- 23F; SEQ ID NO 49: Primer Eo7-23R;  
SEQ ID No 50: Primer Eo7- 24F; SEQ ID NO 51: Primer Eo7-24R;  
SEQ ID No 52: Primer Eo7- 25F; SEQ ID NO 53: Primer Eo7-25R;  
55 SEQ ID No 54: Primer Eo7- 26F; SEQ ID NO 55: Primer Eo7-26R.

A fost descoperit în mod neașteptat utilitatea pentru acest scop a unui enterovirus cunoscut din familia *Picornaviridae* de tip Echo 7, izolat din intestinul uman. S-a constatat că secvența nucleotidică inițială, determinată printr-o metodă standard, este similară cu cea a *Picornaviridae enterovirus* de tip Wallace.

Verificarea activității oncolitice a enterovirusurilor native izolate în țesut de angiosarcom a demonstrat că nici virusurile aparte și nici combinațiile acestora în doză de  $3 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/0,03 ml nu posedă activitate oncolitică substanțială, cu excepția tipului ECHO 7, care a demonstrat o activitate mai promițătoare (tab. 1).

5

Tabelul 1

Influența virusurilor asupra culturii tisulare de angiosarcom

| Virusul                | Numărul de animale | Numărul de tumori cu regresie în a 4-a zi după infectare | Virusul izolat (care a supraviețuit) | Titrul virusului în ziua a 4-a, TCD <sub>50</sub> /0,1 ml |
|------------------------|--------------------|--|--------------------------------------|---|
| ECHO 4                 | 6                  | 0  | ECHO 4                               | $10^6$ - $10^7$   |
| ECHO 7                 | 6                  | 0  | ECHO 7                               | $10^5$ - $10^6$   |
| Coxsackie B-5          | 6                  | 0  | Coxsackie B-5                        | $10^7$ - $10^8$   |
| ECHO 4 + ECHO 7        | 6                  | 2  | ECHO 7                               | $10^9$  |
| ECHO 4 + Coxsackie B-5 | 6                  | 1  | ECHO 4, Coxsackie B-5                | $10^3$ } $10^8$   |
| ECHO 7 + Coxsackie B-5 | 6                  | 0  | ECHO 7                               | $10^4$ }  |
| Control                | 6                  | 0  |                                      | $10^8$  |

Instabilitatea genomului virusurilor cu ARN monofilare este un fapt bine cunoscut, de aceea, astfel de virusuri, de regulă, nu sunt selectate pentru construirea agenților virali oncolitici.

10 Modificarea virusului nativ izolat a fost realizată în mai multe etape consecutive.

În prima etapă s-a folosit potențialul înalt de mutație al virusurilor ARN (în medie o mutație la fiecare act de replicare) pentru a elabora un mutant citopatic prin replicarea virusului în monostrat de cultură tripsinizată de fibroblaste embrionare umane în prezența serului de vițel.

15 Celulele au fost incubate timp de 10 zile, pasajul se realiza de fiecare dată la degenerarea celulelor din cultură până la 50%.

La testarea virusului selectat în culturi de celule RD, un efect citopatic pronunțat a fost observat deja peste 24 ore după infectare. Titrul virusului elaborat, determinat prin metoda de diluții finale, a constituit TCID<sub>50</sub> =  $1 \times 10^{-8}$ .

20 Această tulpină a fost reproducă, izolată și depozitată la -70°C pentru utilizare ulterioară în producerea unei tulpini oncolitice selective și stabile genetic.

Virusul astfel obținut a fost modificat, utilizând o metodă special elaborată, care cuprinde trei etape.

Prima etapă de modificare în prima linie de celule canceroase.

25 În prima etapă de modificare virusul a fost reproducut în linii celulare tumorale, atenuate cu un agent anticanceros. În această etapă a fost utilizată o linie celulară de adenocarcinom mamar uman (MCF-7).

30 Un monostrat de aceste celule s-a tratat cu dacarbazină DTIC în doză subtoxică (20 μM). După tratarea cu dacarbazină, celulele au fost transferate pe mediu de cultură proaspăt și puse în contact cu virusul, reproducerea fiind continuată fără a adăuga ser. Peste 24 ore de contact cu virusul, din mediu au fost îndepărtate celulele și a fost izolat virusul.

Virusul a fost reprodus în mod repetat (pasaj) în cultură celulară de fibroblaste embrionare umane și utilizat din nou pentru infectarea liniei celulare MCF-7. Această procedură se repetă de 10 ori. Astfel, această etapă de modificare cuprinde reproducerea alternativă a virusului în celule de adenocarcinom mamar uman și fibroblaste embrionare umane.

5 A doua etapă de modificare într-o a doua linie de celule tumorale.

În etapa următoare de modificare, virusul, conform descrierii de mai sus, a fost pus în contact cu cultură celulară de adenocarcinom gastric. Un monostrat de aceste celule s-a tratat cu dacarbazină DTIC în doză subtoxică (20  $\mu$ M).

10 Monostratul de aceste celule a fost infectat cu virusul, izolat după modificarea în prima etapă, și s-a continuat reproducerea într-un mediu de cultură fără ser.

Peste 24 ore de contact cu virusul, din mediu au fost îndepărtate celulele și a fost izolat virusul. Virusul a fost reprodus în mod repetat (pasaj) în cultură celulară de fibroblaste embrionare umane și utilizat din nou pentru infectarea liniei celulare de adenocarcinom gastric. Această procedură se repetă de 10 ori. Astfel, această a doua etapă de modificare cuprinde reproducerea alternativă a virusului în celule de adenocarcinom gastric și fibroblaste embrionare umane.

În prima etapă de modificare și în a doua etapă de modificare procedura de reproducere totdeauna se finalizează cu ultima reproducere în cultură de fibroblaste embrionare umane.

A treia etapă de modificare în celule de melanom uman.

20 Virusul, produs în a doua etapă, a fost utilizat pentru infectarea tumorilor umane, obținute după extirpare chirurgicală.

Țesuturile canceroase de melanom au fost prelevate în cadrul operațiilor de la 23 de pacienți care au administrat anterior chimioterapie.

25 Țesuturile au fost infectate cu virusul modificat și incubate la 37°C în absența dioxidului de carbon. Înainte de folosire pentru infectarea unui nou material tisular (țesut proaspăt de melanom de la un alt pacient), virusul modificat a fost reprodus în mod repetat în cultură de fibroblaste embrionare umane până la o concentrație de 7 Ig TCID<sub>50</sub>/1 ml.

30 Virusul modificat a fost reprodus în culturi celulare de fibroblaste embrionare umane, tratate cu 5 mM ribavirină timp de 7 ore înainte de infectare și cultivate timp de 24 de ore. Virusul a fost izolat din cultură, procedura de reproducere a virusului în cultură de fibroblaste a fost repetată de 10 ori.

În cele din urmă virusul a fost izolat, purificat și reprodus în cultură de fibroblaste embrionare umane fără adaos de ribavirină.

35 Virusul reprodus s-a utilizat pentru determinarea secvenței. Genomul virusului modificat diferă de cel al virusului nativ nemodificat congelat (tip Echo 7, tulpina Wallace din baza de date NCBI) aproximativ cu 10%, o parte din proteina membranei externe a virusului - aproximativ cu 12%.

40 S-a constatat că virusul modificat prin metoda descrisă s-a dovedit a fi surprinzător de stabil. Genomul lui a fost modificat doar cu 0,7% după pasajul continuu timp de 12 luni (reproducere timp de 12 luni în cultură de celule embrionare pulmonare umane MRC 5). Deosebit de important este faptul că virusul modificat (în continuare VM) se caracterizează prin efect citopatic deosebit de înalt pe celulele maligne, citotoxicitate redusă pe linii celulare normale, precum și prin absența toxicității la șoareci *in vivo*.

45 În experimente cu linii celulare s-a constatat că VM s-a dovedit a fi citotoxic pentru linii celulare de melanom FM9, FM55, FM94 și SK-Mel26, celule de carcinom gastric, celule de carcinom cu celule scuamoase al cavității bucale SCC25, linia de celule umane epiteliale derivate dintr-un carcinom pulmonar (A549), celule de leucemie monocitară acută THP-1, celule de rabdomiosarcom RD, celule de adenocarcinom pancreatic uman HPAF-II, celule de adenocarcinom mamar uman (MCF-7), precum și pentru culturi celulare primare de adenocarcinom gastric GC1 și linia celulară de cancer tiroidian HA007.

50 În experimente pe animale VM provoacă regresia sarcomului murin M-1, fibrosarcomului murin MX-17, precum și a tumorilor transplantabile – sarcomului Moloney (SM) și sarcomului KRS-321.

55 Într-un studiu clinic experimental la un grup din 46 de pacienți cu melanom stadiul I, la 43 pacienți care administrau tratament cu VM timp de 50 de luni nu s-a înregistrat progresarea melanomului. În grupul de control, melanomul a progresat la 10 din 31 de pacienți, care au administrat terapie standard.

Peste 50 de luni examenul realizat la 44 de pacienți cu melanom stadiul II a relevat că progresul melanomului a fost stopat la 38 de pacienți, comparativ cu grupul de control din 36

de pacienți, care au administrat terapie standard, totodată melanomul nu a progresat la 15 pacienți, dar a progresat la 21 de pacienți. La pacienții tratați cu VM nu au fost observate efecte adverse grave.

5 A fost elaborată o nouă tulpină de virus (VM) cu secvența inițială a genomului stabilă în ceea ce privește driftul genetic, care posedă activitate citopatică împotriva diferitor tipuri de tumori, caracterizată printr-o incidență redusă a efectelor adverse și toxicitate mică, care poate fi utilizată în mod avantajos în viroterapia cancerului. Astfel, a fost lichidat în mod neașteptat principalul obstacol în utilizarea mai largă a virusurilor ARN în medicină – a fost obținută o  
10 tulpină genetic stabilă, care poate fi utilizată în producerea continuă standardizată a preparatului viral oncolitic. Preparatul viral poate fi utilizat în terapia antitumorală împotriva unei varietăți de celule canceroase.

#### EXEMPLE

Prezenta invenție este descrisă mai detaliat în exemple. Cu toate acestea, prezenta invenție nu urmează a fi interpretată ca fiind limitată de exemple.

#### 15 Virusul

Virusul, modificat în conformitate cu prezenta invenție, este virusul ECHO-7 (familia Picornaviridae, genul Enterovirus, ECHO (virusul enteric citopatic “orfan” uman) de tip 7, grupa IV, un virus cu ARN monofilar cu polaritate pozitivă). Virusul nativ poate fi identificat prin secvența genomului Seq ID No 2.

20

Exemplul 1. Izolarea și caracterizarea tulpinii de virus inițial.

S-a folosit o metodă cunoscută de izolare (Rentz A.C., Libbey J.E., Fujinami R.S., Whitby F.G. and Byington C.L. Investigation of Treatment Failure in Neonatal Echovirus 7 Infection. The Pediatric Infectious Disease Journal, Vol. 25, Number 3, March 2006, p. 259) și de reproducere în linia celulară BS-C-1 (CCL 26; ATCC) (Libbey J.E., McCright I.J., Tsunoda I. et al. Peripheral nerve protein, P0, as a potential receptor for Theiler’s murine encephalomyelitis virus. J Neurovirol., 2001, no. 7, p. 97-104),( Pevear D.C., Tull T.M., Seipel M.E. et al. Activity of pleconaril against enteroviruses. Antimicrob Agents Chemother, 1999, no. 43, p. 2109-2115). Reproducerea virusului și determinarea titrului s-a realizat printr-o  
25 metodă cunoscută (Zurbriggen A., Fujinami R.S. A neutralization-resistant Theiler’s virus variant produces an altered disease pattern in the mouse central nervous system. J. Virol., 1989, no. 63, p. 1505- 1513).

30

Exemplul 2. Modificarea virusului.

35 În prima etapă de modificare virusul a fost reprodus în linii de celule tumorale, atenuate cu un agent anticancerigen. Inițial, pentru reproducere s-a utilizat cultură celulară de adenocarcinom mamar uman (MCF-7), cultivată în mediu DME (Sigma-Aldrich) cu 10% ser (Gibco) și antibiotice (100 UI/ml de penicilină, 100 UI/ml de streptomycină) la 37°C într-o atmosferă conținând 5% CO<sub>2</sub> până la apariția monostratului.

40

Monostratul obținut din aceste celule s-a tratat cu dacarbazină DTIC în doză subtoxică (20 μM). După tratarea cu dacarbazină celulele au fost transferate pe mediu de cultură proaspăt fără ser, celulele interacționau cu virusul și reproducerea continua.

Peste 24 ore de contact cu virusul, din mediu au fost îndepărtate celulele și s-a izolat virusul. Virusul a fost reprodus în mod repetat în culturi celulare de fibroblaste embrionare umane și utilizat din nou pentru infectarea liniei celulare MCF-7. Acest procedeu s-a repetat de  
45 10 ori.

În următoarea, a doua etapă, virusul, conform descrierii de mai sus, a fost pus în contact cu culturi celulare de adenocarcinom gastric. Cultura celulară pentru reproducere a fost cultivată în mediu DME (Sigma-Aldrich) cu 10% ser (Gibco) și antibiotice (100 UI/ml de penicilină,  
50 100 UI/ml de streptomycină) la 37°C într-o atmosferă conținând 5% CO<sub>2</sub>, până la apariția monostratului.

Monostratul obținut din aceste celule s-a tratat cu dacarbazină DTIC în doză subtoxică (20 μM). După tratarea cu dacarbazină celulele au fost transferate pe mediu de cultură proaspăt fără ser, celulele interacționau cu virusul și reproducerea se continua.

55

Peste 24 de ore de contact cu virusul, din mediu au fost îndepărtate celulele și s-a izolat virusul. Virusul a fost reprodus în mod repetat în culturi celulare de fibroblaste embrionare umane și utilizat din nou pentru infectarea liniei celulare de adenocarcinom gastric. Acest procedeu s-a repetat de 10 ori.

În a treia etapă virusul, produs în a doua etapă, a fost utilizat pentru infectarea tumorii umane, obținute după operație. Țesuturile canceroase de melanom au fost prelevate în cadrul intervențiilor chirurgicale de la 23 de pacienți, care anterior au administrat chimioterapie.

5 Celulele tumorale au fost separate de celulele adipoase, țesutul necrotic și sânge, au fost menținute la 0°C timp de 24 ore, apoi mărunțite, iar bucățile de țesut cu dimensiuni de aproximativ 0,1 cm<sup>3</sup> au fost cufundate în mediul Eagle (4 ml de mediu pentru 10 mg de țesut), infectate cu virusul preparat și incubate în absența dioxidului de carbon la 37°C.

Mediul era înlocuit cu o porție proaspătă în fiecare zi până la distrugerea tumorii, fapt determinat morfologic și vizual după nivelul de oxidare a mediului.

10 Titrul virusului s-a determinat în fiecare zi în țesutul tumoral, în proba fără mediu. Rata de reproducere a virusului s-a determinat din titrul virusului la finalizarea experimentului, comparativ cu titrul în ziua 0. Asemenea modificări ale virusului s-au realizat în țesuturile obținute de la 23 de pacienți. Înainte de a fi folosit pentru infectarea unui nou material tisular, virusul modificat era de fiecare dată produs în mod repetat în cultura de fibroblaste embrionare umane până la titrul de 7 lg TCID<sub>50</sub>/1 ml.

15 Virusul modificat era produs în culturi celulare de fibroblaste embrionare umane, tratate cu 5 mM ribavirină cu 7 ore înainte de infectare și cultivate timp de 24 de ore. Virusul a fost izolat din mediul de cultură, iar procedura repetată de 10 ori.

20 În final virusul era izolat, purificat și produs în cultură celulară de fibroblaste embrionare umane fără adaos de ribavirină.

Mostra cu virus produs s-a utilizat pentru determinarea secvenței genomului, activității antitumorale și stabilității replicative după pasajul acestuia timp de 12 luni în cultură celulară de fibroblaste embrionare umane cu determinarea repetată a secvenței genomului (Seq ID No 1).

25 Exemplul 3. Determinarea secvenței genomului virusului.

Izolarea, amplificarea și secvențierea genomului virusului izolat, modificat și cultivat au fost realizate în conformitate cu o metodă cunoscută (Chua B.H., McMinn P.C., Lam S.K., Chua K.B. Comparison of the complete nucleotide sequences of echovirus 7 strains UMMC and the prototype (Wallace) strain demonstrates significant genetic drift over time. J. Gen. Virol., 2001 Nov, no. 82(Pt 11), p. 2629-2639).

30 În acest scop, 96 de enterovirusuri cu secvența completă a genomului au fost selectate din biblioteca NCBI Gene. Secvențele complete ale genomilor acestor virusuri au fost încărcate și comparate cu programul Vector NTI. Pe baza rezultatelor comparației au fost determinate cele mai conservatoare regiuni ale genomilor virali și selectate 13 perechi de oligonucleotide degenerate în aceste regiuni, care acoperă lungimea genomului enteroviral potențial. După sinteza primelor 13 fragmente, s-au obținut alte 13 perechi de nucleotide. Aceste perechi de oligonucleotide erau specifice pentru virus și au fost proiectate astfel, încât să producă fragmente suprapuse. După construirea secvenței complete a genomului, genomul virusului a fost secvențiat în mod repetat cu primerii specifici virusurilor.

Exemplul 3.1. Secvența genomului virusului nemodificat (nativ).

Secvența virusului nativ a fost obținută din 26 fragmente PCR de suprapunere separate, sintetizate din primerii enumerați în tab 2.

45

Tabelul 2

Primerii utilizați pentru secvențierea genomului complet al virusurilor.

| Primerul | Secvența (5' - 3')        | Lungimea (b.p.) | Poziția   | Regiunea țintită |
|----------|---------------------------|-----------------|-----------|------------------|
| Eo7-1F   | TTAAAACAGCCTGTGGGTTG      | 20              | 1-20      | 5' UTR           |
| Eo7-1R   | GAAACACGGACACCCAAAGTAG    | 22              | 545-566   | 5' UTR           |
| Eo7-2F   | CCATGGGACGCTTCAATACT      | 20              | 391-410   | 5' UTR           |
| Eo7-2R   | GC AC CAGTCTTTTGTGTCGA    | 20              | 758-777   | VP4              |
| Eo7-3F   | CGACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTC | 25              | 542-566   | 5' UTR           |
| Eo7-3R   | TCDGGRAAYTTCCACCACCACCC   | 23              | 1178-1200 | VP2              |
| Eo7-4F   | CGACAGGGTGAGATCCCTAA      | 20              | 979-998   | VP2              |
| Eo7-4R   | TTTCACCCTTCGTGAGGTTTC     | 20              | 1381-1400 | VP2              |
| Eo7-5F   | GCATCYAARTTYCAYCARGG      | 20              | 1289-1308 | VP2              |
| Eo7-5R   | CACATKGGKGCAATSGTGAC      | 20              | 1676-1695 | VP2              |

# MD 4480 C1 2017.12.31

|         |                              |    |           |        |
|---------|------------------------------|----|-----------|--------|
| Eo7-6F  | GTGGATCAACTTGCGCACTA         | 20 | 1513-1532 | VP2    |
| Eo7-6R  | AAATTGTGGCATAGCCGAAG         | 20 | 1797-1816 | VP3    |
| Eo7-7F  | GTCACSATTGCMCCMATGTG         | 20 | 1676-1695 | VP2    |
| Eo7-7R  | CTTNATRCTYCCTGACCAGTGTG      | 23 | 2055-2077 | VP3    |
| Eo7-8F  | AAGCATGGACGCATATCACA         | 20 | 1921-1940 | VP3    |
| Eo7-8R  | GATATGGGTTCCCACATTGC         | 20 | 2174-2194 | VP3    |
| Eo7-9F  | CACACTGGTCAGGRAGYATNAAG      | 23 | 2055-2077 | VP3    |
| Eo7-10F | CAAGTGTGTCGTCCTGTGCT         | 20 | 2350-2369 | VP3    |
| Eo7-9R  | CCTATTGGCGCTGTCTTGAT         | 20 | 2694-2713 | VP1    |
| Eo7-11F | ACCAAAGATCAAGACAGCGC         | 20 | 2687-2706 | VP1    |
| Eo7-11R | TTGGCACCCACACTCTGATA         | 20 | 3178-3197 | VP1    |
| Eo7-12F | ACCAGTCCGGTGTGTTTAC          | 20 | 3336-3355 | VP1-2A |
| Eo7-12R | TCCCAAYACACARTTYTGCCAGTC     | 23 | 3401-3423 | 2A     |
| Eo7-13F | CARAAATGTGTGTGGGAAGACTA      | 23 | 3407-3429 | 2A     |
| Eo7-13R | CCCTGYTCCATKGCCTTCATCYTCYARC | 27 | 3748-3774 | 2A-2B  |
| Eo7-14F | TTACCCAGTCACCTTCGAGG         | 20 | 3535-3554 | 2A     |
| Eo7-14R | TGTTTTTCCTTCACTTCCGG         | 20 | 4181-4200 | 2C     |
| Eo7-15F | GTTRGARGATGATGCNATGGARCARGG  | 27 | 3748-3774 | 2A-2B  |
| Eo7-15R | TCAATACGGYRTTTSWCTTGAA       | 23 | 4409-4431 | 2C     |
| Eo7-16F | CCTYTRTAYGCVGVCYARGC         | 20 | 4343-4362 | 2C     |
| Eo7-17F | TTCAAGWSCAAAYRCCGTATTGA      | 23 | 4409-4431 | 2C     |
| Eo7-16R | AAATGAATGGCCTTHCCACACAC      | 23 | 4922-4944 | 2C     |
| Eo7-18F | CTDGTGTGTGGRAAGGCYATNCA      | 23 | 4919-4941 | 2C     |
| Eo7-18R | TATGCTCCYTGRAARCCTGCAAA      | 23 | 5309-5330 | 3A-3B  |
| Eo7-19F | CAAGCCCTAACCCACGTTTGT        | 20 | 5252-5271 | 3A     |
| Eo7-19R | ACCCGTAGTCAGTCACCTGG         | 20 | 5740-5759 | 3C     |
| Eo7-20F | TTTGCAGGMTTYCARGGWGCATA      | 23 | 5309-5330 | 3A-3B  |
| Eo7-20R | GC Y CTW GTGGGRAAGTTRT AC AT | 23 | 5723-5745 | 3C     |
| Eo7-21F | GTGTTGGATGCCAAGGAACT         | 20 | 5555-5574 | 3C     |
| Eo7-21R | ATGGGCTCCGATCTGATGTC         | 20 | 6203-6222 | 3D     |
| Eo7-22F | TTCCCCACWAGRGCAGGCCARTGYGG   | 26 | 5907-5832 | 3C     |
| Eo7-22R | CTCCAAAABASRTCYGGGTCRCA      | 23 | 6572-6594 | 3D     |
| Eo7-23F | TGAAGGAATGCATGGACAAA         | 20 | 6360-6379 | 3D     |
| Eo7-23R | ATGGGTATTGCTCATCTGCC         | 20 | 7078-7097 | 3D     |
| Eo7-24F | TGYGACCCRGAYSTVTTTTGGAG      | 23 | 6572-6594 | 3D     |
| Eo7-24R | TCRTGDATDTCYTTCATGGGCA       | 22 | 7116-7137 | 3D     |
| Eo7-25F | CCTGGACGAATGTGACCTTT         | 20 | 7041-7060 | 3D     |
| Eo7-25R | CCCTACCGCACTTTTATCCA         | 20 | 7384-7403 | 3'UTR  |
| Eo7-26F | ATCCAYGARTCHATYAGRTGGAC      | 23 | 7130-7152 | 3D     |
| Eo7-26R | CCGCACCGAATGCGGAGAATTTAC     | 24 | 7404-7427 | 3'UTR  |

UTR - regiunea netranslată.

S-a obținut secvența 5' - terminală și secvența 3' - terminală, folosind metodele 5'-RACE și 3'-RACE, respectiv.

5 In final, s-a constatat că secvența completă a genomului virusului nemodificat constă din 7434 nucleotide, cu excepția secvenței poli-A (Seq ID No 2).

10 Secvența 5'-terminală netranslată (5'NTR) conține 742 de nucleotide, urmate de partea codificatoare, care se începe cu codonul de start (AUG) în poziția 743, conținând codonii pentru 2196 de aminoacizi și terminându-se cu codonul de stopare (UAA) în poziția 7331 (SEQ ID nr.2). Secvența 3'-terminală netranslată (3'NTR) a acestei tulpini conține 100 de nucleotide, urmate de secvența poli-A.

Exemplul 3.2. Secvența virusului modificat (VM).

15 Secvența virusului inițial a fost obținută din 26 fragmente PCR de suprapunere separate, sintetizate utilizând primerii prezentați în tabelul 2.

S-a obținut secvența 5' - terminală și secvența 3' - terminală, folosind metodele 5'-RACE și 3'-RACE, respectiv.

In final, s-a constatat că secvența completă a genomului virusului nemodificat constă din 7427 nucleotide, cu excepția secvenței poli-A (Seq ID No 1).

5 Secvența 5'-terminală netranslată (5'NTR) conține 742 de nucleotide, urmate de partea codificatoare. Partea codificatoare, care conține informația cu privire la poliproteina virală, începând cu codonul de start (AUG) în poziția 743, conține codonii pentru 2194 de aminoacizi și capetele cu codonii de stopare (UAA) în poziția 7325 (SEQ ID nr.1). Secvența 3'-terminală netranslată (3'NTR) a acestei tulpini conține 100 de nucleotide, urmate de secvența poli-A.

Exemplul 3.3. Secvența genomului virusului modificat după reproducere timp de 12 luni.

10 Secvența virusului modificat a fost obținută din 26 fragmente PCR de suprapunere separate, sintetizate din primerii prezentați în tabelul 2.

S-a obținut secvența 5' - terminală și secvența 3' - terminală, folosind metodele 5'-RACE și 3'-RACE, respectiv.

15 In final, s-a constatat că secvența completă a genomului virusului nemodificat constă din 7427 nucleotide, cu excepția secvenței poli-A (Seq ID No 3).

20 Secvența 5'-terminală netranslată (5'NTR) conține 742 de nucleotide, urmate de partea codificatoare, care se începe cu codonul de start (AUG) în poziția 743, conținând codonii pentru 2194 de aminoacizi și terminându-se cu codonul de stopare (UAA) în poziția 7325 (SEQ ID nr.3). Secvența 3'-terminală netranslată (3'NTR) a acestei tulpini conține 100 de nucleotide, urmate de secvența poli-A.

Exemplul 3.4. Compararea genomurilor virusului modificat (VM) și tulpinii native.

Compararea genomurilor virusului modificat (VM) și tulpinii inițiale este prezentată în fig. 1.

25 Diferența secvențelor de nucleotide, calculată cu programul Vector NTI, era semnificativă, de 10% pentru genomul complet și de 12% pentru partea care codifică proteinele virale ale membranei. Secvențele de aminoacizi pentru tulpina modificată și tulpina inițială sunt prezentate în fig. 2.

30 Exemplul 3.5. Secvența genomului virusului modificat după reproducere timp de 12 luni.

Modificările în secvența genomului virusului modificat (VM) după pasaje continue timp de 12 luni nu au depășit 0,7% din secvența inițială.

35 Toate modificările constatate au fost substituirii de nucleotidă solitare, parțial mutații "mute" (fără schimbarea aminoacidului). Dacă aminoacidul era modificat, poziția lui era parte polimorfă în genom, probabil, fără influență relevantă asupra activității virusului.

Exemplul 4. Pasajul virusului.

40 Pasajul virusului VM s-a realizat prin metode cunoscute și s-a reprodus timp de 12 luni în cultură de celule pulmonare embrionare umane MRC 5 (Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia, Brescia - Laboratorio Centra Substrati Cellulari, Catalog Nr. BS CL 68 (originea: American Type Culture centre Collection, Rockville, Maryland, SUA) fără bacterii, virusuri, fungi sau micoplasme, iar ulterior depozitată congelată la -70°C.

Exemplul 5. Determinarea activității antitumorale a virusului modificat (VM).

45 In experimentele cu linii celulare s-a dovedit că VM este citotoxic pentru liniile celulare de melanom FM9, FM55, FM94 și SK-Mel26, celulele de carcinom gastric, celulele de carcinom cu celule scuamoase ale cavității bucale umane SCC25, linia de celule epiteliale umane, derivate din carcinom pulmonar (A549), celulele de leucemie monocitară acută THP-1, celulele de rhabdomyosarcom RD, celulele de adenocarcinom pancreatic uman HPAF-II, 50 celulele de adenocarcinom mamar uman (MCF-7), precum și pentru culturile celulare primare de adenocarcinom gastric GC1 și linia de cancer tiroidian HA007.

Astfel, de exemplu, injecțiile cu VM timp de 3 zile au provocat reducerea masei sarcomului M-1 la 55% (la 11 din 22) din animale, comparativ cu 6% (la 1 din 18) de regresie spontană în grupul de control.

55 Transplantul sarcomului KRS-321 s-a executat în ziua 5 după injecție cu VM în doză de  $15 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub> la șobolanii de linie Wistar, totodată, regresia tumorii s-a observat la 44% din animale (11/25), în timp ce în grupul de control nu au existat cazuri de regresie.

În cadrul testării activității antitumorale a mostrei de virus, peste 12 luni de pasaj pe aceleași linii celulare de cancer și tumori transplantate, nu a fost înregistrată diferență statistic concludentă cu VM inițial.

5 Nici VM, nici virusul supus pasajului timp de 12 luni nu au cauzat oarecare reacții toxice la șoarecii intacti.

Exemplul 6. Activitatea antitumorală a virusului modificat la pacienții tratați.

10 Tratamentul pacienților cu melanom cu virusul modificat (VM) s-a realizat conform schemei următoare: terapia s-a început peste 2...3 săptămâni după excizia tumorii prin administrarea intramusculară a 2 ml de soluție cu titrul de  $2 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml -  $2 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub>/ml timp de 3 zile consecutiv cu susținere prin administrarea injecțiilor la intervale de o lună, conform aceleiași scheme de 3 zile. Peste patru luni, preparatul viral s-a administrat o dată pe lună timp de următoarele 8 luni. În următorii 2 ani s-a continuat terapia de susținere în aceleași doze, treptat măbind intervalul între administrări până la 6, 8 și 12 săptămâni.

15 Într-un studiu clinic pilot pe un grup din 46 de pacienți cu melanom stadiul I nu s-a observat nici un progres al melanomului timp de 50 de luni la 43 de pacienți, tratați cu VM. În grupul de control melanomul avansa la 10 din 31 de pacienți, care au administrat terapie standard.

20 Într-un studiu timp de 50 de luni la 44 de pacienți cu melanom stadiul II, progresul melanomului timp de 50 de luni nu s-a constatat la 38 de pacienți, în comparație cu grupul de control din 36 de pacienți, care au administrat terapie standard, totodată melanomul nu a progresat la 15 pacienți, dar a progresat la 21 de pacienți.

Eficiența tratamentului se caracterizează prin următoarele exemple:

25 Cazul 1. Femeie, 76 ani, *Melanoma cutis dorsi*.

Intervenție chirurgicală: 11.09.2009. *Excisio tu cutis dorsi*.

pT4bN0M0.

Biopsie SN nu s-a efectuat.

*Ex consilio*: urmărire ulterioară.

30 Intervenție chirurgicală: 04.07.2010. *LAE axillaris sin.*

*Mts l/n axillaris sin.*

*Ex consilio*: Roferon.

Roferon 6 milioane de 3 ori pe săptămână de la 24.06.2010 până la 30.08.2010.

Tratamentul a fost intrerupt din cauza efectelor adverse.

35 Din octombrie 2010 s-a început terapia cu preparat viral în doza de 2 ml cu titrul de  $2 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml -  $2 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub>/ml. Toleranța tratamentului bună, progresul bolii nu a fost documentat până la 01.02.2012.

Cazul 2. Femeie, 42 de ani, *Melanoma cutis dorsi*.

Intervenție chirurgicală: 25.05.2008. *Excisio tu cutis dorsi*.

40 pT4aN0M0, ClarkV, Breslow 9 mm.

Biopsie SN nu s-a efectuat.

Preparatul viral (2 ml cu titrul  $2 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml -  $2 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub>/ml) s-a administrat de la 27.06.2008 până la 27.06.2011.

21.01.2011. Examenul US: manifestare repetată în cicatrice.

45 Op. 02.02.2011. *Excisio*. Examenul histologic: granulom.

Administrarea preparatului viral (2 ml cu titrul  $2 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml -  $2 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub>/ml) a fost continuată până la 27.06.2011.

În perioada de observație (până în decembrie 2011) nu a fost documentată nici o dovadă de evoluție a bolii.

50

Cazul 3. Femeie, 57 de ani, *Melanoma cutis dorsi*.

Intervenție chirurgicală: 19.08.2007. *Excisio tu cutis dorsi*.

pT3bN0M0.

Biopsie SN nu s-a efectuat.

55 Recomandări: urmărire ulterioară.

Intervenție chirurgicală: 10.12.2009. *LAE colli dx.*

Examenul histologic: *mts l/n colli dx.*

Progresia bolii - examenul US pe 22.02.2010: *mts l/n colli.*

22.02.2010. *Ex consilio*: intervenție chirurgicală nu a fost recomandată din cauza afectării masive în limfocitopenie.

Preparatul viral (2 ml, cu titrul  $2 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml -  $2 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub>/ml) s-a administrat din 22.02.2010 și încă mai este administrat.

5      Ultima vizita în clinică: 22.11.2011 - boala s-a stabilizat.

Cazul 4. Femeie, 58 de ani, *Melanoma cutis dorsi*.

Operație: Aprilie 2004. *Excisio tu cutis dorsi, LAE axillaris sin.*

pT4bN2cM0 (Breslow 15 mm).

10      *Reexcisio* ianuarie 2006, septembrie 2006 (recidivă locală).

Terapie cu IFN din octombrie 2006 până în mai 2007.

*Reexcisio cum dermoplasticum*: februarie 2007, mai 2007, septembrie 2007.

Preparatul viral (2 ml cu titrul  $2 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml -  $2 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub>/ml) a fost administrat din februarie 2008 până în aprilie 2011.

15      Metastaze viscerale în februarie 2011.

*Exitus letalis*: în octombrie 2011.

Forma de dozare și de administrare.

20      Preparatul viral pentru efect terapeutic poate fi sub forma unei soluții apoase injectabile cu conținut de virus modificat, care are secvența genomului stabilă, cum s-a explicat mai sus, de exemplu, cu titrul de  $2 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml -  $2 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub>/ml. Soluția cu conținut de virus poate fi orice soluție sterilă fiziologic admisibilă, în special soluție de clorură de sodiu. Preparatul este depozitat și transportat în stare congelată și se decongelează la temperatura camerei înainte de utilizare. Preparatul poate fi în fiole sau în alte unități de containere în cantități care corespund

25      unei singure doze, injectate la o singură administrare pacientului.

30      Preparatul poate fi administrat prin injecție intramusculară (i/m) pacientului după excizia tumorii respective, după vindecarea plăgii. Doza poate constitui 2 ml de soluție menționată mai sus la o singură administrare. Administrarea intramusculară prin injecție se repetă, conform schemei de terapie planificate.

## (56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Garber K. China approves world's first oncolytic virus therapy for cancer treatment. J. Natl. cancer Inst. 2006, nr. 98, p. 298-300
2. EA007839 (B1) 2007-02-27

Descrierea se publică în redacția solicitantului.

## (57) Revendicări:

1. Enterovirus modificat ECHO tip 7, caracterizat printr-o secvență stabilă a genomului, care în cel puțin aproximativ 85%, de preferință cel puțin aproximativ 95%, mai preferabil cel puțin aproximativ 99% din secvență este identică cu Seq ID No 1, și în care modificările în secvența genomului enterovirusului modificat constituie cel mult 0,7%, după reproducerea continuă a enterovirusului modificat în culturi celulare timp de 12 luni.

2. Enterovirus modificat ECHO tip 7, caracterizat printr-o secvență stabilă a genomului Seq ID No1.

3. Metodă de producere a unui enterovirus modificat ECHO tip 7, care constă în modificarea virusului nativ ECHO 7, identificat în baza secvenței genomului Seq ID No 2, în care modificarea prevede adaptarea virusului în celulele canceroase, atenuate cu un agent anticancerigen, cu pasajul ulterior al virusului modificat în cultură de fibroblaste embrionare umane, reproducerea virusului modificat în celule de melanom uman și pasajul ulterior al virusului modificat în cultură de fibroblaste embrionare umane, opțional tratate cu ribavirină, cu izolarea și purificarea virusului.

4. Metodă conform revendicării 3, în care procedura de reproducere a virusului în celulele canceroase și pasajul ulterior al virusului modificat în cultura de fibroblaste embrionare umane se repetă de câteva ori.

5. Metodă conform revendicării 3 sau 4, în care procedura de reproducere a virusului modificat în celulele melanomului uman și pasajul ulterior al virusului modificat în cultura de fibroblaste embrionare umane se repetă de câteva ori.

6. Metodă conform revendicării 3, 4 sau 5, în care adaptarea virusului se realizează în celulele canceroase de cel puțin două tipuri diferite de cancer, cum ar fi celule de adenocarcinom mamar uman și celule de adenocarcinom gastric.

7. Metodă conform oricăreia dintre revendicările 3-6, în care prin modificare se obține un enterovirus modificat ECHO tip 7, care se caracterizează printr-o secvență stabilă a genomului, care în cel puțin aproximativ 85%, de preferință cel puțin aproximativ 95%, mai preferabil cel puțin aproximativ 99% din secvență este identică cu Seq ID No 1, și în care modificările în secvența genomului enterovirusului modificat constituie cel mult 0,7%, după reproducerea continuă a enterovirusului modificat în culturi celulare timp de 12 luni.

8. Metodă conform revendicării 7, în care prin modificare se obține un enterovirus modificat ECHO tip 7, care se caracterizează printr-o secvență stabilă a genomului Seq ID No 1.

9. Metodă conform revendicării 7 sau 8, în care modificările reprezintă substituiri ale unei nucleotide, care constau parțial din mutații „mute” fără modificarea aminoacidului corespunzător.

10. Utilizare a virusului definit în revendicarea 1 sau 2 pentru tratamentul bolilor oncologice.

11. Utilizare, conform revendicării 10, în care boala oncologică este selectată din grupul constând din: melanom, cancer gastric, cancer intestinal, cancer de san uman, cancer de prostată, cancer pancreatic, cancer pulmonar, cancer renal, cancer de vezică urinară, limfosarcom, cancer uterin, angiosarcom, rabdomiosarcom.

12. Utilizare, conform revendicării 10, în care boala oncologică este melanomul.

**Șef adjunct Direcție Brevete:**

GUȘAN Ala

**Șef Secție Examinare:**

LEVIȚCHI Svetlana

**Examinator:**

GROSU Petru

# MD 4480 C1 2017.12.31

14

## Compararea genomurilor virusului nemodificat (nativ) și virusului modificat

N: Virusul nemodificat (nativ)

M: Virusul modificat

|   |            |            |            |            |             |
|---|------------|------------|------------|------------|-------------|
|   | 1          |            |            |            | 50          |
| N | TTAAAACAGC | CTGTGGGTTG | TTCCCACCCA | CAGGGCCCAC | TGGGCGCTAG  |
| M | .....      | .....      | .....      | .....      | .....       |
|   | 51         |            |            |            | 100         |
| N | CACACTGGTA | TCACGGTACC | TTGTGGGGC  | TGTTTATAT  | CCCCCTCCCC  |
| M | .....      | .....      | C.....     | .....C.    | T.....      |
|   | 101        |            |            |            | 150         |
| N | ACTGTAACTT | AGAGAAATCA | CATTAACGAT | CAATAGAAGG | CCGAGCACAC  |
| M | .....      | ...AG...G. | .....G.    | ...C...TA. | ..T...T.... |
|   | 151        |            |            |            | 200         |
| N | CAGCTGAGTC | TTGACCAAGC | ACTTCTGTT  | CCCGGACTG  | AGTATCAATA  |
| M | ..A.....C. | CC.....    | .....A     | .....C.    | ....A.....  |
|   | 201        |            |            |            | 250         |
| N | GACTGCTCAC | GCGGTTGAAG | GAGAAAACGT | TGTTACCCG  | GCCAACTACT  |
| M | .G.....G.  | ....C..... | .T.....    | .....      | .....T....  |
|   | 251        |            |            |            | 300         |
| N | TCGAGAAACC | TAGTACCACC | ATGAAAGTGG | CGCAGTGTT  | CGCTCAGCAC  |
| M | .....      | .....      | ....G....  | ....C....  | ....C....   |
|   | 301        |            |            |            | 350         |
| N | AACCCCAAGT | TAGATCAGGT | CGATGAGTCA | CGCATTCCC  | CACGGGCGAC  |
| M | .....      | .....      | .....      | .....C.... | .....       |
|   | 351        |            |            |            | 400         |
| N | CGTGGCGGTG | GCTGGGTTGG | CGGCTGGCT  | ATGGGGCAAC | CCATGGGACG  |
| M | .....      | .....C.... | .....      | .....      | .....       |
|   | 401        |            |            |            | 450         |
| N | CTTCAATACT | GACATGGTGC | GAAGAGTCTA | TTGAGCTAGT | TGGTAGTCCT  |
| M | .....      | .....      | .....      | .....A.    | .....       |
|   | 451        |            |            |            | 500         |
| N | CCGGCCCCCG | AATGGGGCTA | ATCCTAACTG | CGGAGCAAGT | GCCCACAAAC  |
| M | .....      | .....      | .....      | ...G.....  | .....       |
|   | 501        |            |            |            | 550         |
| N | CAGTGGGTAG | CTGTTCGTAA | CGGSCAACTC | TGCAGCGGAA | CCGACTACTT  |
| M | .....G.    | .....      | ...T...C.  | .....      | .....       |
|   | 551        |            |            |            | 600         |
| N | TGGGTGTCCG | TGTTTCTTT  | TATICTTATT | CTGGCTGCTT | ATGGTGACAA  |
| M | .....      | .....      | .....      | .....      | .....       |
|   | 601        |            |            |            | 650         |
| N | TTGAGAGATT | GTTACCATAT | AGCTATPFGA | TTGSCCATCC | GGTGACTAAC  |
| M | .....      | ...R.....  | .....      | .....R..T  | ....G....   |
|   | 651        |            |            |            | 700         |
| N | AGGGCAATTA | TATACCTCTT | TGTTGGATT  | ATACCACTTA | ATTCCACTAA  |
| M | .....C.    | ...T.....  | .....      | .....G     | .....G      |
|   | 701        |            |            |            | 750         |
| N | TTACAACACT | CTGCTACACA | TTATTTACTT | AAAACCBAGA | AGATGGGAGC  |
| M | .....      | .....T.    | .....G...  | ...TA..... | .....       |
|   | 751        |            |            |            | 800         |
| N | ACRAGTATCA | ACACRAAAAA | CTGGTGCACA | TGAGACCSGT | TTGAGCGCTA  |
| M | .....G     | .....G.    | .....      | C.....     | .....       |
|   | 801        |            |            |            | 850         |
| N | ACGGAGCTC  | CATCATTCAC | TACCCACACA | TCAATPACTA | CAAAGATGCA  |
| M | ....CA...T | .....      | ..T.....   | ....C....  | .....       |

# MD 4480 C1 2017.12.31

|   |            |            |            |            |            |
|---|------------|------------|------------|------------|------------|
|   | 851        |            |            |            | 900        |
| N | GCATCCAAC  | CAGCCAACAG | GCAAGACTTC | ACCCAAGATC | CAGGCAAATT |
| M | .....      | .....      | ...G..T... | .....G.... | ....T..G.. |
|   | 901        |            |            |            | 950        |
| N | CACCGAACCG | GTCAAGGATA | TCATGATCAA | GTCAATGCCC | GCCCTAAACT |
| M | ...T.....  | .....      | .....      | A..G.....  | .....      |
|   | 951        |            |            |            | 1000       |
| N | CACCGACCGT | GGAGGAGTGT | GGGTACAGTG | ATAGGGTGAG | ATCCATAACG |
| M | .....T...C | .....C     | .....C.    | .C.....    | ....C..... |
|   | 1001       |            |            |            | 1050       |
| N | CTGGGCAACT | CAACCATTC  | CACTCAGGAG | AGTCCAAATG | TAGTTGTTCG |
| M | .....      | .....      | .....A..A  | .....C.    | .....      |
|   | 1051       |            |            |            | 1100       |
| N | CTATGGCGGG | TGGCCAGAGT | ACTTGAAAGA | TGAAGRAGCT | ACTGCGGAAG |
| M | .....A..   | .....      | .....      | .....      | .....      |
|   | 1101       |            |            |            | 1150       |
| N | ATCAACCAAC | ACAACCCGAT | GTAGCCACAT | GCAGGTTTTA | CACGCTGGAA |
| M | ....G..... | .....      | .....R.    | .....C..   | ....T..... |
|   | 1151       |            |            |            | 1200       |
| N | TCCGTCCAGT | GGGAGAAAA  | TCCGCTGGA  | TGGTGGTGG  | AGTCCCCCGA |
| M | .....      | .....      | .AG.....   | .....      | .....      |
|   | 1201       |            |            |            | 1250       |
| N | AGCACTTAAG | GACATGGGDC | TCTTTGGTCA | AAACATGENT | TACCCTACC  |
| M | .....      | .....      | .....      | G.....T.   | .....T.    |
|   | 1251       |            |            |            | 1300       |
| N | TCCGTAGAGC | AGGCTACACT | ATACACGTGC | AGTGCAATGC | ATCCAAATTC |
| M | .....      | .....      | ....T....  | .....C..   | .....T     |
|   | 1301       |            |            |            | 1350       |
| N | CACCAAGGCT | GTCTACTTGT | TGTCTGTGTA | CCTGAGGCTG | AGATGGGGTG |
| M | ..T..G.... | .....      | .....      | ....A....  | .....      |
|   | 1351       |            |            |            | 1400       |
| N | TYCCAAAGTG | GACGGTACTG | TAAATGAGCA | GGAATGACG  | GAGGGTGAAG |
| M | ....C.GAC. | ...AAAGAG. | .TGC..C.AT | .A.CC.C... | A.....     |
|   | 1401       |            |            |            | 1450       |
| N | CGGATATGAA | GCTTGAAACC | ACCAGAACCA | CAGGCGTACG | CCGAGTGCAA |
| M | ...CGCAC.. | .T.....A   | ....A....  | .....GC.A  | .AC.....   |
|   | 1451       |            |            |            | 1500       |
| N | TCCGCAGTGT | ACAACGGGGG | TATGGGCTTC | GGCGTGGGGA | ACCTCACCAT |
| M | ...AT..... | G.....     | .....A..   | .....      | .....      |
|   | 1501       |            |            |            | 1550       |
| N | CTTCCCTCAC | CAGTGGATCA | ACCTGCGCAC | TAACTACTGT | GCTACAATTC |
| M | ..A.....   | .....      | ..T.....   | ..T.....C  | .....      |
|   | 1551       |            |            |            | 1600       |
| N | TGATGCCATA | CATAAATAGT | GTACCCATGG | ATAACATGTT | TAGGCACTAC |
| M | .....G..   | T.....TCA  | .....      | .....      | .....      |
|   | 1601       |            |            |            | 1650       |
| N | AACTTCACGC | TAATGATGAT | CCCATTGCA  | CCCCTGGATT | ACACCAACCA |
| M | ..T.....   | .....G.... | .....      | .....      | ...ATGC... |
|   | 1651       |            |            |            | 1700       |
| N | AGCATCTACG | TACGTACCTA | TAACTGTAC  | AATAGCACCA | ATGTGTGCTG |
| M | .....GA.   | .....G     | .....      | .....C...  | .....A.    |
|   | 1701       |            |            |            | 1750       |
| N | AATACAATGG | TTTGAGGCTC | GTTACCTCGC | AAGGGTTGCC | AGTGATGAAC |
| M | .....      | ...A.....G | .C.TA.CA.. | .....C.... | ....C.A..T |
|   | 1751       |            |            |            | 1800       |
| N | ACACCGGGRA | GCAATCAGTT | CCTGACATCG | GATGACTTTC | AATCACCTTC |
| M | .....      | .....      | TA.....    | .....T.... | ....C..... |
|   | 1801       |            |            |            | 1850       |
| N | GGCTATGCCA | CAATTTGATG | TGACTCCAGA | CATGGACATC | CCAGGTGAAG |
| M | .....      | .....      | .....GC.   | .....      | .....      |

# MD 4480 C1 2017.12.31

|   |            |             |             |            |             |
|---|------------|-------------|-------------|------------|-------------|
|   | 1851       |             |             |            | 1900        |
| N | TGAACAACCT | CATGGASATT  | GCAGAGGTTG  | ACTCGSTGGT | ACCTGTTAAC  |
| M | ..C.....   | .....       | .....A....  | .T.....    | .....       |
|   | 1901       |             |             |            | 1950        |
| N | AACAATGAGG | CCAATCPGAA  | AAGCATGGAC  | GCATACCGCA | TACCGGTGAA  |
| M | ....C..C.. | .....C.     | .....       | ....T.A..  | ..GA.....   |
|   | 1951       |             |             |            | 2000        |
| N | CRCAAGAAAT | CAACAAGGTG  | AAAAGATATT  | TGGTTTCCAA | ATACAACCCG  |
| M | .....      | ..C.....    | .....       | C.C.....G  | .....       |
|   | 2001       |             |             |            | 2050        |
| N | GCCTTGATTC | AGTGTTTAAG  | AGAACACTGC  | TAGGTGAGAT | GCTCAATTAT  |
| M | ....G..... | .....       | .....       | .....AG.   | .....       |
|   | 2051       |             |             |            | 2100        |
| N | TACACGCACT | GGTCAGGGAG  | CATTAAGCTA  | ACATTTATGT | TTTGTGGTTC  |
| M | ...G.....  | .....       | .....       | ....C.CA.  | .....       |
|   | 2101       |             |             |            | 2150        |
| N | AGCAATGGCC | ACGGGCAAAAT | TACTCTTAGC  | ATACTCACA  | CCTGGCCGCC  |
| M | .....      | .....GC     | .....       | .....C..   | .....       |
|   | 2151       |             |             |            | 2200        |
| N | ATGTACCGAC | TAGCAGAAAG  | GAGGCAATGC  | TGGGAACCCA | TGTCATCTGG  |
| M | .....G.    | .....       | ....C....A  | .....      | ..A.....    |
|   | 2201       |             |             |            | 2250        |
| N | GACTTTGGGC | TGCAATCCAG  | TTGTGTCTCG  | TGTGTCCAT  | GGATCAGCCA  |
| M | ....A....  | .....       | ...C.....A  | ...A.....  | .....T..    |
|   | 2251       |             |             |            | 2300        |
| N | GACACACTAC | AGGTTGGTGC  | AGCAGGATGA  | GTACACCGGC | GCCGGCTATA  |
| M | .....T..T  | C.CC.A....  | ..A.....    | .....A..   | .....A..G   |
|   | 2301       |             |             |            | 2350        |
| N | TCACCTGCTG | GTACCAAACA  | AGTATAGTGG  | TTCCACCCGG | CACACCCAAA  |
| M | .....      | ...T..G..   | G.....      | .....      | .....C      |
|   | 2351       |             |             |            | 2400        |
| N | AAGTGTSTCA | TCCTGTGCTT  | TGTGTGAGCG  | TGTAATGATT | TCTCCGTGAG  |
| M | .....G     | .....       | .....       | .....C.    | .....C.     |
|   | 2401       |             |             |            | 2450        |
| N | CATGCTGAGT | GACACACCAT  | TCATCGGCCA  | AACAGCACTG | CTGCAGAGCC  |
| M | .....C..   | .....       | .....       | ....A..... | ..A..AG.TG  |
|   | 2451       |             |             |            | 2500        |
| N | CTGTGGAAGA | AGCTGAAGAG  | AACGCAGTTG  | CACGTGTGGC | TGACACAATT  |
| M | A.AC...C.T | G..C.TCA.C  | ..T....A.   | .CA.G..A.. | ...T.....   |
|   | 2501       |             |             |            | 2550        |
| N | GCCAGTGGGC | CCAGCAACTC  | CGAGAGCGTT  | CCTGCACTAA | CAGCAGTTGA  |
| M | .....      | .....       | ..ACT...A.. | .....      | ..C.....    |
|   | 2551       |             |             |            | 2600        |
| N | GACTGGGCAC | ACATCACAGE  | TASTGCCTAG  | TGACACAATG | CAAACAAGGC  |
| M | .....      | .....       | ...A.....   | ...T.....  | .....C..    |
|   | 2601       |             |             |            | 2650        |
| N | ATGTGAAGAA | CTACCATTCC  | AGATCTGAGT  | CAACAATAGA | GAACTTCCTT  |
| M | ....A..... | .....       | C.....A.    | .....      | .....       |
|   | 2651       |             |             |            | 2700        |
| N | AGCAGGTCCG | CCTGTGTGTA  | TATTGAAGAG  | TACTATACCA | ACACTGAAC   |
| M | ...C....G. | .....A..    | .....       | ....T..... | ..AGA.C..G. |
|   | 2701       |             |             |            | 2750        |
| N | CAGACAAAT  | TTATACATGT  | TGCCACTAT   | AAATACTAGA | TGGATGGTGC  |
| M | ...CGCC... | AGG.....    | CATGG.....  | ....G..... | A.....      |
|   | 2751       |             |             |            | 2800        |
| N | AATTGAGGAG | AAAGTTGAG   | ATGTTCCAT   | ACATGAGGTT | TGACATGGAA  |
| M | .....C.    | .....A      | C.....      | ....C....  | ...T....G   |
|   | 2801       |             |             |            | 2850        |
| N | ATCACATTTG | TTATCACTAG  | TAGACAACTG  | CATCSAATA  | GCATGCCGCA  |
| M | .....      | .....       | .....       | ..C.G.G... | ....CG....  |

# MD 4480 C1 2017.12.31

|   |            |            |            |            |             |
|---|------------|------------|------------|------------|-------------|
|   | 2851       |            |            |            | 2900        |
| N | GGACATGCCG | GTACTGACAC | ACCAAATCAT | GTATGTACCA | CCTGGTGGTC  |
| M | A.....     | CC.....    | .....      | ....A....C | .....       |
|   | 2901       |            |            |            | 2950        |
| N | CAGTACCAA  | CAGTGTGGAC | GATTACGCAT | GCACAACTTC | GACTAACCCA  |
| M | .....      | .....AC.   | ....TT.... | .....      | .....T...   |
|   | 2951       |            |            |            | 3000        |
| N | AGTGTCTTT  | GGACTRAGGG | CAATGCCCCA | CCGCGTATGT | CCATACCATT  |
| M | ...A.....  | .....      | .....C     | .....      | .....       |
|   | 3001       |            |            |            | 3050        |
| N | CATAAGCATA | GGCAATGCAT | ACAGCAACTT | TTATGATGGG | TCCCTGCACT  |
| M | T.....     | .....      | .....      | .....C..R  | .GG.....    |
|   | 3051       |            |            |            | 3100        |
| N | TCTTACAATA | TGGGGTATAT | GGCTACAACA | CATTAAACAA | CATGGGGAAA  |
| M | ...C....A. | .....C     | .....TG    | .....      | .....C...   |
|   | 3101       |            |            |            | 3150        |
| N | TTATACGTAC | GCCATGTGAA | CAACCACACA | CCATACCAA  | TGACCAGTAC  |
| M | .....C..   | .....      | ...AG..... | ..G.....G. | ..T.....    |
|   | 3151       |            |            |            | 3200        |
| N | GGTTAGTGTG | TACTPTAAAC | CCAAACATGT | CAGAGCGTGG | GTGCCGAGAC  |
| M | .A..C..... | .....      | .....A.    | .....T.... | .....A....  |
|   | 3201       |            |            |            | 3250        |
| N | CACCACGCTT | GTCCCCCTAC | AAAAATGCAT | GGAACGTAA  | CTTTGAACCA  |
| M | .....T.    | .....T     | .TT..AT.TA | .T.....    | .....C...   |
|   | 3251       |            |            |            | 3300        |
| N | ACRAACGTAA | CTGATTCAAG | ATCAAGTATC | ACATATATTC | CTGAGACGGT  |
| M | ..C...C... | .....      | .....A     | .....G.G.  | .A..C..TA.  |
|   | 3301       |            |            |            | 3350        |
| N | CAAACCAGAC | CTATCAAAAG | CTGGAGCTTT | CGGCCACCAG | TCCGGTGTGTG |
| M | .CGT..G..A | G.CCGT.C.. | .....AAA.. | .....      | .....       |
|   | 3351       |            |            |            | 3400        |
| N | TTATGTGGG  | TAACTACAGA | GTGGTGAATA | GGCACCTGGC | CACGCACAAC  |
| M | ....C..... | ...T.....  | A.A.....C. | .....      | .....       |
|   | 3401       |            |            |            | 3450        |
| N | GACTGGCAA  | ACTGTGTGTG | GGAAGACTAC | AACAGAGACC | TCCTTGTGAG  |
| M | .....      | .....      | .....      | .....      | .....       |
|   | 3451       |            |            |            | 3500        |
| N | CACCACCACA | GCCCATGGGT | GTGACACCAT | AGCCAGATGC | CAGTGCACAA  |
| M | .....T...  | .....      | .....T..   | .....T     | .....G      |
|   | 3501       |            |            |            | 3550        |
| N | CAGGCGTGTA | CTTTTSTGCC | TCAAGGAACA | AACACTACCC | AGTCACCTTT  |
| M | .....A..   | T.....     | .....      | ....T..... | .....C      |
|   | 3551       |            |            |            | 3600        |
| N | GAGGGGCCAG | GCCTGGTGRA | AGTTCAGGAG | AGTGAGTACT | ACCCAAAAG   |
| M | .....      | ..T.....   | .....      | ..C.....   | .....       |
|   | 3601       |            |            |            | 3650        |
| N | ATRCCAATCC | CATGTGCTTC | TAGCTGCAGG | ATTTTCTGAA | CCAGGCGATT  |
| M | .Y.T..G... | ..C.....   | .....      | .....      | ..G.....    |
|   | 3651       |            |            |            | 3700        |
| N | GTGGTGGAA  | CCTCAGGTGT | GAACATGGTG | TCATCGGTAT | CGTCACCATG  |
| M | ....C..... | .....A..   | C....C..C. | .G.....    | .....       |
|   | 3701       |            |            |            | 3750        |
| N | GGTGGAGAGG | GGTCTGTGG  | GTTTGCCGAC | GTCGGAGACC | TACTGTGGTT  |
| M | .....      | .....      | .....      | ...A.....  | .....       |
|   | 3751       |            |            |            | 3800        |
| N | AGAGGATGAT | GCCATGGAAC | AGGGCGTAAG | AGACTATGTT | GAACRACTAG  |
| M | .....      | .....      | .....      | .....      | .....       |
|   | 3801       |            |            |            | 3850        |
| N | GAAATGCTTT | TGGCTCAGGT | TTCACCAACC | AAATTTGTGA | ACAAGTCAAC  |
| M | .....      | C.....     | .....T.    | .....      | ...G.....   |

# MD 4480 C1 2017.12.31

|   |             |            |             |            |            |
|---|-------------|------------|-------------|------------|------------|
|   | 3851        |            |             |            | 3900       |
| N | CTCCTCRAAG  | AGTCACTGGT | TGGACAGGAC  | TCCATTCTGG | AGAAATCCCT |
| M | .....       | .....T.... | .....T      | ..T.....   | .A.....    |
|   | 3901        |            |             |            | 3950       |
| N | TAAAGCCCTA  | GTEAAGATTA | TCTCAGCACT  | GGTCATTGTA | GTGAGAAATC |
| M | ...G..T...  | .....      | .....       | ....R..... | .....      |
|   | 3951        |            |             |            | 4000       |
| N | ACGATGACCT  | CATCACAGTG | ACTGCCACTC  | TAGCCCTCAT | TGTTTGCACC |
| M | .....T..    | ...A..G..T | ..C.....    | ....TT.A.. | .....      |
|   | 4001        |            |             |            | 4050       |
| N | TCTTCTCCAT  | GGCGGTGGCT | CAAACAGAAA  | GTGTCACAAT | ATTATGCAAT |
| M | .....G.     | .....      | ...G.....G  | .....      | .....      |
|   | 4051        |            |             |            | 4100       |
| N | ACCCATGGCT  | GAGCGACAAA | ACAATGGCTG  | GCTCAAGAAG | TTCACTGAGA |
| M | .....G...C  | .....      | .....A..... | .....      | ..T.....   |
|   | 4101        |            |             |            | 4150       |
| N | TGACCAATGC  | CTGCAAGGGC | ATGGAGTGG   | TAGCCATCAA | AATTCAAAA  |
| M | .....C..    | .....      | .....       | .....A..   | .....G     |
|   | 4151        |            |             |            | 4200       |
| N | TTTATFGAGT  | GGCTTAAAGT | CAAGAT-CTA  | CCAGAAGTGT | AGGAAAACA  |
| M | .....       | .....      | .....T..G   | ..G.....A  | .....      |
|   | 4201        |            |             |            | 4250       |
| N | TGAGTTCCCTC | AACAGACTAT | AACAACTACC  | ACTCTTGGAA | GAGTCAGATT |
| M | C.....      | .....G...A | .G...T....  | ....C.A..  | ...C.....  |
|   | 4251        |            |             |            | 4300       |
| N | GCCACCRTAG  | AACAAAGTGC | ACCATCGCAG  | AGTGACCAGG | AGCAACTGTT |
| M | ..A.....    | .G..G..... | .....       | .....T..A. | .....C..   |
|   | 4301        |            |             |            | 4350       |
| N | TTCCAATGTC  | CAGTACTTCG | CCCCTATTG   | CAGAAAGTAT | GCGCCACTGT |
| M | C.....C...  | .....      | .....T..... | .....      | .....T...  |
|   | 4351        |            |             |            | 4400       |
| N | ATGCAGCTGA  | GGCAAAGAGA | GTGTTCTCC   | TTGAGARGAA | AATGAGCAAT |
| M | .C..T..C..  | A..G.....  | .....A.     | .....      | .....C     |
|   | 4401        |            |             |            | 4450       |
| N | TACATACAGT  | TCAAGTCCAA | ATGCCGTATT  | GAGCCTGTAT | GTTTGCTCNT |
| M | .....       | .....      | .....       | .....      | .C..A...C. |
|   | 4451        |            |             |            | 4500       |
| N | ACATGGCAGC  | CCAGGGCCCG | GAAAATCCCT  | GGCCACCAAC | CTGATTGGCA |
| M | .....       | .....      | .....G..... | .....      | T.....     |
|   | 4501        |            |             |            | 4550       |
| N | GATCACTCGC  | TGAAAAACTC | AACAGCTCAG  | TGTACTCCCT | ACCACCAGAC |
| M | ....C.....  | A.....     | .....T.     | .R.....    | .....      |
|   | 4551        |            |             |            | 4600       |
| N | CCAGATCACT  | TTGATGGCTA | CAAACAGCAA  | GCGTGTGTA  | TCATGGATGA |
| M | ..C..C....  | ...C.....  | ...G.....   | .....      | .....      |
|   | 4601        |            |             |            | 4650       |
| N | TCTATGCCAA  | AATCCTGATG | GAAAAGATGT  | GTCATTGPTC | TGTCAAATGG |
| M | CT.....     | .....      | .....       | C...C.A..T | ....G....  |
|   | 4651        |            |             |            | 4700       |
| N | TTTCCAGTGT  | GGACTTTGTA | CCACCGATGG  | CTGCGCTAGA | GGAGAAAGGC |
| M | ....T..C..  | .....      | .....       | .....      | ...A....A  |
|   | 4701        |            |             |            | 4750       |
| N | ATTCTGTTC   | CCTCCCGT   | TGTCCTGGCA  | TCAACCAATG | CTGGGTCCAT |
| M | ..C..A..T.  | .....      | C..GT.....  | .....C.    | .....      |
|   | 4751        |            |             |            | 4800       |
| N | CAATGCACCA  | ACTGTGTGAG | ACAGCAGAGC  | CCTCGCTAGG | AGATTCCACT |
| M | .....C      | .....T.    | .....       | G.....     | .....      |
|   | 4801        |            |             |            | 4850       |
| N | TTGACATGAA  | CATTGAAGTC | ATTTCCATGT  | ACAGTCAAAA | TGGCAAGATC |
| M | .....       | .....      | .....T....  | .....      | C.....     |

# MD 4480 C1 2017.12.31

|   |            |            |             |            |             |
|---|------------|------------|-------------|------------|-------------|
|   | 4851       |            |             |            | 4900        |
| N | AACATGCCCA | TGTCAGTTAA | GACGTGTGAT  | GAAGAGTGT  | GTCCAGTCAA  |
| M | .....      | .....      | A..A.....   | .....      | .....T..    |
|   | 4901       |            |             |            | 4950        |
| N | CTTCAAGAGG | TGCTGCCCGC | TGGTGTGTGG  | AAAGGCCATG | CAGTTCATTC  |
| M | .....A...  | .....T     | .....       | .....Y...  | ..A.....    |
|   | 4951       |            |             |            | 5000        |
| N | ACAGAAGAAC | TCAAGTTAGA | TACTCGCTGG  | ACATGCTAGT | TACTGAGATG  |
| M | .T..G..... | .....      | ..T.....    | .....      | .....A...   |
|   | 5001       |            |             |            | 5050        |
| N | TTTAGGGAGT | ACAACCACAG | ACACAGTGTG  | GGAGCCACCC | TTGAGGCTCT  |
| M | .....      | .T.....T.. | .....       | .....T.    | ....A.....  |
|   | 5051       |            |             |            | 5100        |
| N | GTTCCAAGGG | CCACCAGTCT | ACAGAGAGAT  | CAAAATTAGT | GTCCCAACCAG |
| M | .....      | .....      | .....       | .....C..C  | .....C....  |
|   | 5101       |            |             |            | 5150        |
| N | AGACACCACC | ACCACCRGCT | ATTGCTGACT  | TACTGAAATC | AGTGGACAGT  |
| M | .....C..   | .....      | .....T.     | .....      | .....       |
|   | 5151       |            |             |            | 5200        |
| N | GAAGCTGTGA | GAGAGTACTG | CAAAGAAAAG  | GGATGGCTTG | TGCCAGAGAT  |
| M | .....      | .G..A..... | ..G..G.GA   | ..G.....   | .....       |
|   | 5201       |            |             |            | 5250        |
| N | CAACTCCACC | CTACAAATTG | AGAAGCATGT  | GAGCCGGGCA | TTCATCTGTC  |
| M | ...T..T... | .....A.    | .....       | ...TA.A... | .....A...T  |
|   | 5251       |            |             |            | 5300        |
| N | TGCAAGCACT | AACCACGTTT | GTTTCAGTTG  | CTGGARTAAT | ATACATTAAT  |
| M | .A.....C.. | .....      | .....       | ....T..... | .....       |
|   | 5301       |            |             |            | 5350        |
| N | TACAAGCTAT | TGCAAGSTTT | CCAAGGCCCA  | TACACAGGGA | TGCCCAACCA  |
| M | .....AT... | .....      | .....C      | .....      | .....       |
|   | 5351       |            |             |            | 5400        |
| N | GAAACCCAAG | GTGCCACCCC | TGAGACAAGC  | CAAAGTCCAA | GGCCCAGCGT  |
| M | .....T...  | .....      | .....G..    | .....A..G  | .....       |
|   | 5401       |            |             |            | 5450        |
| N | TTGAGTTTGC | TGTGGCGATG | ATGAAGAGGA  | ACTCCAGTAC | AGTGAAAACC  |
| M | .....C..   | .....      | .....A..... | ..G.....   | ...A.....   |
|   | 5451       |            |             |            | 5500        |
| N | GAGTACGGTG | AGTTCACCAT | GCTTGGCATT  | TATGACAGGT | GGGCGGTGTT  |
| M | .....      | .A.....    | .....       | ..C....A.. | .....       |
|   | 5501       |            |             |            | 5550        |
| N | ACCACGCCAC | GCCAAACCTG | GCCCAACCAT  | CTTGATGAT  | GACCAGGAAG  |
| M | ...G.....  | .....G.... | ....C.....  | .....      | ..T.....    |
|   | 5551       |            |             |            | 5600        |
| N | TCGGCGTGT  | GGATGCCAAG | GAAGTAGTGG  | ATAAGGATGG | GACAAUCTA   |
| M | .....      | .....      | .....T.     | ....A..... | .....T...   |
|   | 5601       |            |             |            | 5650        |
| N | GAACTGACAC | TCCTGAAGCT | CAACAGTAAT  | GAGAAGTTCA | GAGACATCAG  |
| M | ...T....T. | .....      | ....C....C  | ..A.....   | ....T..T..  |
|   | 5651       |            |             |            | 5700        |
| N | AGGGTTCCTA | GCCAAAGAAG | AGGTTGAGGT  | GAATGAAGCT | GTCCTAGCAA  |
| M | G.....T... | ..A.G..... | .....A..    | .....      | .....       |
|   | 5701       |            |             |            | 5750        |
| N | TAAACACAAG | CAAGTTCCCC | AACATGTACA  | TACCAGTGGG | CCAGGTGACT  |
| M | ...T.....  | ...A.....T | .....       | .....      | .....       |
|   | 5751       |            |             |            | 5800        |
| N | GACTACGGGT | TCCTGRACCT | GGGTGGGACG  | CCCACRAGA  | GAATGCTCAT  |
| M | .....      | .T.....    | ...A.....T  | .....G.... | .....       |
|   | 5801       |            |             |            | 5850        |
| N | GTACRACTTC | CCCACRAGAG | CAGGTCAGTG  | TGGTGGTGTG | CTCATGTCCA  |
| M | ...T.....  | ..A.....   | .....       | ...A.....  | .....A..    |

# MD 4480 C1 2017.12.31

|   |             |            |            |            |            |
|---|-------------|------------|------------|------------|------------|
|   | 5851        |            |            |            | 5900       |
| N | CTGGGAAAGT  | CCTGGGGATA | CATGTTGGTG | GGATGGTCA  | TCAAGGGTTC |
| M | .A.....     | .....A...  | .....A..A. | .....A..   | .....      |
|   | 5901        |            |            |            | 5950       |
| N | TCAGCAGCAC  | TCTCAAGCA  | CTACTTCAAC | GATGAACAAG | GTGAARTAGA |
| M | .....G....  | .....G...  | .....      | ..G..G..G. | .....      |
|   | 5951        |            |            |            | 6000       |
| N | GTTCAATTGAG | AGCTCAAAGG | ACGCGGGGTT | CCCTATCATC | AACACACCCA |
| M | A.....      | .....      | .....A..   | ....G.G... | .....F.... |
|   | 6001        |            |            |            | 6050       |
| N | GCAAGACCAA  | ACTGGAACCA | AGTGTCTTCC | ACCAG-TGTT | TGAAGGCAAC |
| M | .T.....A..  | .T.....    | .....G..T. | .....G.... | C..G.....  |
|   | 6051        |            |            |            | 6100       |
| N | AAAGAACCCA  | GCACTCCTCA | GAAATGGTGA | TCCACGACTC | AAAGCCAACT |
| M | ..G.....    | ..G.....T. | .....G..   | C.....     | .....      |
|   | 6101        |            |            |            | 6150       |
| N | TTGAGGAGGC  | CATCTTCTCC | AAATACATTG | GCAATGTCAA | CACGCATGTG |
| M | .C.....A..  | A.....     | ..G.....   | .....      | .....A     |
|   | 6151        |            |            |            | 6200       |
| N | GATGAGTACA  | TGTTGGAAGC | TGTGGACCAT | TATGCAGGAC | AACTGGCTAC |
| M | .....       | .....G..   | .....      | .....      | ....A..... |
|   | 6201        |            |            |            | 6250       |
| N | TCTGGACATC  | AGCACGGAAC | CAATGAAGCT | GGAGGATGCC | GTGTATGGTA |
| M | .....       | ..T.....G. | .C.....    | A....C...  | .....      |
|   | 6251        |            |            |            | 6300       |
| N | CAGAGGGGCT  | GGAAACACTA | GACCTAACAA | CCAGTGCAGG | CTACCCCTAT |
| M | .....       | .....      | .....C.    | .....      | .....C     |
|   | 6301        |            |            |            | 6350       |
| N | GTTGCCCTGG  | GCATCAAGAA | GAGAGACATC | CTATCTAAGA | AGACCAGGGA |
| M | ..G.....    | .....      | A....T..T  | .....      | ....T.AA.. |
|   | 6351        |            |            |            | 6400       |
| N | CCTCACTAAG  | TTGAAAGAAT | GCATGGACAA | GATGSSCTA  | AACCTGCCAA |
| M | .....       | .....G.... | .....      | A.....     | ..TT.....  |
|   | 6401        |            |            |            | 6450       |
| N | TGGTRACCTA  | TGTGAAGAT  | GAGCTCAGAT | CTGCAGAGAA | GGTGGCCAAA |
| M | .....       | C..C.....  | ...T.G.... | ....T..... | .....G     |
|   | 6451        |            |            |            | 6500       |
| N | GGAAAATCCA  | GGCTTATTGA | AGCTTCCAGT | TTGAATGACT | CAGTGGCAAT |
| M | .....       | .....      | G.....T... | C.C.....   | ....A..... |
|   | 6501        |            |            |            | 6550       |
| N | GAGACAGACA  | TTGGAARACC | TGTACAAAC  | CTCCACCTC  | AACCCAGGCA |
| M | ..G..A...   | .....TT    | .A..T..G.. | ...T.....  | .....G.... |
|   | 6551        |            |            |            | 6600       |
| N | TTGTGACGGG  | CAGTGCAGTT | GGTGTGACC  | CAGATCTGTT | TTGGAGCAAG |
| M | .C..T.....  | .....T...  | .....T.    | .....G.... | .....      |
|   | 6601        |            |            |            | 6650       |
| N | ATACCACTCA  | TGTTGGATGG | ACATCTCATA | GCTTTGATT  | ACTCAGGCTA |
| M | ..C..T..T.  | ..C.T..... | .....      | .....C.    | .T.....    |
|   | 6651        |            |            |            | 6700       |
| N | TGATGCTAGC  | CTCAGCCCAG | TGTGGTTTGC | ATGTCTGAAA | CTGCTCCTAG |
| M | ..C.....    | .....      | .....      | ....T..... | ..T.....   |
|   | 6701        |            |            |            | 6750       |
| N | AGAAGCTTGG  | GTACACACAC | AAGGAACAA  | ACTACATAGA | TTACCTCTGC |
| M | ....A..A..  | ...F..A..  | .....      | .....      | .....T     |
|   | 6751        |            |            |            | 6800       |
| N | AACTCCCACC  | ACCTGTACAG | AGACAAACAC | TACTTTGTGC | GAGGTGGTAT |
| M | ..T.....T.  | .....T..   | .....G...  | .....AA    | ....C..... |
|   | 6801        |            |            |            | 6850       |
| N | GCCATCAGGG  | TGTTCTGGCA | CCAGCATCTT | TAACTCAATG | ATTARCAACA |
| M | .....       | .....A.... | .....A..   | ...T..C... | .....      |

# MD 4480 C1 2017.12.31

21

```

6851                                     6900
N TCATAATCAG GACACTCATG CTGAAAGTGT ACAAGGECAT TGACTTGGAC
M .....T..... ..G..T..T..A..... ..F.....
6901                                     6950
N CAATTCAGGA TTATTCCCTA TGGTGATGAT GTGATTCCTT CCTACCCGTC
M .....A..G..... ..G..... ..T.....
6951                                     7000
N GCCCATTGAT GCTTCCCTGC TAGCTGAAGC AGGAAAAGAT TATGGTTTGA
M ...T..C... ..G...T ..A.....
7001                                     7050
N TCATGACACC AGCAGATAAA GGAGAGTGTCT TCAATGAAGT CAACTGGACG
M .....C... ..C... ..C..... ..C..G..A.C.....
7051                                     7100
N AATGTCACCT TCCTGAAAAG GTACTTTFAGA GCAGATGAGC AATACCCATT
M .....G....T..... ..G..... ..A.....
7101                                     7150
N CCTGGTCCAC CCTGTTATGC CCATGAAAGA CATCCATGAA TCTATTAGAT
M T.....T ..A.....G.. ..G.....G.....G.....
7151                                     7200
N GGACCAAAGA TCCAAAGAAC ACCCAAGATC ATGTGCGCTC GCTGTGCCTA
M .....C..... ..A..G.... ..G.....
7201                                     7250
N TTGGCTTGGC ACAATGGGGA GCACGAATAT GAGGAGTTCA TTCGCAAAT
M .....C..... ..A..... ..T.....G..
7251                                     7300
N CAGAAACCGT GCCAGTTGGA CGCTGTTTGA CCTACCTGC GTTTTCAACC
M .....-.... ..C.....G ..C.... ..C..T.....A
7301                                     7350
N CTGCGCAGGA AGTGGTTGGA CTCCTTTTAA AATAA-AGCA CAATTTAGTA
M .....C.... ..T.G.... T.....-....
7351                                     7400
N AATTTGAATF GGCTTAACCC TACCGCACTA ACCGAAGTAG ATAACGGTGC
M ...CAT.... ..TG. ....T. ....AA....
7401                                     7437
N GGTAGGGGTA AATTCTCOGC ATTCGGTGGC GTCGAGG
M .....

```

Identitatea secvenței: 90,3%

Fig. 1

# MD 4480 C1 2017.12.31

22

## Compararea secvențelor aminoacide ale virusului nemodificat (nativ) și ale virusului modificat

N: Virusul nemodificat (nativ)

M: Virusul modificat

|   |             |            |             |             |             |
|---|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|
|   | 1           |            |             |             | 50          |
| N | MGAQVSTQKT  | GAHETXLSAN | GSSIIHYTNI  | NYKDAASNS   | ANRQDFTQDP  |
| M | .....       | .....      | .H.....     | .....       | .....       |
|   | 51          |            |             |             | 100         |
| N | GKFTPEVKDI  | MIKEMPALNS | PTVEECGYSD  | RVRKSITLGN  | TITQESANV   |
| M | .....       | .....      | .SA.....    | ....L.....  | .....       |
|   | 101         |            |             |             | 150         |
| N | VVGYGWPEY   | LKDEEATAED | QPTQPDVATC  | RFYTLSEVQW  | EKNSAGWWK   |
| M | .....R..... | .....      | .....       | .....       | .....       |
|   | 151         |            |             |             | 200         |
| N | FPEALKDMGL  | FGQNMHYHYL | GPAGYTIRVQ  | CNASKFRQGC  | LLVVCVPEAE  |
| M | .....       | ....L..... | .....       | .....       | .....       |
|   | 201         |            |             |             | 250         |
| N | MGCSKYDGTV  | NEQELTEGET | EMKLEPTRTT  | GVRKVDQSAVY | NAGMGVGVGN  |
| M | ....QT.KE.  | AAMN..K... | AM.F...K..  | .GHT...I.C  | ....I....   |
|   | 251         |            |             |             | 300         |
| N | LTIFPHQWIN  | LRTWNCATIV | MFYINGVEMD  | NMFRHYNFTL  | MMIPFAPLDY  |
| M | ...Y.....   | .....      | .....       | .....       | .V.....     |
|   | 301         |            |             |             | 350         |
| N | TNQASTYVPI  | TVTIAPMCAE | YNGLRRLVTSQ | GLPVMNTPGS  | NOPLTSDDFQ  |
| M | NA...E...V  | .....      | .....AYQ.   | ....L.....  | ..M.....    |
|   | 351         |            |             |             | 400         |
| N | SPSAMPQFDV  | TFMDIPGEV  | NNLMEIAEVD  | SVVFPVNNEA  | NLKSMDAYRI  |
| M | .....       | ..H.....   | H.....      | .....TA.    | ..Q.....H.  |
|   | 401         |            |             |             | 450         |
| N | PVNXGNQQGE  | KIFCFQIQPC | LDSVFKRLL   | GEMLNYYTHW  | SGSIKLTFMF  |
| M | E.....H...  | ...A.....  | .....       | ..V...A..   | .....T.     |
|   | 451         |            |             |             | 500         |
| N | CGSAMATGKL  | LLAYSPPGAD | VFTGRKEAML  | GTHVIWDFGL  | QSSCVLCVPW  |
| M | .....       | .....      | ..A...Q..M  | ...I...L..  | .....I..    |
|   | 501         |            |             |             | 550         |
| N | ISQTHYRLVQ  | QDEYTGAGYI | TCWYQTSIVV  | PPGTPKRCYI  | LCFVSEACNDF |
| M | .....       | .....S..NV | .....G...   | .....N...V  | .....       |
|   | 551         |            |             |             | 600         |
| N | SVSMLSDTFE  | IGQTALLQSP | VEEAEENAVA  | RVADTIASGP  | SNSESVPALT  |
| M | ..R..R....  | ....T...SD | TDV.VN....  | .....       | ...T.I....  |
|   | 601         |            |             |             | 650         |
| N | AVETGHTSQV  | VPSDTMQTRH | VKNYHSESES  | TIENFLERSA  | CVYIEEYYTN  |
| M | .....       | E.....     | .....       | .....       | .....FTK    |
|   | 651         |            |             |             | 700         |
| N | TETRONLYML  | PTINTRWVQ  | LREKFEFTY   | MRFDMEITFV  | ITSRQLRRTS  |
| M | DQDSA.R..S  | W...ARR... | .....L...   | .....       | .....PG..   |
|   | 701         |            |             |             | 750         |
| N | MPQDMPVLTH  | QIMYVPPGGP | VPNSVDDYAW  | QTSTNPSVFW  | TEGNAPPRMS  |
| M | IA....P...  | ....I..... | .....T.F..  | .....I..    | .....       |
|   | 751         |            |             |             | 800         |
| N | IEFTSIGNAY  | SNFYDGSSEF | LQYGVYGYNT  | LNMNGKLYVE  | HVNMHTPYQM  |
| M | .....       | .....M...  | S.N.....A   | .....A.     | ...KD....   |
|   | 801         |            |             |             | 850         |
| N | TSTVSVYFKP  | KHVRAWVRP  | PRLCPYKNAW  | NVNFEPNTVT  | DGRSSITYIF  |
| M | S..IR.....  | ..I.V..... | .....IKSS   | ....D...L.  | .....V.     |

# MD 4480 C1 2017.12.31

|   |              |             |             |             |             |
|---|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|   | 851          |             |             |             | 900         |
| N | ETVVKPDLKA   | GAFGHQSGAV  | YVGNVYRVVNR | HLATHNDWQN  | CVWEDYNRDL  |
| M | D. IR. EVRT. | .K.....     | .....I...   | .....       | .....       |
|   | 901          |             |             |             | 950         |
| N | LVSTFFAHGC   | DTIARCQCTT  | GVYFCASRNK  | HYFVTFEGPG  | LVEVQESEYY  |
| M | .....        | .....A..... | .....       | .....       | .....       |
|   | 951          |             |             |             | 1000        |
| N | PKRYQSHVLL   | AAGFSEPGDC  | GGILRCENGV  | IGIVTMGGEG  | VVGFADVRDL  |
| M | ...X.....    | .....       | .....Q..... | .....       | .....       |
|   | 1001         |             |             |             | 1050        |
| N | LWLEDDAMEQ   | GVRDYVEQLG  | NAFGSGFTNQ  | ICEQVNLLE   | SLVGCDSILE  |
| M | .....        | .....       | .....       | .....       | .....       |
|   | 1051         |             |             |             | 1100        |
| N | KSLKALVKII   | SALVIVVRNH  | DOLITVTATL  | ALIGCTSSFW  | RWLKQKVSQY  |
| M | .....        | ...X.....   | .....       | .....       | .....       |
|   | 1101         |             |             |             | 1150        |
| N | YGIPMAERON   | NGWLKKPTEM  | TNACKGMEWI  | AIKIQKFIEW  | LKVKIYQRCR  |
| M | ....R.....   | .S.....     | .....       | .....       | ....LPEVK   |
|   | 1151         |             |             |             | 1200        |
| N | KNMSSSTDYN   | NYHSWKSQIA  | TIEQSAPSQS  | DQEQLFSNVQ  | YFAHYCRKYA  |
| M | EKHEFLNRLK   | QLPILLE.... | .....       | .....       | .....       |
|   | 1201         |             |             |             | 1250        |
| N | PLYAAEAKRV   | FSLEKEMSNY  | IQFKSKCRIE  | FVCLLXHGSP  | GAGKSVATNL  |
| M | .....        | .....       | .....       | .....L..... | .....       |
|   | 1251         |             |             |             | 1300        |
| N | IGRSLAEKLN   | SSVYSLPDP   | DHFDGYKQQA  | VVIMDDLQON  | PDGKDVSLFC  |
| M | .....        | .....       | .....       | .....       | .....       |
|   | 1301         |             |             |             | 1350        |
| N | QMVSSVDFVP   | PMAALEERGI  | LFTSPFVLAS  | TNAGSINAPT  | VSDSRALARR  |
| M | .....        | .....       | .....       | .....       | .....       |
|   | 1351         |             |             |             | 1400        |
| N | FHFDMNIEVI   | SMYSQNGKIN  | MPMSVKTCDE  | ECCPVNFKRC  | CPLVCGKAMQ  |
| M | .....        | .....       | .....       | .....       | .....       |
|   | 1401         |             |             |             | 1450        |
| N | FIDRRTQVRY   | SLDMLVTEMF  | REYNHRHSVG  | ATLEALFOGP  | FVYREIKISV  |
| M | .....        | .....       | .....       | .....       | .....       |
|   | 1451         |             |             |             | 1500        |
| N | APETPPPPAI   | ADLLKSDVSE  | AVREYCKEKG  | WLVPEINSTL  | QIEKHVSRAF  |
| M | .....        | .....       | .....R..... | .....       | .....       |
|   | 1501         |             |             |             | 1550        |
| N | ICLQALTFV    | SVAGIYYIY   | KLFAGFOGAY  | TGMPWQKPKV  | PTLRQAKVOG  |
| M | .....        | .....       | .....       | .....       | .....       |
|   | 1551         |             |             |             | 1600        |
| N | FAFEFAVAMM   | KRNSSTVKTE  | YGEFTMLGIY  | DRWAVLPRHA  | KPGPTILMND  |
| M | .....        | ...A.....   | .....       | ...K.....   | .....       |
|   | 1601         |             |             |             | 1650        |
| N | QEVGVLEAKE   | LVDKDGTNLE  | LTLKLNLSNE  | KFRDIRGFLA  | KEEVEVNEAV  |
| M | .....        | .....       | .....R..... | .....       | .....E..... |
|   | 1651         |             |             |             | 1700        |
| N | LAINTSKFPN   | MYIPVGQVTD  | YGFLNLGGTP  | TKRMLMYNFP  | TRAGQCGGVL  |
| M | .....        | .....       | .....       | .....       | .....       |
|   | 1701         |             |             |             | 1750        |
| N | MSTGKVLGIH   | VGGNGHQGFS  | AALLKHYFND  | EQGEIEFIES  | SKDAGFPIIN  |
| M | .....        | .....       | ...B...E    | .....       | .....V..    |
|   | 1751         |             |             |             | 1800        |
| N | TPSKTKLEFS   | VFHQCLKATK  | NPAVLRNGDF  | RLKANFEEAI  | FSKYIGNVNT  |
| M | .....        | ...VFEGN..  | E.....      | .....       | .....       |
|   | 1801         |             |             |             | 1850        |
| N | HVDEYMLEAV   | DHYAGQLATL  | DISTEPMKLE  | DAVYGTEGLE  | ALDLTTSAGY  |
| M | .....        | .....       | .....       | .....       | .....       |

# MD 4480 C1 2017.12.31

24

|   |             |            |             |             |            |
|---|-------------|------------|-------------|-------------|------------|
|   | 1851        |            |             |             | 1900       |
| N | PYVALGIKKR  | DILSKKTRDL | TKLKECMDKY  | GLNLPMVTYV  | KDELRSAEKV |
| M | .....       | .....K..   | .....       | .....       | .....      |
|   | 1901        |            |             |             | 1950       |
| N | AKGESRLIEA  | SSLNDSVAMR | QTFCGNLYKTF | HLNPGIVTGS  | AVGCDPDLFW |
| M | .....       | .....      | .....       | .....       | .....V..   |
|   | 1951        |            |             |             | 2000       |
| N | SKIPVMLDGH  | LIAFDYSGYD | ASLSPVWFAC  | LKLLLEKLGY  | THKETNYIDY |
| M | .....       | .....      | .....       | .....       | .N.....    |
|   | 2001        |            |             |             | 2050       |
| N | LCNSHHLYRD  | KHYFVRGGMP | SGCSGTSIFN  | SMINNI IIRT | LMLKVYKPID |
| M | .....       | .....      | .....       | .....       | .....      |
|   | 2051        |            |             |             | 2100       |
| N | LDQFRIIAYG  | DDVIASYPWF | IDASLLAEAG  | KDYGLIMTPA  | DKGECFNEVN |
| M | .....M....  | .....      | .....       | .....       | .....F     |
|   | 2101        |            |             |             | 2150       |
| N | WTVNVTFLKRY | FRADEQYFFL | VHFVMPMKDI  | HESIRWTKDP  | KNTQDHVRSI |
| M | .....       | .....      | .....       | .....       | .....      |
|   | 2151        |            |             |             | 2196       |
| N | CLLAWNGEH   | EYEEFIRKIR | KRASWTLFDF  | TCVFNEAQEV  | VGLLLK     |
| M | .....Q      | .....      | SVPVGRCLTL  | PAFSTLRKRW  | LDSF--     |

Identitatea secvenței: 91%

Fig. 2



# MD 4480 C1 2017.12.31

26

|   |   |                 |      |
|---|---|-----------------|------|
| caa gaa ucg acc   | caa aag acu ggu gca cac gag acc                 | agu aug agc gcu | 799  |
| Gln Val Ser Thr   | Gln Lys Thr Gly Ala His Glu Thr Xaa Leu Ser Ala |                 |      |
| 5   | 10  | 15              |      |
|   |   |                 |      |
| aac gga cac ucu aac auu cac cau acc aac auc aac uac uac aaa gau |   |                 | 847  |
| Asn Gly His Ser Ile Ile His Tyr Thr Asn Ile Asn Tyr Tyr Lys Asp |   |                 |      |
| 20  | 25  | 30              | 35   |
|   |   |                 |      |
| gca gca ucc aac uca gcc aac agg cag gas uuc acc cag gas cca ggu |   |                 | 895  |
| Ala Ala Ser Asn Ser Ala Asn Arg Gln Asp Phe Thr Gln Asp Pro Gly |   |                 |      |
| 40  | 45  | 50              |      |
|   |   |                 |      |
| aag uuc acu gaa ccg gcc aag gau aac aug auc aaa ucg aug ccc gcc |   |                 | 943  |
| Lys Phe Thr Glu Pro Val Lys Asp Ile Met Ile Lys Ser Met Pro Ala |   |                 |      |
| 55  | 60  | 65              |      |
|   |   |                 |      |
| caa aac uca ccg ucc gcc gag gag ugc ggg uac agc gac egg gug gga |   |                 | 991  |
| Leu Asn Ser Pro Ser Ala Glu Glu Cys Gly Tyr Ser Asp Arg Val Arg |   |                 |      |
| 70  | 75  | 80              |      |
|   |   |                 |      |
| ucc caa agc cuc gcc aac uca acc auu acc acu caa gaa agu gca aac |   |                 | 1039 |
| Ser Leu Thr Leu Gly Asn Ser Thr Ile Thr Thr Gln Glu Ser Ala Asn |   |                 |      |
| 85  | 90  | 95              |      |
|   |   |                 |      |
| gaa guu guu ggc uau gcc agg ugg cca gag uac uug aaa gau gaa gaa |   |                 | 1087 |
| Val Val Val Gly Tyr Gly Arg Trp Pro Glu Tyr Leu Lys Asp Glu Glu |   |                 |      |
| 100   | 105   | 110             | 115  |
|   |   |                 |      |
| gcu acu ggc gaa gau cag cca aca caa ccc gau gaa gcc acr ugc agg |   |                 | 1135 |
| Ala Thr Ala Glu Asp Gln Pro Thr Gln Pro Asp Val Ala Thr Cys Arg |   |                 |      |
| 120   | 125   | 130             |      |
|   |   |                 |      |
| uuc uac agc uug gaa ucc gcc cag ugg gag aaa aau agc gcc gga ugg |   |                 | 1183 |
| Phe Tyr Thr Leu Glu Ser Val Gln Trp Glu Lys Asn Ser Ala Gly Trp |   |                 |      |
| 135   | 140   | 145             |      |
|   |   |                 |      |
| agg ugg aag uuc ccc gaa gca cuu aag gac aug gcc cuc uuu ggu cag |   |                 | 1231 |
| Trp Trp Lys Phe Pro Glu Ala Leu Lys Asp Met Gly Leu Phe Gly Gln |   |                 |      |
| 150   | 155   | 160             |      |
|   |   |                 |      |
| aac aug cuu uac cac uau cuc ggu aga gca gcc uac acu aua cau ggc |   |                 | 1279 |
| Asn Met Leu Tyr His Tyr Leu Gly Arg Ala Gly Tyr Thr Ile His Val |   |                 |      |
| 165   | 170   | 175             |      |
|   |   |                 |      |
| cag ugc aac gca ucc aaa uuu cau cag gcc ugu cua cuu guu guc ugu |   |                 | 1327 |
| Gln Cys Asn Ala Ser Lys Phe His Gln Gly Cys Leu Leu Val Val Cys |   |                 |      |
| 180   | 185   | 190             | 195  |
|   |   |                 |      |
| gaa ccc gaa gcc gag aug ggg ugu ucc cag acg gac aaa gag guu gcu |   |                 | 1375 |
| Val Pro Glu Ala Glu Met Gly Cys Ser Gln Thr Asp Lys Glu Val Ala |   |                 |      |
| 200   | 205   | 210             |      |
|   |   |                 |      |
| gcc aug aac cuc acg aag ggu gaa acg gcc cac aag uuu gaa caa acc |   |                 | 1423 |
| Ala Met Asn Leu Thr Lys Gly Glu Thr Ala His Lys Phe Glu Pro Thr |   |                 |      |
| 215   | 220   | 225             |      |
|   |   |                 |      |
| aaa acc aca gcc gcc cac aca gug caa ucc aua gug ugc aac gcc ggu |   |                 | 1471 |

# MD 4480 C1 2017.12.31

27

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|--|
| Lys | Thr | Thr | Gly | Gly | His | Thr | Val | Gln | Ser | Ile | Val | Cys | Asn | Ala | Gly |      |  |
|     |     | 236 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |     |     |     |      |  |
| aug | ggc | auc | ggc | gug | ggg | aac | ccc | acc | auc | uac | ccs | cac | cag | ugg | auc | 1519 |  |
| Met | Gly | Ile | Gly | Val | Gly | Asn | Leu | Thr | Ile | Tyr | Pro | His | Gln | Trp | Ile |      |  |
|     |     | 245 |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |     |     |     |      |  |
| aac | uug | ggc | acv | asv | aac | ugc | goc | aca | aua | gug | aug | ccg | uau | gaa | gau | 1567 |  |
| Asn | Leu | Arg | Thr | Asn | Asn | Cys | Ala | Thr | Ile | Val | Met | Pro | Tyr | Ile | Asn |      |  |
|     |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |     |     | 275 |      |  |
| uce | guc | ccc | aug | gau | aac | aug | uuu | agg | cac | uac | aau | uuc | ecg | cua | aug | 1615 |  |
| Ser | Val | Pro | Met | Asp | Asn | Met | Phe | Arg | His | Tyr | Asn | Phe | Thr | Leu | Met |      |  |
|     |     |     |     | 280 |     |     |     | 285 |     |     |     |     |     | 290 |     |      |  |
| gug | auc | cca | uuu | gca | ccc | cug | gau | uac | aau | gcc | caa | gca | ccu | gag | uac | 1663 |  |
| Val | Ile | Pro | Phe | Ala | Pro | Leu | Asp | Tyr | Asn | Ala | Gln | Ala | Ser | Glu | Tyr |      |  |
|     |     |     | 295 |     |     |     | 300 |     |     |     |     |     | 305 |     |     |      |  |
| gua | ccu | gua | ecu | guc | aca | sua | gcc | cca | aug | ugu | gca | gaa | uac | aau | ggu | 1711 |  |
| Val | Pro | Val | Thr | Val | Thr | Ile | Ala | Pro | Met | Cys | Ala | Glu | Tyr | Asn | Gly |      |  |
|     |     | 310 |     |     |     | 315 |     |     |     |     |     | 320 |     |     |     |      |  |
| uua | egg | cug | gcu | uac | ceg | caa | ggg | cug | cca | gug | caa | aau | aca | ccg | gga | 1759 |  |
| Leu | Arg | Leu | Ala | Tyr | Gln | Gln | Gly | Leu | Pro | Val | Leu | Asn | Thr | Pro | Gly |      |  |
|     | 325 |     |     |     | 330 |     |     |     |     |     | 335 |     |     |     |     |      |  |
| agc | aau | cag | uuu | aug | aca | uoc | gau | gau | uuu | caa | ucc | ccu | uug | gcu | aug | 1807 |  |
| Ser | Asn | Gln | Phe | Met | Thr | Ser | Asp | Asp | Phe | Gln | Ser | Pro | Ser | Ala | Met |      |  |
|     | 340 |     |     | 345 |     |     |     | 350 |     |     |     |     |     |     | 355 |      |  |
| cca | caa | uuu | gau | gug | acu | ccg | cac | aug | gac | auc | caa | ggu | gaa | gug | cac | 1855 |  |
| Pro | Gln | Phe | Asp | Val | Thr | Pro | His | Met | Asp | Ile | Pro | Gly | Glu | Val | His |      |  |
|     |     |     |     | 360 |     |     |     | 365 |     |     |     |     |     | 370 |     |      |  |
| aac | cuc | aug | gag | asu | gca | gaa | guu | gau | uoc | gug | gua | ccu | guu | aac | aac | 1903 |  |
| Asn | Leu | Met | Glu | Ile | Ala | Glu | Val | Asp | Ser | Val | Val | Pro | Val | Asn | Asn |      |  |
|     |     | 375 |     |     |     | 380 |     |     |     |     |     | 385 |     |     |     |      |  |
| acc | gug | gac | aau | cug | caa | agc | aug | gac | gca | uau | cac | aua | gag | gug | aac | 1951 |  |
| Thr | Ala | Ala | Asn | Leu | Gln | Ser | Met | Asp | Ala | Tyr | His | Ile | Glu | Val | Asn |      |  |
|     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |     |     |     |     |      |  |
| rca | gga | aau | cac | caa | ggu | gea | seg | sua | uuc | gcu | uuc | cag | aau | caa | ccc | 1999 |  |
| Xaa | Gly | Asn | His | Gln | Gly | Glu | Lys | Ile | Phe | Ala | Phe | Gln | Ile | Gln | Pro |      |  |
|     | 405 |     |     |     | 410 |     |     |     |     |     | 415 |     |     |     |     |      |  |
| ggg | cug | gau | cca | gug | uuu | aaq | aga | aca | cug | cua | ggc | gaa | gug | cuc | aau | 2047 |  |
| Gly | Leu | Asp | Ser | Val | Phe | Lys | Arg | Thr | Leu | Leu | Gly | Glu | Val | Leu | Asn |      |  |
|     | 420 |     |     | 425 |     |     |     |     |     | 430 |     |     |     | 435 |     |      |  |
| uau | uac | ggc | cac | ugg | uca | ggg | agc | auu | agc | cua | aca | uuc | aca | uuu | ugu | 2095 |  |
| Tyr | Tyr | Ala | His | Trp | Ser | Gly | Ser | Ile | Lys | Leu | Thr | Phe | Thr | Phe | Cys |      |  |
|     |     |     |     | 440 |     |     |     | 445 |     |     |     |     |     | 450 |     |      |  |
| ggv | uce | gca | aug | goc | acg | ggc | aaq | cua | cuc | uua | gca | uac | ucc | cca | ccu | 2143 |  |
| Gly | Ser | Ala | Met | Ala | Thr | Gly | Lys | Leu | Leu | Leu | Ala | Tyr | Ser | Pro | Pro |      |  |

# MD 4480 C1 2017.12.31

28

| 455 |     |     |     | 460 |     |     |     | 465 |     |     |     |     |     |     |     |      |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| ggc | goc | gau | gaa | ccg | gcu | agg | aga | aag | cag | gca | aug | aug | gga | ecc | cau | 2191 |
| Gly | Ala | Asp | Val | Pro | Ala | Ser | Arg | Lys | Gln | Ala | Met | Met | Gly | Thr | His |      |
|     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |     |     |     |      |
| auc | auc | ugg | gac | uaa | ggg | cug | caa | ucc | agu | ugc | guu | cua | ugu | auu | cca | 2239 |
| Ile | Ile | Trp | Asp | Leu | Gly | Leu | Gln | Ser | Ser | Cys | Val | Leu | Cys | Ile | Pro |      |
|     |     | 485 |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |     |     |     |      |
| ugg | auc | agu | cag | aca | cau | uau | cgc | cua | gug | caa | cag | gau | gag | gac | acc | 2287 |
| Trp | Ile | Ser | Gln | Thr | His | Tyr | Arg | Leu | Val | Gln | Gln | Asp | Glu | Tyr | Thr |      |
| 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |     |     | 515 |      |
| agc | goc | ggc | cau | guc | ecc | ugc | ugg | ueu | cag | aca | ggc | aua | gug | guu | cca | 2335 |
| Ser | Ala | Gly | Asn | Val | Thr | Cys | Trp | Tyr | Gln | Thr | Gly | Ile | Val | Val | Pro |      |
|     |     |     |     | 520 |     |     |     |     |     | 525 |     |     |     |     | 530 |      |
| ccc | ggc | aca | ccc | aac | aag | ugu | guc | guc | ccg | ugc | uuu | gug | uca | gcg | ugu | 2383 |
| Pro | Gly | Thr | Pro | Asn | Lys | Cys | Val | Val | Leu | Cys | Phe | Val | Ser | Ala | Cys |      |
|     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |     | 545 |     |      |
| cau | gac | uuc | ucc | gug | agg | aug | cug | cgu | gac | aca | cca | uuc | auc | ggc | caa | 2431 |
| Asn | Asp | Phe | Ser | Val | Arg | Met | Leu | Arg | Asp | Thr | Pro | Phe | Ile | Gly | Gln |      |
|     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |     |     |     |      |
| aca | aca | cug | caa | caa | ggc | gau | acg | gac | gug | goc | guc | aac | cau | gca | gaa | 2479 |
| Thr | Thr | Leu | Leu | Gln | Gly | Asp | Thr | Asp | Val | Ala | Val | Asn | Asn | Ala | Val |      |
|     |     | 565 |     |     |     | 570 |     |     |     |     | 575 |     |     |     |     |      |
| goc | agg | gaa | gcu | gau | aca | auu | goc | agu | ggg | ccc | agc | aac | ucc | acu | agc | 2527 |
| Ala | Arg | Val | Ala | Asp | Thr | Ile | Ala | Ser | Gly | Pro | Ser | Asn | Ser | Thr | Ser |      |
| 580 |     |     |     |     | 585 |     |     |     |     | 590 |     |     |     |     | 595 |      |
| auu | ccu | gaa | cua | acc | gca | guu | gag | acu | ggg | cac | aca | uca | cag | gaa | gag | 2575 |
| Ile | Pro | Ala | Leu | Thr | Ala | Val | Glu | Thr | Gly | His | Thr | Ser | Gln | Val | Glu |      |
|     |     |     |     | 600 |     |     |     |     | 605 |     |     |     |     | 610 |     |      |
| ccu | agu | gau | aca | aug | caa | aca | cgg | cau | gaa | aag | aac | uac | cau | ucg | cga | 2623 |
| Pro | Ser | Asp | Thr | Met | Gln | Thr | Arg | His | Val | Lys | Asn | Tyr | His | Ser | Arg |      |
|     |     |     | 615 |     |     |     | 620 |     |     |     |     |     |     | 625 |     |      |
| ucc | gaa | uca | aca | aua | gag | aac | uuc | cuu | agc | cgg | ucg | goc | ugu | gaa | uau | 2671 |
| Ser | Glu | Ser | Thr | Ile | Glu | Asn | Phe | Leu | Ser | Arg | Ser | Ala | Cys | Val | Tyr |      |
|     |     | 630 |     |     |     |     | 635 |     |     |     |     | 640 |     |     |     |      |
| auu | gaa | gag | uac | uuu | acc | aaa | gau | caa | gac | agc | goc | cau | egg | uac | aug | 2719 |
| Ile | Glu | Glu | Tyr | Phe | Thr | Lys | Asp | Gln | Asp | Ser | Ala | Asn | Arg | Tyr | Met |      |
|     |     | 645 |     |     |     | 650 |     |     |     |     | 655 |     |     |     |     |      |
| uca | ugg | acu | aua | asu | gcu | aga | agg | acg | gug | caa | uug | agg | cga | aag | uuu | 2767 |
| Ser | Trp | Thr | Ile | Asn | Ala | Arg | Arg | Met | Val | Gln | Leu | Arg | Arg | Lys | Phe |      |
| 660 |     |     |     |     | 665 |     |     |     |     | 670 |     |     |     |     | 675 |      |
| gaa | cug | uac | aca | uac | aug | cgg | uuu | gau | aug | gag | auc | aca | uuu | guu | auc | 2815 |
| Glu | Leu | Phe | Thr | Tyr | Met | Arg | Phe | Asp | Met | Glu | Ile | Thr | Phe | Val | Ile |      |
|     |     |     |     | 680 |     |     |     |     | 685 |     |     |     |     |     | 690 |      |

# MD 4480 C1 2017.12.31

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |      |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|------|
| acc | agu | age | caa | cug | ccu | ggg | acu | agc | auc | gcg | caa | gac | aug | ccg | cca |  | 2863 |
| Thr | Ser | Arg | Gln | Leu | Pro | Gly | Thr | Ser | Ile | Ala | Gln | Asp | Met | Pro | Pro |  |      |
|     |     |     | 685 |     |     |     |     | 700 |     |     |     |     | 705 |     |     |  |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |      |
| cug | aca | cac | caa | acc | aug | ueu | aua | ccc | ccu | ggg | ggg | ccc | guc | ccc | aac |  | 2911 |
| Leu | Thr | His | Gln | Ile | Met | Tyr | Ile | Pro | Pro | Gly | Gly | Pro | Val | Pro | Asn |  |      |
|     |     |     | 710 |     |     |     |     | 715 |     |     |     |     | 720 |     |     |  |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |      |
| agu | gug | acc | gac | uuu | gca | ugg | caa | acu | scg | acu | aau | cca | agu | auc | uuu |  | 2959 |
| Ser | Val | Thr | Asp | Phe | Ala | Trp | Gln | Thr | Ser | Thr | Asn | Pro | Ser | Ile | Phe |  |      |
|     |     |     | 725 |     |     | 730 |     |     |     |     | 735 |     |     |     |     |  |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |      |
| ugg | acu | gag | ggc | aau | gcc | ccc | ccg | cgu | aug | ucc | aua | cca | uuu | aua | agc |  | 3007 |
| Trp | Thr | Glu | Gly | Asn | Ala | Pro | Pro | Arg | Met | Ser | Ile | Pro | Phe | Ile | Ser |  |      |
|     |     |     |     |     | 745 |     |     |     |     | 750 |     |     |     |     | 755 |  |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |      |
| aua | ggg | aau | gca | uac | agc | aac | uuu | uuu | gac | ggr | ugg | ucg | cac | uuc | uca |  | 3055 |
| Ile | Gly | Asn | Ala | Tyr | Ser | Asn | Phe | Tyr | Asp | Gly | Trp | Ser | His | Phe | Ser |  |      |
|     |     |     |     | 760 |     |     |     |     | 765 |     |     |     |     | 770 |     |  |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |      |
| caa | aau | ggg | guc | uac | ggc | uac | aau | gca | uuu | aac | aac | aug | ggc | aaa | uuu |  | 3103 |
| Gln | Asn | Gly | Val | Tyr | Gly | Tyr | Asn | Ala | Leu | Asn | Asn | Met | Gly | Lys | Leu |  |      |
|     |     |     | 775 |     |     |     |     | 780 |     |     |     |     | 785 |     |     |  |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |      |
| uac | gca | ggc | cau | gug | aac | aaa | gac | aca | ccg | uac | cag | aug | ucc | egu | ccg |  | 3151 |
| Tyr | Ala | Arg | His | Val | Asn | Lys | Asp | Thr | Pro | Tyr | Gln | Met | Ser | Ser | Thr |  |      |
|     |     |     | 790 |     |     |     | 795 |     |     |     |     | 800 |     |     |     |  |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |      |
| auu | cgu | gug | uac | uuu | aaa | ccc | aaa | cau | auc | aga | gug | ugg | gug | cca | aga |  | 3199 |
| Ile | Arg | Val | Tyr | Phe | Lys | Pro | Lys | His | Ile | Arg | Val | Trp | Val | Pro | Arg |  |      |
|     |     |     | 805 |     |     | 810 |     |     |     |     | 815 |     |     |     |     |  |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |      |
| cca | cca | cgu | uug | ugc | ccc | ueu | auu | aaa | ucv | agu | aac | guu | aac | uuu | gac |  | 3247 |
| Pro | Pro | Arg | Leu | Cys | Pro | Tyr | Ile | Lys | Ser | Ser | Asn | Val | Asn | Phe | Asp |  |      |
|     |     |     |     |     | 825 |     |     |     |     | 830 |     |     |     |     | 835 |  |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |      |
| cca | ccc | aac | caa | acu | geu | uca | aga | uca | agu | aua | aca | uuu | gug | ccc | gac |  | 3295 |
| Pro | Thr | Asn | Leu | Thr | Asp | Ser | Arg | Ser | Ser | Ile | Thr | Tyr | Val | Pro | Asp |  |      |
|     |     |     |     | 840 |     |     |     |     | 845 |     |     |     |     | 850 |     |  |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |      |
| acu | auc | cgu | ccg | gaa | guc | cgu | aca | gcu | gga | aaa | uuc | ggc | cac | cag | ucc |  | 3343 |
| Thr | Ile | Arg | Pro | Glu | Val | Arg | Thr | Ala | Gly | Lys | Phe | Gly | His | Gln | Ser |  |      |
|     |     |     |     | 855 |     |     |     | 860 |     |     |     |     | 865 |     |     |  |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |      |
| ggu | gcu | guu | uac | gug | ggg | aau | uac | aga | aaa | gug | aac | agg | cac | cuc | gcc |  | 3391 |
| Gly | Ala | Val | Tyr | Val | Gly | Asn | Tyr | Arg | Ile | Val | Asn | Arg | His | Leu | Ala |  |      |
|     |     |     | 870 |     |     |     | 875 |     |     |     |     | 880 |     |     |     |  |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |      |
| acg | cac | aac | gac | ugg | caa | aac | ugu | gug | ugg | gaa | gac | uac | aac | ega | gac |  | 3439 |
| Thr | His | Asn | Asp | Trp | Gln | Asn | Cys | Val | Trp | Gln | Asp | Tyr | Asn | Arg | Asp |  |      |
|     |     |     |     |     |     | 890 |     |     |     |     | 895 |     |     |     |     |  |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |      |
| ccc | cus | gug | agc | acc | acu | aca | gcc | cau | ggg | ugu | gac | acu | aua | gcc | aga |  | 3487 |
| Leu | Leu | Val | Ser | Thr | Thr | Thr | Ala | His | Gly | Cys | Asp | Thr | Ile | Ala | Arg |  |      |
|     |     |     |     |     |     | 905 |     |     |     | 910 |     |     |     |     | 915 |  |      |

# MD 4480 C1 2017.12.31

30

|                         |   |                                 |      |
|-------------------------|---|---------------------------------|------|
| ugc cag ugc acc         | gca ggc gua uau uuU                             | ugc gcc uca agg aac aaa cau     | 3835 |
| Cys Gln Cys Thr         | Ala Gly Val Tyr Phe Cys Ala Ser Arg Asn Lys His |                                 |      |
|                         | 920   | 925                             | 930  |
|                         |   |                                 |      |
| uac cca guc acc         | uuc gag ggg cca ggc                             | uug gug gaa guu cag gag agc     | 3883 |
| Tyr Pro Val Thr Phe     | Glu Gly Pro Gly Leu Val Glu Val Gln Glu Ser     |                                 |      |
|                         | 935   | 940                             | 945  |
|                         |   |                                 |      |
| gag uac uac cca aaa aga | yau cag ucc cac gug                             | cuc cua gcc gca gga             | 3831 |
| Glu Tyr Tyr Pro Lys Arg | Xaa Gln Ser His Val Leu Leu Ala Ala Gly         |                                 |      |
|                         | 950   | 955                             | 960  |
|                         |   |                                 |      |
| uuu ucu gaa ccg         | ggc gau ugu ggc gga                             | auc cuc aga ugu caa cac ggc     | 3679 |
| Phe Ser Glu Pro Gly     | Asp Cys Gly Gly Ile Leu Arg Cys Gln His Gly     |                                 |      |
|                         | 965   | 970                             | 975  |
|                         |   |                                 |      |
| gag auc ggu auc         | guc acc aug ggu gga                             | gag ggg guc guu ggg uuU gcc     | 3727 |
| Val Ile Gly Ile Val     | Thr Met Gly Gly Glu Gly Val Val Gly Phe Ala     |                                 |      |
|                         | 985   | 990                             | 995  |
|                         |   |                                 |      |
| gac guc age gac         | cua cug ugg uua gag                             | gaa gaa gcc aug gaa cag ggc     | 3775 |
| Asp Val Arg Asp Leu     | Leu Trp Leu Glu Asp Asp Ala Met Glu Gln Gly     |                                 |      |
|                         | 1000  | 1005                            | 1010 |
|                         |   |                                 |      |
| gua aga gac uac         | guu gaa caa cua gga                             | aaU gcu uuc ggc uca ggu uuc     | 3823 |
| Val Arg Asp Tyr Val     | Glu Gln Leu Gly Asn Ala Phe Gly Ser Gly Phe     |                                 |      |
|                         | 1015  | 1020                            | 1025 |
|                         |   |                                 |      |
| acc auU caa uuU         | ugu gaa cag guc acc                             | cuc cuc aac gag ucc uuq guu     | 3871 |
| Thr Asn Gln Ile Cys     | Glu Gln Val Asn Leu Leu Lys Glu Ser Leu Val     |                                 |      |
|                         | 1030  | 1035                            | 1040 |
|                         |   |                                 |      |
| gga cag gau ucu         | auU ccg gaa aaa ucc                             | cuc aag gcc cua guu aag auU     | 3919 |
| Gly Gln Asp Ser Ile     | Leu Glu Lys Ser Leu Lys Ala Leu Val Lys Ile     |                                 |      |
|                         | 1045  | 1050                            | 1055 |
|                         |   |                                 |      |
| auc uca gca ccg         | guc rou gaa ggg aga                             | aaU cac gas gaa cuc auU acg     | 3967 |
| Ile Ser Ala Leu Val     | Xaa Val Val Arg Asn His Asp Asp Leu Ile Thr     |                                 |      |
| 1060                    | 1065  | 1070                            | 1075 |
|                         |   |                                 |      |
| guu acc gcc acu         | cua gcu uua auU ggu                             | ugc acc uuU ucu ccg ugg ccg     | 4015 |
| Val Thr Ala Thr Leu     | Ala Leu Ile Gly Cys Thr Ser Ser Pro Trp Arg     |                                 |      |
|                         | 1080  | 1085                            | 1090 |
|                         |   |                                 |      |
| ugg cuc aag cag         | aag gug uca caa uau                             | uau gga auU ccc agg gcc gag     | 4063 |
| Trp Leu Lys Gln Lys     | Val Ser Glu Tyr Tyr Gly Ile Pro Arg Ala Glu     |                                 |      |
|                         | 1095  | 1100                            | 1105 |
|                         |   |                                 |      |
| cca caa aac auU         | age ugg cuc aag aag                             | uuU acu gag aug acc aac gcc     | 4111 |
| Arg Gln Asn Asn Ser     | Trp Leu Lys Lys Phe Thr Glu Met Thr Asn Ala     |                                 |      |
|                         | 1110  | 1115                            | 1120 |
|                         |   |                                 |      |
| ugc aag ggc aug         | gag ugg auU gcc auU                             | aaa auU cca aag uuU auU gag     | 4159 |
| Cys Lys Gly Met Glu     | Trp Ile Ala Ile Lys Ile Gln Lys Phe Ile Glu     |                                 |      |
|                         | 1125  | 1130                            | 1135 |
|                         |   |                                 |      |
| ugg cuU aaa guc         | aag auU ccg ccg                                 | gaa gug aag gaa aaa cac gag uuc | 4207 |

# MD 4480 C1 2017.12.31

31

|      |     |     |      |      |      |     |      |      |      |      |     |      |      |      |      |      |  |
|------|-----|-----|------|------|------|-----|------|------|------|------|-----|------|------|------|------|------|--|
| Trp  | Leu | Lys | Val  | Lys  | Ile  | Leu | Pro  | Glu  | Val  | Lys  | Glu | Lys  | His  | Glu  | Phe  |      |  |
| 1140 |     |     |      |      | 1145 |     |      |      |      | 1150 |     |      |      |      | 1155 |      |  |
| cuc  | aac | agg | cua  | aag  | caa  | usa | cca  | ccc  | caa  | gag  | agc | cag  | auc  | gca  | acc  | 4255 |  |
| Leu  | Asn | Arg | Leu  | Lys  | Gln  | Leu | Pro  | Leu  | Leu  | Glu  | Ser | Gln  | Ile  | Ala  | Thr  |      |  |
|      |     |     |      | 1160 |      |     |      |      | 1165 |      |     |      |      | 1170 |      |      |  |
| aac  | gag | cag | agu  | gca  | cca  | uag | cag  | agu  | gaa  | caa  | gag | caa  | cuc  | uuc  | ucc  | 4303 |  |
| Ile  | Glu | Gln | Ser  | Ala  | Pro  | Ser | Gln  | Ser  | Asp  | Gln  | Glu | Gln  | Leu  | Phe  | Ser  |      |  |
|      |     |     | 1175 |      |      |     |      | 1180 |      |      |     |      |      | 1185 |      |      |  |
| aac  | guc | cag | uac  | uuc  | guc  | cau | uac  | ugc  | aga  | aag  | uau | gug  | cca  | uug  | uac  | 4351 |  |
| Asn  | Val | Gln | Tyr  | Phe  | Ala  | His | Tyr  | Cys  | Arg  | Lys  | Tyr | Ala  | Pro  | Leu  | Tyr  |      |  |
|      |     |     | 1190 |      |      |     |      | 1195 |      |      |     |      | 1200 |      |      |      |  |
| guc  | guc | gaa | gag  | aag  | aga  | gug | uuc  | uca  | cuu  | gag  | aag | aaa  | aug  | agc  | aac  | 4399 |  |
| Ala  | Ala | Glu | Ala  | Lys  | Arg  | Val | Phe  | Ser  | Leu  | Glu  | Lys | Lys  | Met  | Ser  | Asn  |      |  |
|      |     |     | 1205 |      |      |     | 1210 |      |      |      |     |      | 1215 |      |      |      |  |
| uac  | aua | cag | uuc  | aag  | ucc  | aaa | ugc  | cgu  | auu  | gag  | ccu | gaa  | ugc  | uuu  | cuc  | 4447 |  |
| Tyr  | Ile | Gln | Phe  | Lys  | Ser  | Lys | Cys  | Arg  | Ile  | Glu  | Pro | Val  | Cys  | Leu  | Leu  |      |  |
| 1220 |     |     |      |      | 1225 |     |      |      |      | 1230 |     |      |      |      | 1235 |      |  |
| cua  | cau | guc | egc  | cca  | ggg  | gcc | gga  | seg  | ccc  | gug  | gcc | acc  | aac  | uug  | auu  | 4495 |  |
| Leu  | His | Gly | Ser  | Pro  | Gly  | Ala | Gly  | Lys  | Ser  | Val  | Ala | Thr  | Asn  | Leu  | Ile  |      |  |
|      |     |     |      | 1240 |      |     |      | 1245 |      |      |     |      |      |      | 1250 |      |  |
| ggc  | aga | ucc | cuc  | gca  | gaa  | aaa | ccc  | aac  | agc  | ucc  | gur | uac  | uuc  | cua  | cca  | 4543 |  |
| Gly  | Arg | Ser | Leu  | Ala  | Glu  | Lys | Leu  | Asn  | Ser  | Ser  | Val | Tyr  | Ser  | Leu  | Pro  |      |  |
|      |     |     | 1255 |      |      |     |      | 1260 |      |      |     |      |      | 1265 |      |      |  |
| cca  | gac | ccc | gac  | cac  | uuu  | gac | ggc  | uac  | aag  | cag  | caa | gug  | guc  | gug  | auc  | 4591 |  |
| Pro  | Asp | Pro | Asp  | His  | Phe  | Asp | Gly  | Tyr  | Lys  | Gln  | Gln | Ala  | Val  | Val  | Ile  |      |  |
|      |     |     | 1270 |      |      |     |      | 1275 |      |      |     |      | 1280 |      |      |      |  |
| aug  | gau | gac | uuu  | ugc  | caa  | aau | ccu  | gaa  | gga  | aaa  | gaa | guc  | uca  | cua  | uuu  | 4639 |  |
| Met  | Asp | Asp | Leu  | Cys  | Gln  | Asn | Pro  | Asp  | Gly  | Lys  | Asp | Val  | Ser  | Leu  | Phe  |      |  |
|      |     |     | 1285 |      |      |     | 1290 |      |      |      |     | 1295 |      |      |      |      |  |
| ugu  | cag | aug | guu  | uuu  | aga  | gug | gac  | uuu  | gua  | cca  | ccg | aug  | gcu  | ggg  | cua  | 4687 |  |
| Cys  | Gln | Met | Val  | Ser  | Ser  | Val | Asp  | Phe  | Val  | Pro  | Pro | Met  | Ala  | Ala  | Leu  |      |  |
| 1300 |     |     |      |      | 1305 |     |      |      |      | 1310 |     |      |      |      | 1315 |      |  |
| gag  | gaa | aaa | gga  | auc  | cua  | uuu | acc  | ucc  | ccg  | uuc  | gug | uug  | guc  | uuc  | acc  | 4735 |  |
| Glu  | Glu | Lys | Gly  | Ile  | Leu  | Phe | Thr  | Ser  | Pro  | Phe  | Val | Leu  | Ala  | Ser  | Thr  |      |  |
|      |     |     |      | 1320 |      |     |      |      |      | 1325 |     |      |      |      | 1330 |      |  |
| aac  | gcu | ggg | ucc  | auc  | aau  | gca | ccc  | acu  | gug  | ucc  | gac | agc  | aga  | ggg  | cuc  | 4783 |  |
| Asn  | Ala | Gly | Ser  | Ile  | Asn  | Ala | Pro  | Thr  | Val  | Ser  | Asp | Ser  | Arg  | Ala  | Leu  |      |  |
|      |     |     | 1335 |      |      |     |      | 1340 |      |      |     |      |      | 1345 |      |      |  |
| gcu  | agg | aga | uuc  | cac  | uuu  | gac | aug  | aac  | auu  | gaa  | guc | auu  | uuu  | aug  | uac  | 4831 |  |
| Ala  | Arg | Arg | Phe  | His  | Phe  | Asp | Met  | Asn  | Ile  | Glu  | Val | Ile  | Ser  | Met  | Tyr  |      |  |
|      |     |     | 1350 |      |      |     |      | 1355 |      |      |     |      |      | 1360 |      |      |  |
| agu  | caa | aac | ggc  | aag  | auc  | aac | aug  | ccc  | aug  | uca  | guc | aaa  | cca  | ugu  | gau  | 4879 |  |
| Ser  | Gln | Asn | Gly  | Lys  | Ile  | Asn | Met  | Pro  | Met  | Ser  | Val | Lys  | Thr  | Cys  | Asp  |      |  |

# MD 4480 C1 2017.12.31

32

| 1365  | 1370 | 1375 |      |
|---|------|------|------|
| gaa gag ugu ugu cca guu aac uuc aaa agg ugc ugc ccg uug gug ugu |      |      | 4927 |
| Glu Glu Cys Cys Pro Val Asn Phe Lys Arg Cys Cys Pro Leu Val Cys |      |      |      |
| 1380  | 1385 | 1390 | 1395 |
| gga aag gcy aug caa uuc auu gau agg aga acu caa guu aga uau ucg |      |      | 4975 |
| Gly Lys Ala Met Gln Phe Ile Asp Arg Arg Thr Gln Val Arg Tyr Ser |      |      |      |
|   | 1400 | 1405 | 1410 |
| cug gac aag cus guu acu gaa aug uuu agg gag uau aac cau aga cac |      |      | 5023 |
| Leu Asp Met Leu Val Thr Glu Met Phe Arg Glu Tyr Asn His Arg His |      |      |      |
|   | 1415 | 1420 | 1425 |
| aga gug gga gcc ccu cuu gaa gcu cug auc caa ggg cca cca guc uac |      |      | 5071 |
| Ser Val Gly Ala Thr Leu Glu Ala Leu Phe Gln Gly Pro Pro Val Tyr |      |      |      |
|   | 1430 | 1435 | 1440 |
| aga gag auc aaa auc agc guc gcc cca gag aca acc cca cca cca gcu |      |      | 5119 |
| Arg Glu Ile Lys Ile Ser Val Ala Pro Glu Thr Pro Pro Pro Pro Ala |      |      |      |
|   | 1445 | 1450 | 1455 |
| auu gcu gau uua cug aaa uca gag gac agu gaa gcu gug agg gas uac |      |      | 5167 |
| Ile Ala Asp Leu Leu Lys Ser Val Asp Ser Glu Ala Val Arg Glu Tyr |      |      |      |
| 1460  | 1465 | 1470 | 1475 |
| ugc aag gag aga ggg ugg cuu gug cca gag auc aac ucu acc cua caa |      |      | 5215 |
| Cys Lys Glu Arg Gly Trp Leu Val Pro Glu Ile Asn Ser Thr Leu Gln |      |      |      |
|   | 1480 | 1485 | 1490 |
| aua gag aag cau gug agu aga gca uuc aua ugu uua caa gcc cua acc |      |      | 5263 |
| Ile Glu Lys His Val Ser Arg Ala Phe Ile Cys Leu Gln Ala Leu Thr |      |      |      |
|   | 1495 | 1500 | 1505 |
| acg uuu guu uca guu gcu ggu aua aua uac auu auu uac aaa uua uuu |      |      | 5311 |
| Thr Phe Val Ser Val Ala Gly Ile Ile Tyr Ile Ile Tyr Lys Leu Phe |      |      |      |
|   | 1510 | 1515 | 1520 |
| gca gga uuc caa ggc gcc uac aca ggg aug ccc aac cag aaa ccu aag |      |      | 5359 |
| Ala Gly Phe Gln Gly Ala Tyr Thr Gly Met Pro Asn Gln Lys Pro Lys |      |      |      |
|   | 1525 | 1530 | 1535 |
| gug ccc acc cug aga cag gcc aaa gaa cag ggc cca gcg uuu gag uuc |      |      | 5407 |
| Val Pro Thr Leu Arg Gln Ala Lys Val Gln Gly Pro Ala Phe Glu Phe |      |      |      |
| 1540  | 1545 | 1550 | 1555 |
| gcu gug gcg aag aag aaa agg aac gcc aga aca gaa aaa acc gag uac |      |      | 5455 |
| Ala Val Ala Met Met Lys Arg Asn Ala Ser Thr Val Lys Thr Glu Tyr |      |      |      |
|   | 1560 | 1565 | 1570 |
| ggu gaa uuc acc aag ccu ggc auu uac gac aag ugg gcy gug uca ccg |      |      | 5503 |
| Gly Glu Phe Thr Met Leu Gly Ile Tyr Asp Lys Trp Ala Val Leu Pro |      |      |      |
|   | 1575 | 1580 | 1585 |
| ggc cac gcc aag ccu ggc ccc acc auc uug aug aau gau cag gaa guc |      |      | 5551 |
| Arg His Ala Lys Pro Gly Pro Thr Ile Leu Met Asn Asp Gln Glu Val |      |      |      |
|   | 1590 | 1595 | 1600 |



# MD 4480 C1 2017.12.31

34

|      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |      |      |
|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|------|------|------|
| aag  | cua  | gag  | gac  | gcc  | gug  | uau  | ggu  | aca  | gag  | ggg  | cug  | gaa  | gaa | cua  | gac  | 6271 |
| Lys  | Leu  | Glu  | Asp  | Ala  | Val  | Tyr  | Gly  | Thr  | Glu  | Gly  | Leu  | Glu  | Ala | Leu  | Asp  |      |
|      | 1830 |      |      |      |      | 1835 |      |      |      |      | 1840 |      |     |      |      |      |
|      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |      |      |
| cua  | acc  | acc  | agu  | gaa  | ggc  | uac  | ccu  | uac  | gug  | gcc  | cug  | ggc  | auc | aag  | aaa  | 6319 |
| Leu  | Thr  | Thr  | Ser  | Ala  | Gly  | Tyr  | Pro  | Tyr  | Val  | Ala  | Leu  | Gly  | Ile | Lys  | Lys  |      |
|      | 1845 |      |      |      | 1850 |      |      |      |      |      | 1855 |      |     |      |      |      |
|      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |      |      |
| aga  | gau  | auu  | caa  | ucu  | aag  | aag  | acu  | aaa  | gac  | cuc  | acc  | aag  | uug | aag  | gaa  | 6367 |
| Arg  | Asp  | Ile  | Leu  | Ser  | Lys  | Lys  | Thr  | Lys  | Asp  | Leu  | Thr  | Lys  | Leu | Lys  | Glu  |      |
| 1860 |      |      |      | 1865 |      |      |      |      | 1870 |      |      |      |     |      | 1875 |      |
|      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |      |      |
| ggc  | aug  | gac  | aaa  | uau  | ggc  | cua  | aau  | uug  | cca  | aug  | gaa  | acc  | uac | guc  | aaa  | 6415 |
| Cys  | Met  | Asp  | Lys  | Tyr  | Gly  | Leu  | Asn  | Leu  | Pro  | Met  | Val  | Thr  | Tyr | Val  | Lys  |      |
|      |      |      | 1880 |      |      |      |      | 1885 |      |      |      |      |     |      | 1890 |      |
|      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |      |      |
| gau  | gag  | uug  | aga  | ucu  | gcu  | gag  | aag  | gug  | gcc  | aag  | gga  | aaa  | ucc | egg  | ccu  | 6463 |
| Asp  | Glu  | Leu  | Arg  | Ser  | Ala  | Glu  | Lys  | Val  | Ala  | Lys  | Gly  | Lys  | Ser | Arg  | Leu  |      |
|      |      | 1895 |      |      |      | 1900 |      |      |      |      |      |      |     | 1905 |      |      |
|      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |      |      |
| auu  | gag  | gcu  | ucu  | agu  | cuc  | aau  | gac  | uca  | gaa  | gca  | aug  | egg  | caa | aca  | uuu  | 6511 |
| Ile  | Glu  | Ala  | Ser  | Ser  | Leu  | Asn  | Asp  | Ser  | Val  | Ala  | Met  | Arg  | Gln | Thr  | Phe  |      |
|      | 1910 |      |      |      |      | 1915 |      |      |      |      |      | 1920 |     |      |      |      |
|      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |      |      |
| gga  | aaa  | uua  | uau  | aag  | acc  | uuu  | cac  | cuc  | aac  | ccg  | ggc  | auc  | guu | acg  | ggc  | 6559 |
| Gly  | Asn  | Leu  | Tyr  | Lys  | Thr  | Phe  | His  | Leu  | Asn  | Pro  | Gly  | Ile  | Val | Thr  | Gly  |      |
|      | 1925 |      |      |      | 1930 |      |      |      |      |      | 1935 |      |     |      |      |      |
|      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |      |      |
| agu  | gcu  | guu  | ggg  | ugu  | gcu  | cca  | gcu  | gug  | uuu  | ugg  | agc  | aag  | auc | ccu  | guu  | 6607 |
| Ser  | Ala  | Val  | Gly  | Cys  | Asp  | Pro  | Asp  | Val  | Phe  | Trp  | Ser  | Lys  | Ile | Pro  | Val  |      |
| 1940 |      |      |      | 1945 |      |      |      |      | 1950 |      |      |      |     |      | 1955 |      |
|      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |      |      |
| aug  | cuu  | gau  | gga  | cau  | ccc  | aaa  | gcu  | uuu  | gac  | uau  | uca  | ggc  | uau | gac  | gcu  | 6655 |
| Met  | Leu  | Asp  | Gly  | His  | Leu  | Ile  | Ala  | Phe  | Asp  | Tyr  | Ser  | Gly  | Tyr | Asp  | Ala  |      |
|      |      |      | 1960 |      |      |      |      |      | 1965 |      |      |      |     | 1970 |      |      |
|      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |      |      |
| agc  | cuc  | agc  | cca  | gug  | ugg  | uuu  | gca  | ugu  | uug  | aaa  | cuu  | cuc  | cua | gag  | aaa  | 6703 |
| Ser  | Leu  | Ser  | Pro  | Val  | Trp  | Phe  | Ala  | Cys  | Leu  | Lys  | Leu  | Leu  | Leu | Glu  | Lys  |      |
|      |      |      | 1975 |      |      |      | 1980 |      |      |      |      |      |     | 1985 |      |      |
|      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |      |      |
| cua  | ggg  | uau  | aca  | aac  | aag  | gaa  | aca  | aac  | uac  | aua  | gau  | uac  | cuc | ugu  | auu  | 6751 |
| Leu  | Gly  | Tyr  | Thr  | Asn  | Lys  | Glu  | Thr  | Asn  | Tyr  | Ile  | Asp  | Tyr  | Leu | Cys  | Asn  |      |
|      | 1990 |      |      |      |      | 1995 |      |      |      |      |      | 2000 |     |      |      |      |
|      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |      |      |
| ucc  | caa  | cac  | cug  | uau  | aga  | gac  | aag  | cac  | uac  | uuu  | gaa  | aga  | ggc | ggu  | aug  | 6799 |
| Ser  | His  | His  | Leu  | Tyr  | Arg  | Asp  | Lys  | His  | Tyr  | Phe  | Val  | Arg  | Gly | Gly  | Met  |      |
|      | 2005 |      |      |      |      | 2010 |      |      |      |      |      | 2015 |     |      |      |      |
|      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |      |      |
| cca  | uca  | ggg  | ugu  | uca  | ggc  | acc  | agc  | aua  | uuu  | aau  | ucc  | aug  | auu | aac  | aac  | 6847 |
| Pro  | Ser  | Gly  | Cys  | Ser  | Gly  | Thr  | Ser  | Ile  | Phe  | Asn  | Ser  | Met  | Ile | Asn  | Asn  |      |
| 2020 |      |      |      | 2025 |      |      |      |      |      | 2030 |      |      |     |      | 2035 |      |
|      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |      |      |
| auc  | aua  | auc  | egg  | acu  | cuc  | aug  | cug  | aag  | guu  | uau  | asa  | ggc  | auc | gau  | uug  | 6895 |
| Ile  | Ile  | Ile  | Arg  | Thr  | Leu  | Met  | Leu  | Lys  | Val  | Tyr  | Lys  | Gly  | Ile | Asp  | Leu  |      |
|      |      |      | 2040 |      |      |      |      |      | 2045 |      |      |      |     | 2050 |      |      |
|      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |      |      |
| gac  | caa  | uuc  | aga  | aug  | auc  | gcc  | uau  | ggg  | gaa  | gaa  | gug  | auc  | gaa | ucc  | uau  | 6943 |

# MD 4480 C1 2017.12.31

35

```

Asp Gln Phe Arg Met Ile Ala Tyr Gly Asp Asp Val Ile Ala Ser Tyr
      2055                2060                2065

ccg ugg ccu auc gau guc ucg cug uua gcu gaa gca gga aaa gau uau 6981
Pro Trp Pro Ile Asp Ala Ser Leu Leu Ala Glu Ala Gly Lys Asp Tyr
      2070                2075                2080

ggg uua auc aug acc cca gca gac aaa ggc gag ugc uuc aac gag gaa 7039
Gly Leu Ile Met Thr Pro Ala Asp Lys Gly Glu Cys Phe Asn Glu Val
      2085                2090                2095

acc ugg acg aaU gag acc uuu cug aaa egg uac uuu egg gca gau gag 7087
Thr Trp Thr Asn Val Thr Phe Leu Lys Arg Tyr Phe Arg Ala Asp Glu
2100                2105                2110                2115

caa uac cca uuu cug guc caa ccu guu aug cca aug aag gac auc cau 7135
Gln Tyr Pro Phe Leu Val His Pro Val Met Pro Met Lys Asp Ile His
      2120                2125                2130

gag ucu auu egg ugg acc aca gau ccc aag aac aca cag gau cau gag 7183
Glu Ser Ile Arg Trp Thr Lys Asp Pro Lys Asn Thr Gln Asp His Val
      2135                2140                2145

cgc ucg cug ugc cca uug guc ugg ccc aac ggg gag caa gaa uuu gag 7231
Arg Ser Leu Cys Leu Leu Ala Trp His Asn Gly Glu Gln Glu Tyr Glu
      2150                2155                2160

gag uuu auu cgc aag acc aga agc gag ccc guu ggg cgc ugc uug acc 7279
Glu Phe Ile Arg Lys Ile Arg Ser Val Pro Val Gly Arg Cys Leu Thr
      2165                2170                2175

caa ccc gcU uuu uca aca cug cgc agg aag ugg cug gac ucc uuu uaa 7327
Leu Pro Ala Phe Ser Thr Leu Arg Arg Lys Trp Leu Asp Ser Phe
2180                2185                2190

aauuagegca uauuaguaa aucauuuuug guuaaacuuu eocgcaugea 7377

cggaccuuga uuuuagugcg guuuguuuaa uuuuuuuuuu uuugugugcg 7427

```

```

<210>      2
<211>      7434
<212>      ARN
<213>      Enterovirus sp. Echo 7

```

```

<220>
<221> CDS
<222> {743}-{7333}
<221> incert
<222> 4448
<223>      Virus nonmodificat (nativ)

```

```

<400>      2

```

```

uuuuuacagc cuguggguuu uuuuuuuuuu cagggccac ugggugugag 50

```

# MD 4480 C1 2017.12.31

|   |             |
|---|-------------|
| cacacuggua ucacgguaac uuugugogoc ugvuuuuuuuu cccccucccc         | 100         |
| acuguaacou agagaaauca cauaaacgau caauagaagg cgcagcacac          | 150         |
| cagouagavc uugaccaagc acuvucguuu ccccggacug aguaucaaua          | 200         |
| gacugucucac gggguugaaq gegaaacgu ucgvuaacccg gccaacucac         | 250         |
| ucgagaaacc uaguaccacc augaaaguuq cgcaguguuu cgcucagcac          | 300         |
| aacccccgug uagawcaggw cgaugaguce ccgcauuccc caggggagac          | 350         |
| cguggcggug gcugcguuqg cggccugccu auggggcaac caaugggagc          | 400         |
| cuccaaacac gacauvgugc gaagagucua uugagcuagu ugguaquccu          | 450         |
| ccggccccug aagcgggcuu auccuaacug cggagcaagu gcccacaaac          | 500         |
| caguggguag cuvgucguaa cgggcaacuc ugcagcggaa ccgacuacuu          | 550         |
| ugggugucocg ugvuuccuuu uauucuuuuu cuggcugcuu auggggacaa         | 600         |
| uugagagauu guuaccuuu agcuauugga uugcccaacc ggugacuaac           | 650         |
| agagcauca uauuccucuu uguunguuuu auccacucug auccacucg            | 700         |
| uuacacacac ccgcuacaca uuauuuuuuu aaaaaccaag ag aug gga gca      | 751         |
|   | Met Gly Ala |
|   | 1           |
| caa gua uca ace caa aaa acu ggu gca cau gag acc ugu uug agc gcu | 799         |
| Gln Val Ser Thr Gln Lys Thr Gly Ala His Glu Thr Xaa Leu Ser Ala |             |
|   | 5 10 15     |
| aac gge agc ucc acc auu cac uac acc aac auc eaa uac uac eaa gau | 847         |
| Asn Gly Ser Ser Ile Ile His Tyr Thr Asn Ile Asn Tyr Tyr Lys Asp |             |
|   | 20 25 30 35 |
| gca gca ucc aac uca gcc aac agg caa gac uuc acc caa gau cca ggc | 895         |
| Ala Ala Ser Asn Ser Ala Asn Arg Gln Asp Phe Thr Gln Asp Pro Gly |             |
|   | 40 45 50    |
| aaa uuc ecc gaa ccg guc aag geu auc aug auc aag ucg aug ccc gcc | 943         |
| Lys Phe Thr Glu Pro Val Lys Asp Ile Met Ile Lys Ser Met Pro Ala |             |
|   | 55 60 65    |
| cua aac uca ccg acc ggg gag gag ugu ggg uac agu gac agg gug aga | 991         |
| Leu Asn Ser Pro Thr Val Glu Glu Cys Gly Tyr Ser Asp Arg Val Arg |             |
|   | 70 75 80    |
| ucc aua acg cuc ggc aac uca acc auu acc acu cag gag agu gca aau | 1039        |
| Ser Ile Thr Leu Gly Asn Ser Thr Ile Thr Thr Gln Glu Ser Ala Asn |             |
|   | 85 90 95    |
| gaa guu guu ggc uau ggc ggg ugg cca gag uac uug eaa gau gaa gaa | 1087        |
| Val Val Val Gly Tyr Gly Gly Trp Pro Glu Tyr Leu Lys Asp Glu Glu |             |

# MD 4480 C1 2017.12.31

| 100   | 105 | 110 | 115 |      |
|---|-----|-----|-----|------|
| gcu acU ggc gaa gau caa cca acc caa ccc gaa gaa ggc sca ugc egg |     |     |     | 1125 |
| Ala Thr Ala Glu Asp Gln Pro Thr Gln Pro Asp Val Ala Thr Cys Arg |     |     |     |      |
|   | 128 | 125 | 130 |      |
| uuu uac acg cug gaa ucc guc cag ugg gag aaa aaU ucc gcu gga ugg |     |     |     | 1183 |
| Phe Tyr Thr Leu Glu Ser Val Gln Trp Glu Lys Asn Ser Ala Gly Trp |     |     |     |      |
|   | 135 | 140 | 145 |      |
| ugg ugg aag uuc ccc gaa gca cuu aag gac aug ggc cuc uuU ggu caa |     |     |     | 1231 |
| Trp Trp Lys Phe Pro Glu Ala Leu Lys Asp Met Gly Leu Phe Gly Gln |     |     |     |      |
|   | 150 | 155 | 160 |      |
| aac aug caU uac cac uac cuc ggu aga gca ggc sac acU aua cac gag |     |     |     | 1279 |
| Asn Met His Tyr His Tyr Leu Gly Arg Ala Gly Tyr Thr Ile His Val |     |     |     |      |
|   | 165 | 170 | 175 |      |
| cag ugc aaU gca ucc aaa uuc cac caa ggc ugu caa cuU guU guc ugu |     |     |     | 1327 |
| Gln Cys Asn Ala Ser Lys Phe His Gln Gly Cys Leu Leu Val Val Cys |     |     |     |      |
|   | 180 | 185 | 190 | 195  |
| gua ccU gag gcu gag aug ggg ugu ucc aaa gug gac ggu acU gaa aaU |     |     |     | 1375 |
| Val Pro Glu Ala Glu Met Gly Cys Ser Lys Val Asp Gly Thr Val Asn |     |     |     |      |
|   | 200 | 205 | 210 |      |
| gag cag gaa uag acg gag ggu gaa acg gaa aug aag cuU gaa ccc acc |     |     |     | 1423 |
| Glu Gln Glu Leu Thr Glu Gly Glu Thr Asp Met Lys Leu Glu Pro Thr |     |     |     |      |
|   | 215 | 220 | 225 |      |
| aga acc acU ggc gaa cgc cga gug caa ucc gca gug uac sac ggc ggu |     |     |     | 1471 |
| Arg Thr Thr Gly Val Arg Arg Val Gln Ser Ala Val Tyr Asn Ala Gly |     |     |     |      |
|   | 230 | 235 | 240 |      |
| aug ggc guc ggc gug ggg aac cuU acc aac uuc cuU cac cag ugg aac |     |     |     | 1519 |
| Met Gly Val Gly Val Gly Asn Leu Thr Ile Phe Pro His Gln Trp Ile |     |     |     |      |
|   | 245 | 250 | 255 |      |
| aac cug cgc acU aac aac ugu gcu aca auU gug aug cca sac aua aaU |     |     |     | 1567 |
| Asn Leu Arg Thr Asn Asn Cys Ala Thr Ile Val Met Pro Tyr Ile Asn |     |     |     |      |
|   | 260 | 265 | 270 | 275  |
| agu gaa ccc aug gau aac aug uuU agg ccc uac aac uuc aag cuU aug |     |     |     | 1615 |
| Ser Val Pro Met Asp Asn Met Phe Arg His Tyr Asn Phe Thr Leu Met |     |     |     |      |
|   | 280 | 285 | 290 |      |
| aug aac cca uuU gca ccc cug gau uac acc aac caa gca uuU acg uac |     |     |     | 1663 |
| Met Ile Pro Phe Ala Pro Leu Asp Tyr Thr Asn Gln Ala Ser Thr Tyr |     |     |     |      |
|   | 295 | 300 | 305 |      |
| gua ccU aua acU ggc aca aca gca cca aug ugu ggc gaa uac aaU ggu |     |     |     | 1711 |
| Val Pro Ile Thr Val Thr Ile Ala Pro Met Cys Ala Glu Tyr Asn Gly |     |     |     |      |
|   | 310 | 315 | 320 |      |
| uug agg cuc guU acc ucg caa ggg uug cca gug aug aac caa ccg gga |     |     |     | 1759 |
| Leu Arg Leu Val Thr Ser Gln Gly Leu Pro Val Met Asn Thr Pro Gly |     |     |     |      |
|   | 325 | 330 | 335 |      |

# MD 4480 C1 2017.12.31

38

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| agc | aau | cag | uuc | cug | aca | ucg | gau | gac | uuu | caa | uca | ccu | ucg | gcu | aug | 1807 |
| Ser | Asn | Gln | Phe | Leu | Thr | Ser | Asp | Asp | Phe | Gln | Ser | Pro | Ser | Ala | Met |      |
| 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |     |     | 355 |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| cca | caa | uuu | gau | gag | acu | cca | gac | aug | gac | auc | cca | ggc | gac | gug | aac | 1855 |
| Pro | Gln | Phe | Asp | Val | Thr | Pro | Asp | Met | Asp | Ile | Pro | Gly | Glu | Val | Asn |      |
|     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |     | 370 |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| aac | cuc | aug | gag | auu | gca | gag | guu | gac | ucg | gug | gaa | ccu | guu | aac | aac | 1903 |
| Asn | Leu | Met | Glu | Ile | Ala | Glu | Val | Asp | Ser | Val | Val | Pro | Val | Asn | Asn |      |
|     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     | 385 |     |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| aau | gag | gac | aau | cug | aaa | agc | aug | gac | gca | uac | cgc | aaa | ccg | gug | aac | 1951 |
| Asn | Gln | Ala | Asn | Leu | Lys | Ser | Met | Asp | Ala | Tyr | Arg | Ile | Pro | Val | Asn |      |
|     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |     |     |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| aca | gga | aau | caa | caa | ggc | gaa | aaq | aaa | uuu | ggc | uuc | caa | aaa | caa | ccc | 1999 |
| Xaa | Gly | Asn | Gln | Gln | Gly | Glu | Lys | Ile | Phe | Gly | Phe | Gln | Ile | Gln | Pro |      |
|     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |     |     |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| ggg | cuu | gau | uca | gug | uuu | aag | aga | aca | cug | caa | ggc | gag | aug | cuc | aau | 2047 |
| Gly | Leu | Asp | Ser | Val | Phe | Lys | Arg | Thr | Leu | Leu | Gly | Glu | Met | Leu | Asn |      |
| 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |     |     | 435 |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| uuu | uac | agc | cac | ugg | uca | ggg | agc | auu | aaq | caa | aca | uuu | aug | uuu | ugu | 2095 |
| Tyr | Tyr | Thr | His | Trp | Ser | Gly | Ser | Ile | Lys | Leu | Thr | Phe | Met | Phe | Cys |      |
|     |     |     | 440 |     |     |     |     |     | 445 |     |     |     |     | 450 |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| ggc | uca | gca | aug | gac | acg | ggc | aaa | uuu | cuc | uuu | gca | uac | cca | cca | ccu | 2143 |
| Gly | Ser | Ala | Met | Ala | Thr | Gly | Lys | Leu | Leu | Leu | Ala | Tyr | Ser | Pro | Pro |      |
|     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     | 465 |     |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| ggc | gac | gau | gaa | ccg | acu | agc | aga | aaq | ggc | gca | aug | cug | ggc | acc | cau | 2191 |
| Gly | Ala | Asp | Val | Pro | Thr | Ser | Arg | Lys | Glu | Ala | Met | Leu | Gly | Thr | His |      |
|     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |     |     |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| guc | auc | ugg | gac | uuu | ggg | cug | caa | ucc | agu | ugu | guu | cug | ugu | guu | cca | 2239 |
| Val | Ile | Trp | Asp | Phe | Gly | Leu | Gln | Ser | Ser | Cys | Val | Leu | Cys | Val | Pro |      |
|     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |     |     |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| ugg | auc | agc | cag | aca | cac | uac | agg | ugg | gug | cag | cag | gau | gag | uac | acc | 2287 |
| Trp | Ile | Ser | Gln | Thr | His | Tyr | Arg | Leu | Val | Gln | Gln | Asp | Glu | Tyr | Thr |      |
| 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |     |     | 515 |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| ggc | gac | ggc | uuu | auc | acc | ugc | ugg | uac | caa | aca | agu | aaa | gug | guu | cca | 2335 |
| Gly | Ala | Gly | Tyr | Ile | Thr | Cys | Trp | Tyr | Gln | Thr | Ser | Ile | Val | Val | Pro |      |
|     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |     |     |     | 530 |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| ccc | ggc | acc | ccc | aaa | aaq | ugu | guc | auc | cug | uqc | uuu | gug | uca | gcq | ugu | 2383 |
| Pro | Gly | Thr | Pro | Lys | Lys | Cys | Val | Ile | Leu | Cys | Phe | Val | Ser | Ala | Cys |      |
|     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     | 545 |     |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| aau | gaa | uuc | ucc | gag | agc | aug | cug | agu | gac | aca | cca | uuc | auc | ggc | caa | 2431 |
| Asn | Asp | Phe | Ser | Val | Ser | Met | Leu | Ser | Asp | Thr | Pro | Phe | Ile | Gly | Gln |      |
|     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |     |     |     |      |

# MD 4480 C1 2017.12.31

|   |      |
|---|------|
| aca gca cug cug cag agc ccu gug gaa gaa gcu gaa gag aac gca guu | 2479 |
| Thr Ala Leu Leu Gln Ser Pro Val Gln Glu Ala Glu Glu Asn Ala Val |      |
| 565   | 575  |
| gca cgu gug gcu gac aca aua gcc agu ggg ccc agc aac ucc gag agc | 2527 |
| Ala Arg Val Ala Asp Thr Ile Ala Ser Gly Pro Ser Asn Ser Glu Ser |      |
| 580   | 595  |
| gcu ccu gca cca aca gca guu gag acu ggg cac aca uca cag gaa gug | 2575 |
| Val Pro Ala Leu Thr Ala Val Glu Thr Gly His Thr Ser Gln Val Val |      |
| 600   | 610  |
| ccu agu gac aca aug cca aca agg cau gug aag aac uac caa ucg aga | 2623 |
| Pro Ser Asp Thr Met Gln Thr Arg His Val Lys Asn Tyr His Ser Arg |      |
| 615   | 625  |
| ucu gag ucc acc aua gag aac uuc cuu agc agg ucc gcc ugu gug uau | 2671 |
| Ser Glu Ser Thr Ile Glu Asn Phe Leu Ser Arg Ser Ala Cys Val Tyr |      |
| 630   | 635  |
| 640   |      |
| auu gaa gag uac uau acc aac acu gaa acc aga caa aau uua uac aag | 2719 |
| Ile Glu Glu Tyr Tyr Thr Asn Thr Glu Thr Arg Gln Asn Leu Tyr Met |      |
| 645   | 650  |
| 655   |      |
| uug ccc acc aua aau acu aga ugg aug gug caa uug agg aga sag uuu | 2767 |
| Leu Pro Thr Ile Asn Thr Arg Trp Met Val Gln Leu Arg Arg Lys Phe |      |
| 660   | 665  |
| 670   | 675  |
| gag aag uuc aca uac aug agg uuu gcc aug gaa aac acc uuu guu aac | 2815 |
| Glu Met Phe Thr Tyr Met Arg Phe Asp Met Glu Ile Thr Phe Val Ile |      |
| 680   | 685  |
| 690   |      |
| acu agu aga caa cug cau cga acu agc aug ccg cag gac aug ccg gaa | 2863 |
| Thr Ser Arg Gln Leu His Arg Thr Ser Met Pro Gln Asp Met Pro Val |      |
| 695   | 700  |
| 705   |      |
| cug aca cac caa aac aug uau gaa cca ccu ggu ggu cca gaa cca aac | 2911 |
| Leu Thr His Gln Ile Met Tyr Val Pro Pro Gly Gly Pro Val Pro Asn |      |
| 710   | 715  |
| 720   |      |
| agu gug gac gau uac gca ugg caa acu ucg acu aac cca agu guc uuu | 2959 |
| Ser Val Asp Asp Tyr Ala Trp Gln Thr Ser Thr Asn Pro Ser Val Phe |      |
| 725   | 730  |
| 735   |      |
| ugg acc gag ggc aau gcc cca ccg cgu aug ucc aua cca uuc aua agc | 3007 |
| Trp Thr Glu Gly Asn Ala Pro Pro Arg Met Ser Ile Pro Phe Ile Ser |      |
| 740   | 745  |
| 750   | 755  |
| aua ggg aau gca uac agc aac uuu uau gau ggg ucc ucg cac uuc uua | 3055 |
| Ile Gly Asn Ala Tyr Ser Asn Phe Tyr Asp Gly Ser Ser His Phe Leu |      |
| 760   | 765  |
| 770   |      |
| caa uau ggg gaa uau ggc uac aac aca uua aac aac aug ggg aac uua | 3103 |
| Gln Tyr Gly Val Tyr Gly Tyr Asn Thr Leu Asn Asn Met Gly Lys Leu |      |
| 775   | 780  |
| 785   |      |
| uac gaa cgc cau gug aac aac cac aca cca uac caa aug acc agu acg | 3151 |

# MD 4480 C1 2017.12.31

40

|     |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |      |      |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|------|------|--|
| Tyr | Val | Arg | His | Val | Asn | Asn  | His | Thr | Pro | Tyr | Gln  | Met | Thr | Ser | Thr  |      |  |
|     |     | 796 |     |     |     |      | 795 |     |     |     |      | 800 |     |     |      |      |  |
| guu | agu | gug | uac | uuu | aaa | ccc  | aaa | cau | guc | aga | gag  | ugg | gug | ccg | aga  | 3159 |  |
| Val | Ser | Val | Tyr | Phe | Lys | Pro  | Lys | His | Val | Arg | Ala  | Trp | Val | Pro | Arg  |      |  |
|     |     | 805 |     |     |     | 810  |     |     |     |     | 815  |     |     |     |      |      |  |
| ccc | ccc | ccg | cug | ugc | ccc | uac  | aaa | aau | gca | uqg | aac  | guu | aac | uuu | gaa  | 3247 |  |
| Pro | Pro | Arg | Leu | Cys | Pro | Tyr  | Lys | Asn | Ala | Trp | Asn  | Val | Asn | Phe | Glu  |      |  |
| 820 |     |     |     |     | 825 |      |     |     |     | 830 |      |     |     |     | 835  |      |  |
| ccc | acc | aac | guc | acu | gau | uca  | aga | uca | aga | auc | aca  | uau | uuu | ccu | gag  | 3295 |  |
| Pro | Thr | Asn | Val | Thr | Asp | Ser  | Arg | Ser | Ser | Ile | Thr  | Tyr | Ile | Pro | Glu  |      |  |
|     |     |     |     | 840 |     |      |     |     | 845 |     |      |     |     |     | 850  |      |  |
| acg | guc | aaa | cca | gac | cua | uca  | aaa | gcu | gga | gcu | uuc  | ggc | cac | cag | ucc  | 3343 |  |
| Thr | Val | Lys | Pro | Asp | Leu | Ser  | Lys | Ala | Gly | Ala | Phe  | Gly | His | Gln | Ser  |      |  |
|     |     |     | 855 |     |     |      |     | 860 |     |     |      |     |     | 865 |      |      |  |
| gga | gcu | guu | uau | gug | ggg | acc  | uac | aga | gug | gug | aau  | agg | cac | cuc | gcc  | 3391 |  |
| Gly | Ala | Val | Tyr | Val | Gly | Asn  | Tyr | Arg | Val | Val | Asn  | Arg | His | Leu | Ala  |      |  |
|     |     | 870 |     |     |     |      | 875 |     |     |     |      | 880 |     |     |      |      |  |
| acg | cac | aac | gac | ugg | caa | acc  | ugu | gug | agg | gaa | gac  | uac | aac | aga | gac  | 3439 |  |
| Thr | His | Asn | Asp | Trp | Gln | Asn  | Cys | Val | Trp | Glu | Asp  | Tyr | Asn | Arg | Asp  |      |  |
|     |     |     |     |     |     |      | 890 |     |     |     |      | 895 |     |     |      |      |  |
| cuc | uuu | gug | agc | acc | acc | aca  | gcc | cau | ggg | ugu | gac  | acc | aus | gcc | aga  | 3487 |  |
| Leu | Leu | Val | Ser | Thr | Thr | Thr  | Ala | His | Gly | Cys | Asp  | Thr | Ile | Ala | Arg  |      |  |
| 900 |     |     |     |     |     | 905  |     |     |     | 910 |      |     |     |     | 915  |      |  |
| ugc | cag | ugc | acc | acc | ggc | gug  | uac | uuu | ugu | gcc | uca  | agg | aac | aaa | cac  | 3535 |  |
| Cys | Gln | Cys | Thr | Thr | Gly | Val  | Tyr | Phe | Cys | Ala | Ser  | Arg | Asn | Lys | His  |      |  |
|     |     |     |     | 920 |     |      |     |     |     | 925 |      |     |     |     | 930  |      |  |
| uac | ccc | guc | acc | uuu | gag | ggg  | ccc | ggc | cug | gug | gaa  | guu | cag | gag | agu  | 3583 |  |
| Tyr | Pro | Val | Thr | Phe | Glu | Gly  | Pro | Gly | Leu | Val | Glu  | Val | Glu | Glu | Ser  |      |  |
|     |     |     |     | 935 |     |      |     | 940 |     |     |      |     |     |     | 945  |      |  |
| gag | uac | uac | cca | aaa | aga | uac  | caa | ucc | cau | gug | cua  | cua | gcu | gca | gga  | 3631 |  |
| Glu | Tyr | Tyr | Pro | Lys | Arg | Tyr  | Gln | Ser | His | Val | Leu  | Leu | Ala | Ala | Gly  |      |  |
|     |     | 950 |     |     |     |      | 955 |     |     |     |      |     |     |     | 960  |      |  |
| uuu | ucc | gaa | cca | ggc | geu | ugu  | ggg | gga | auc | cuc | agg  | ugu | gaa | cau | ggg  | 3679 |  |
| Phe | Ser | Glu | Pro | Gly | Asp | Cys  | Gly | Gly | Ile | Leu | Arg  | Cys | Glu | His | Gly  |      |  |
|     |     | 965 |     |     |     | 970  |     |     |     |     |      | 975 |     |     |      |      |  |
| guc | auc | ggg | auc | guc | acc | agc  | ggg | gga | gag | ggg | guc  | guu | ggg | uuu | gcc  | 3727 |  |
| Val | Ile | Gly | Ile | Val | Thr | Met  | Gly | Gly | Glu | Gly | Val  | Val | Gly | Phe | Ala  |      |  |
|     |     |     |     |     |     | 985  |     |     |     |     | 990  |     |     |     | 995  |      |  |
| gac | guc | cga | gac | cua | cug | ugg  | uua | gag | gcu | gcu | gac  | aug | gaa | cag | ggc  | 3775 |  |
| Asp | Val | Arg | Asp | Leu | Leu | Trp  | Leu | Glu | Asp | Asp | Ala  | Met | Glu | Gln | Gly  |      |  |
|     |     |     |     |     |     | 1000 |     |     |     |     | 1005 |     |     |     | 1010 |      |  |
| guc | aga | gac | uau | guu | gaa | caa  | cua | gga | aac | gcu | uuu  | ggc | uca | ggg | uuc  | 3823 |  |
| Val | Arg | Asp | Tyr | Val | Glu | Gln  | Leu | Gly | Asn | Ala | Phe  | Gly | Ser | Gly | Phe  |      |  |

# MD 4480 C1 2017.12.31

41

|  | 1015   | 1020 | 1025 |      |
|--|--|------|------|------|
|  | acc acc caa auu ugu gaa caa guc aac cuc cuc aaa gag uca cug guu<br>Thr Asn Gln Ile Cys Glu Gln Val Asn Leu Leu Lys Gln Ser Leu Val<br>1030 | 1035 | 1040 | 3871 |
|  | gga cag gac ucc auu cug gag aaa ucc cuu aaa gcc cua guu aag auu<br>Gly Gln Asp Ser Ile Leu Gln Lys Ser Leu Lys Ala Leu Val Lys Ile<br>1045 | 1050 | 1055 | 3919 |
|  | auc ucc gca cug guc auu gaa gag aga aau cac gau gac cuc auc aca<br>Ile Ser Ala Leu Val Ile Val Val Arg Asn His Asp Asp Leu Ile Thr<br>1060 | 1065 | 1070 | 3967 |
|  | gug acn gcc ecn caa gcc cuc auu ggu agc acc acn ucu caa ugg cgg<br>Val Thr Ala Thr Leu Ala Leu Ile Gly Cys Thr Ser Ser Pro Trp Arg<br>1080 | 1085 | 1090 | 4015 |
|  | ugg cuc aca cag aca gug uca caa uau uau gga aua ccc aug gcu gag<br>Trp Leu Lys Gln Lys Val Ser Gln Tyr Tyr Gly Ile Pro Met Ala Gln<br>1095 | 1100 | 1105 | 4063 |
|  | cga caa aac aau gcc ugg cuc aag aag ucc acn gag aug acc aau gcc<br>Arg Gln Asn Asn Gly Trp Leu Lys Lys Phe Thr Gln Met Thr Asn Ala<br>1110 | 1115 | 1120 | 4111 |
|  | ugc aag gcc aag gag ugg auu gcc aac aaa auu caa aca uuu auu gag<br>Cys Lys Gly Met Glu Trp Ile Ala Ile Lys Ile Gln Lys Phe Ile Gln<br>1125 | 1130 | 1135 | 4159 |
|  | ugg cuu aca guc aag auu uac cag aag ugu agg aca aac aug agu ucc<br>Trp Leu Lys Val Lys Ile Tyr Gln Lys Cys Arg Lys Asn Met Ser Ser<br>1140 | 1145 | 1150 | 4207 |
|  | uca acc gac uau aac aac uac cac ucu ugg aag agu cag auu gcc acc<br>Ser Thr Asp Tyr Asn Asn Tyr His Ser Trp Lys Ser Gln Ile Ala Thr<br>1160 | 1165 | 1170 | 4255 |
|  | aua gaa caa agu gca cca ucy cag agu gac cag gag caa cug uuu ucc<br>Ile Gln Gln Ser Ala Pro Ser Gln Ser Asp Gln Gln Gln Leu Phe Ser<br>1175 | 1180 | 1185 | 4303 |
|  | aau guc cag uac uuc gcc cac uau ugc aga aag uau gcg caa cug uau<br>Asn Val Gln Tyr Phe Ala His Tyr Cys Arg Lys Tyr Ala Pro Leu Tyr<br>1190 | 1195 | 1200 | 4351 |
|  | gca gcu gag gca aag aga gug uuc ucc cuc gag aag aca aag agc aau<br>Ala Ala Gln Ala Lys Arg Val Phe Ser Leu Gln Lys Lys Met Ser Asn<br>1205 | 1210 | 1215 | 4399 |
|  | uac aua cag ucc aag ucc aca ugc ugu auu gag ccc gaa ugu uug cuc<br>Tyr Ile Gln Phe Lys Ser Lys Cys Arg Ile Gln Pro Val Cys Leu Leu<br>1220 | 1225 | 1230 | 4447 |
|  | aua cau gcc agc caa ggg gcc gga aaa ucc gug gcc acc aac cug auu<br>Asn His Gly Ser Pro Gly Ala Gly Lys Ser Val Ala Thr Asn Leu Ile<br>1240 | 1245 | 1250 | 4495 |

# MD 4480 C1 2017.12.31

42

|      |     |     |      |      |      |      |      |     |      |     |     |      |      |      |      |      |
|------|-----|-----|------|------|------|------|------|-----|------|-----|-----|------|------|------|------|------|
| ggc  | ags | ucc | cuc  | gcu  | gaa  | aaa  | cuc  | aac | agc  | uca | gug | uac  | ucc  | cua  | cca  | 4543 |
| Gly  | Arg | Ser | Leu  | Ala  | Glu  | Lys  | Leu  | Asn | Ser  | Ser | Val | Tyr  | Ser  | Leu  | Pro  |      |
|      |     |     | 1255 |      |      |      | 1260 |     |      |     |     |      | 1265 |      |      |      |
|      |     |     |      |      |      |      |      |     |      |     |     |      |      |      |      |      |
| cca  | gac | cca | gau  | cac  | uuu  | gcu  | ggc  | uuc | aaa  | cag | caa | gcu  | guc  | gug  | acc  | 4591 |
| Pro  | Asp | Pro | Asp  | His  | Phe  | Asp  | Gly  | Tyr | Lys  | Gln | Gln | Ala  | Val  | Val  | Ile  |      |
|      |     |     | 1270 |      |      |      | 1275 |     |      |     |     |      | 1280 |      |      |      |
|      |     |     |      |      |      |      |      |     |      |     |     |      |      |      |      |      |
| aug  | gau | gau | cua  | ugc  | caa  | aau  | ccu  | gcu | gga  | aaa | gau | gug  | cca  | aug  | uuc  | 4639 |
| Met  | Asp | Asp | Leu  | Cys  | Gln  | Asn  | Pro  | Asp | Gly  | Lys | Asp | Val  | Ser  | Leu  | Phe  |      |
|      |     |     | 1285 |      |      | 1290 |      |     |      |     |     | 1295 |      |      |      |      |
|      |     |     |      |      |      |      |      |     |      |     |     |      |      |      |      |      |
| ugu  | caa | aug | guu  | ucc  | agu  | gug  | gac  | uuu | gua  | cca | ccg | aug  | gcu  | gag  | cua  | 4687 |
| Cys  | Gln | Met | Val  | Ser  | Ser  | Val  | Asp  | Phe | Val  | Pro | Pro | Met  | Ala  | Ala  | Leu  |      |
| 1300 |     |     |      |      | 1305 |      |      |     | 1310 |     |     |      |      |      | 1315 |      |
|      |     |     |      |      |      |      |      |     |      |     |     |      |      |      |      |      |
| gag  | gag | aaa | ggc  | acu  | cuq  | uuc  | acc  | ucc | ccg  | uuu | guc | cug  | gca  | uca  | acc  | 4735 |
| Glu  | Glu | Lys | Gly  | Ile  | Leu  | Phe  | Thr  | Ser | Pro  | Phe | Val | Leu  | Ala  | Ser  | Thr  |      |
|      |     |     | 1320 |      |      |      |      |     | 1325 |     |     |      |      | 1330 |      |      |
|      |     |     |      |      |      |      |      |     |      |     |     |      |      |      |      |      |
| aau  | gcu | ggg | ucc  | auc  | aau  | gca  | cca  | acu | gug  | uca | gac | agc  | aga  | gcc  | cuc  | 4783 |
| Asn  | Ala | Gly | Ser  | Ile  | Asn  | Ala  | Pro  | Thr | Val  | Ser | Asp | Ser  | Arg  | Ala  | Leu  |      |
|      |     |     | 1335 |      |      |      | 1340 |     |      |     |     |      |      | 1345 |      |      |
|      |     |     |      |      |      |      |      |     |      |     |     |      |      |      |      |      |
| gcu  | agg | age | uuc  | cac  | uuu  | gac  | aug  | aac | auu  | gaa | guc | auu  | ucc  | aug  | uac  | 4831 |
| Ala  | Arg | Arg | Phe  | His  | Phe  | Asp  | Met  | Asn | Ile  | Gln | Val | Ile  | Ser  | Met  | Tyr  |      |
|      |     |     | 1350 |      |      |      | 1355 |     |      |     |     |      | 1360 |      |      |      |
|      |     |     |      |      |      |      |      |     |      |     |     |      |      |      |      |      |
| agu  | caa | aau | ggc  | aag  | auc  | aac  | aug  | ccc | aug  | uca | guu | aag  | acg  | ugu  | gau  | 4879 |
| Ser  | Gln | Asn | Gly  | Lys  | Ile  | Asn  | Met  | Pro | Met  | Ser | Val | Lys  | Thr  | Cys  | Asp  |      |
|      |     |     | 1365 |      |      | 1370 |      |     |      |     |     | 1375 |      |      |      |      |
|      |     |     |      |      |      |      |      |     |      |     |     |      |      |      |      |      |
| gaa  | gag | ugu | ugu  | cca  | guc  | aac  | uuc  | aag | agg  | ugc | ugc | ccg  | cug  | gug  | ugu  | 4927 |
| Glu  | Glu | Cys | Cys  | Pro  | Val  | Asn  | Phe  | Lys | Arg  | Cys | Cys | Pro  | Leu  | Val  | Cys  |      |
| 1380 |     |     |      |      | 1385 |      |      |     | 1390 |     |     |      |      |      | 1395 |      |
|      |     |     |      |      |      |      |      |     |      |     |     |      |      |      |      |      |
| gga  | eag | guc | aug  | caq  | uuc  | uuu  | guc  | aga | aga  | acu | caa | guu  | age  | uac  | ucg  | 4975 |
| Gly  | Lys | Ala | Met  | Gln  | Phe  | Ile  | Asp  | Arg | Arg  | Thr | Gln | Val  | Arg  | Tyr  | Ser  |      |
|      |     |     |      | 1400 |      |      |      |     | 1405 |     |     |      |      | 1410 |      |      |
|      |     |     |      |      |      |      |      |     |      |     |     |      |      |      |      |      |
| cug  | gac | aug | cua  | guu  | acu  | gag  | aug  | uuu | agg  | gag | uac | aac  | cac  | aga  | cac  | 5023 |
| Leu  | Asp | Met | Leu  | Val  | Thr  | Glu  | Met  | Phe | Arg  | Glu | Tyr | Asn  | His  | Arg  | His  |      |
|      |     |     |      | 1415 |      |      |      |     | 1420 |     |     |      |      | 1425 |      |      |
|      |     |     |      |      |      |      |      |     |      |     |     |      |      |      |      |      |
| agu  | gug | gga | gcc  | acc  | uuu  | gag  | gcu  | cuq | uuc  | caa | ggg | cca  | cca  | guc  | uac  | 5071 |
| Ser  | Val | Gly | Ala  | Thr  | Leu  | Glu  | Ala  | Leu | Phe  | Gln | Gly | Pro  | Pro  | Val  | Tyr  |      |
|      |     |     | 1430 |      |      |      | 1435 |     |      |     |     |      |      | 1440 |      |      |
|      |     |     |      |      |      |      |      |     |      |     |     |      |      |      |      |      |
| age  | gag | auc | aaa  | auu  | agu  | guc  | gca  | cca | gag  | aca | cca | cca  | cca  | cca  | gcu  | 5119 |
| Arg  | Glu | Ile | Lys  | Ile  | Ser  | Val  | Ala  | Pro | Glu  | Thr | Pro | Pro  | Pro  | Pro  | Ala  |      |
|      |     |     | 1445 |      |      |      | 1450 |     |      |     |     |      |      | 1455 |      |      |
|      |     |     |      |      |      |      |      |     |      |     |     |      |      |      |      |      |
| auu  | gcu | gac | uuu  | cug  | aaa  | uca  | gug  | gac | agu  | gaa | gcu | gug  | aga  | gag  | uac  | 5167 |
| Ile  | Ala | Asp | Leu  | Leu  | Lys  | Ser  | Val  | Asp | Ser  | Glu | Ala | Val  | Arg  | Glu  | Tyr  |      |
| 1460 |     |     |      |      | 1465 |      |      |     |      |     |     |      |      |      | 1475 |      |

# MD 4480 C1 2017.12.31

43

|         |         |         |         |         |         |         |         |      |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|------|
| ugc aas | gaa aag | gga ugg | cuu gug | cca gag | auc aac | ccc acc | cua caa | 5215 |
| Cys Lys | Glu Lys | Gly Trp | Leu Val | Pro Glu | Ile Asn | Ser Thr | Leu Gln |      |
|         | 1480    |         |         | 1485    |         |         | 1490    |      |
|         |         |         |         |         |         |         |         |      |
| auu gag | aag cau | gug agc | ggg gca | uuc auc | ugu aug | aug caa | gaa caa | 5263 |
| Ile Gln | Lys His | Val Ser | Arg Ala | Phe Ile | Cys Leu | Gln Ala | Leu Thr |      |
|         | 1495    |         |         | 1500    |         |         | 1505    |      |
|         |         |         |         |         |         |         |         |      |
| acg uuu | guu uca | gou gou | gga aua | aus uac | aus auc | uac aag | cua uuu | 5311 |
| Thr Phe | Val Ser | Val Ala | Gly Ile | Ile Tyr | Ile Ile | Tyr Lys | Leu Phe |      |
|         | 1510    |         | 1515    |         |         | 1520    |         |      |
|         |         |         |         |         |         |         |         |      |
| gca ggu | uuc caa | ggc gca | uac aca | ggg aug | ccc aac | cag aaa | ccc aag | 5359 |
| Ala Gly | Phe Gln | Gly Ala | Tyr Thr | Gly Met | Pro Asn | Gln Lys | Pro Lys |      |
|         | 1525    |         | 1530    |         |         | 1535    |         |      |
|         |         |         |         |         |         |         |         |      |
| gug ccc | acc aug | aga caa | gac aaa | gug caa | ggc cca | ggg uuu | gag uuu | 5407 |
| Val Pro | Thr Leu | Arg Gln | Ala Lys | Val Gln | Gly Pro | Ala Phe | Glu Phe |      |
| 1540    |         | 1545    |         |         | 1550    |         | 1555    |      |
|         |         |         |         |         |         |         |         |      |
| gou gug | ggg aug | aug aag | agg aac | ucc aca | gug aca | acc gag | uac uac | 5455 |
| Ala Val | Ala Met | Met Lys | Arg Asn | Ser Ser | Thr Val | Lys Thr | Glu Tyr |      |
|         |         | 1560    |         |         | 1565    |         | 1570    |      |
|         |         |         |         |         |         |         |         |      |
| ggc gag | uuc acc | aug cuu | ggc auu | uau gac | agg aug | ugg ggc | gug uua | 5503 |
| Gly Glu | Phe Thr | Met Leu | Gly Ile | Tyr Asp | Arg Arg | Trp Ala | Val Leu | Pro  |
|         | 1575    |         |         | 1580    |         |         | 1585    |      |
|         |         |         |         |         |         |         |         |      |
| ggc cac | goc aca | ccu ggc | cca acc | auc aug | aug aau | gac cag | gaa gac | 5551 |
| Arg His | Ala Lys | Pro Gly | Pro Thr | Ile Leu | Met Asn | Asp Gln | Glu Val |      |
|         | 1590    |         |         | 1595    |         | 1600    |         |      |
|         |         |         |         |         |         |         |         |      |
| ggc gug | aug gau | goc aag | gaa caa | gug gau | aag gaa | ggg aca | aac caa | 5599 |
| Gly Val | Leu Asp | Ala Lys | Glu Leu | Val Asp | Lys Asp | Gly Thr | Asn Leu |      |
|         | 1605    |         | 1610    |         |         | 1615    |         |      |
|         |         |         |         |         |         |         |         |      |
| gaa aug | aca cuc | aug aag | ccc aac | agu aau | gag aag | uuc aca | gac auc | 5647 |
| Glu Leu | Thr Leu | Leu Lys | Leu Asn | Ser Asn | Glu Lys | Phe Arg | Asp Ile |      |
| 1620    |         | 1625    |         |         | 1630    |         | 1635    |      |
|         |         |         |         |         |         |         |         |      |
| aga ggg | uuc caa | goc aac | gaa gag | guc gag | gug aau | gaa gcu | guc caa | 5695 |
| Arg Gly | Phe Leu | Ala Lys | Glu Glu | Val Glu | Val Asn | Glu Ala | Val Leu |      |
|         |         | 1640    |         |         | 1645    |         | 1650    |      |
|         |         |         |         |         |         |         |         |      |
| gca aua | aac aca | agc aag | uuc ccc | aac aug | uac aua | cca gug | ggc cag | 5743 |
| Ala Ile | Asn Thr | Ser Lys | Phe Pro | Asn Met | Tyr Ile | Pro Val | Gly Gln |      |
|         | 1655    |         |         | 1660    |         | 1665    |         |      |
|         |         |         |         |         |         |         |         |      |
| gug aac | gac uac | ggg uuc | aug aac | aug ggu | ggg acg | ccc acu | aag aga | 5791 |
| Val Thr | Asp Tyr | Gly Phe | Leu Asn | Leu Gly | Gly Gly | Thr Pro | Thr Lys | Arg  |
|         | 1670    |         |         | 1675    |         | 1680    |         |      |
|         |         |         |         |         |         |         |         |      |
| aug cuc | aug uac | aac uuc | ccc acu | aga gca | ggc cag | ugu ggu | ggu guc | 5839 |
| Met Leu | Met Tyr | Asn Phe | Pro Thr | Arg Ala | Gly Gln | Cys Gly | Gly Val |      |
|         | 1685    |         | 1690    |         |         | 1695    |         |      |
|         |         |         |         |         |         |         |         |      |
| cuc aug | ccc acu | ggg aac | guc aug | ggg aca | caa guu | ggu ggg | aau ggu | 5887 |

# MD 4480 C1 2017.12.31

44

|      |     |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|------|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Leu  | Met | Ser  | Thr  | Gly  | Lys  | Val  | Leu  | Gly  | Ile  | His  | Val  | Gly  | Gly  | Asn  | Gly  |      |
| 1700 |     |      |      |      | 1705 |      |      |      |      | 1710 |      |      |      |      | 1715 |      |
| cau  | caa | ggg  | uuc  | uca  | gca  | gca  | ccc  | ccc  | aag  | cac  | uac  | uuc  | aac  | gau  | gaa  | 5935 |
| His  | Gln | Gly  | Phe  | Ser  | Ala  | Ala  | Leu  | Leu  | Lys  | His  | Tyr  | Phe  | Asn  | Asp  | Glu  |      |
|      |     |      |      | 1720 |      |      |      |      | 1725 |      |      |      |      | 1730 |      |      |
| caa  | ggg | gaa  | aua  | gag  | uuc  | aua  | gag  | agc  | uca  | aag  | gac  | gcg  | ggg  | uuc  | ccu  | 5983 |
| Gln  | Gly | Glu  | Ile  | Glu  | Phe  | Ile  | Glu  | Ser  | Ser  | Lys  | Asp  | Ala  | Gly  | Phe  | Pro  |      |
|      |     |      | 1735 |      |      |      | 1740 |      |      |      |      |      | 1745 |      |      |      |
| auc  | auc | aac  | aca  | ccc  | agc  | aag  | acc  | aaa  | cug  | gaa  | cca  | agu  | guc  | uuc  | cac  | 6031 |
| Ile  | Ile | Asn  | Thr  | Pro  | Ser  | Lys  | Thr  | Lys  | Leu  | Glu  | Pro  | Ser  | Val  | Phe  | His  |      |
|      |     | 1750 |      |      |      | 1755 |      |      |      |      |      | 1760 |      |      |      |      |
| cag  | ugg | uug  | aag  | gca  | aca  | aag  | aac  | cca  | gca  | guc  | cuc  | aga  | aau  | ggg  | gau  | 6079 |
| Gln  | Cys | Leu  | Lys  | Ala  | Thr  | Lys  | Asn  | Pro  | Ala  | Val  | Leu  | Arg  | Asn  | Gly  | Asp  |      |
|      |     | 1765 |      |      |      | 1770 |      |      |      |      | 1775 |      |      |      |      |      |
| cca  | cga | cuc  | aaa  | gcc  | aac  | uuu  | gag  | gag  | gcc  | auc  | uuc  | ucc  | aaa  | uac  | auu  | 6127 |
| Pro  | Arg | Leu  | Lys  | Ala  | Asn  | Phe  | Glu  | Glu  | Ala  | Ile  | Phe  | Ser  | Lys  | Tyr  | Ile  |      |
| 1780 |     |      |      | 1785 |      |      |      |      | 1790 |      |      |      |      |      | 1795 |      |
| ggc  | aau | guc  | aac  | acg  | ccu  | gug  | geu  | geg  | acc  | aug  | uug  | gaa  | gcu  | gug  | gac  | 6127 |
| Gly  | Asn | Val  | Asn  | Thr  | His  | Val  | Asp  | Glu  | Tyr  | Met  | Leu  | Glu  | Ala  | Val  | Asp  |      |
|      |     |      | 1800 |      |      |      |      | 1805 |      |      |      |      | 1810 |      |      |      |
| cau  | cau | gca  | gga  | caa  | cug  | gcu  | acu  | cug  | gac  | auc  | agc  | acg  | gaa  | cca  | aug  | 6175 |
| His  | Tyr | Ala  | Gly  | Gln  | Leu  | Ala  | Thr  | Leu  | Asp  | Ile  | Ser  | Thr  | Glu  | Pro  | Met  |      |
|      |     | 1815 |      |      |      |      | 1820 |      |      |      |      |      | 1825 |      |      |      |
| aag  | cug | gag  | gau  | gcc  | gug  | uau  | ggg  | aca  | gag  | ggg  | cug  | gaa  | gca  | cua  | gac  | 6223 |
| Lys  | Leu | Glu  | Asp  | Ala  | Val  | Tyr  | Gly  | Thr  | Glu  | Gly  | Leu  | Glu  | Ala  | Leu  | Asp  |      |
|      |     | 1830 |      |      |      | 1835 |      |      |      |      | 1840 |      |      |      |      |      |
| cuu  | aca | acc  | agu  | gca  | ggc  | uac  | ccu  | uau  | guc  | gcc  | cug  | ggc  | auc  | aag  | aag  | 6271 |
| Leu  | Thr | Thr  | Ser  | Ala  | Gly  | Tyr  | Pro  | Tyr  | Val  | Ala  | Leu  | Gly  | Ile  | Lys  | Lys  |      |
|      |     | 1845 |      |      | 1850 |      |      |      |      |      | 1855 |      |      |      |      |      |
| aga  | gac | aac  | cua  | ucu  | aag  | aag  | acc  | agg  | gac  | cuc  | aca  | aag  | uug  | aaa  | gaa  | 6319 |
| Arg  | Asp | Ile  | Leu  | Ser  | Lys  | Lys  | Thr  | Arg  | Asp  | Leu  | Thr  | Lys  | Leu  | Lys  | Glu  |      |
| 1860 |     |      |      | 1865 |      |      |      |      | 1870 |      |      |      |      | 1875 |      |      |
| ugc  | aug | gac  | aag  | uau  | ggc  | cua  | aac  | cug  | cca  | aug  | gaa  | acc  | uuu  | gug  | aaa  | 6415 |
| Cys  | Met | Asp  | Lys  | Tyr  | Gly  | Leu  | Asn  | Leu  | Pro  | Met  | Val  | Thr  | Tyr  | Val  | Lys  |      |
|      |     |      | 1880 |      |      |      |      | 1885 |      |      |      |      | 1890 |      |      |      |
| gau  | gag | cuc  | aga  | ucu  | gca  | gag  | aag  | ggg  | gcc  | aaa  | gga  | aaa  | ucc  | agg  | cuu  | 6463 |
| Asp  | Glu | Leu  | Arg  | Ser  | Ala  | Gln  | Lys  | Val  | Ala  | Lys  | Gly  | Lys  | Ser  | Arg  | Leu  |      |
|      |     | 1895 |      |      |      | 1900 |      |      |      |      |      |      | 1905 |      |      |      |
| auu  | gaa | gcu  | ucc  | agu  | uug  | auu  | gac  | uca  | gug  | gca  | aug  | aga  | cag  | aca  | uuu  | 6511 |
| Ile  | Glu | Ala  | Ser  | Ser  | Leu  | Asn  | Asp  | Ser  | Val  | Ala  | Met  | Arg  | Gln  | Thr  | Phe  |      |
|      |     | 1910 |      |      |      | 1915 |      |      |      |      | 1920 |      |      |      |      |      |
| gga  | aac | cug  | uac  | aaa  | acc  | uuc  | cac  | cuc  | aac  | cca  | ggc  | uuu  | gug  | acg  | ggc  | 6559 |
| Gly  | Asn | Leu  | Tyr  | Lys  | Thr  | Phe  | His  | Leu  | Asn  | Pro  | Gly  | Ile  | Val  | Thr  | Gly  |      |

# MD 4480 C1 2017.12.31

| 1925   | 1930 | 1935 |              |
|--|------|------|--------------|
| agu gca guu ggg ugu gac cca gau cug uuu ugg agc eag eua cca guc<br>Ser Ala Val Gly Cys Asp Pro Asp Leu Phe Trp Ser Lys Ile Pro Val<br>1940 | 1945 | 1950 | 6607<br>1955 |
| aug uug gau gga cau cuc aua gcu uuu gau uac uca ggc cau gau gcu<br>Met Leu Asp Gly His Leu Ile Ala Phe Asp Tyr Ser Gly Tyr Asp Ala<br>1960 | 1965 | 1970 | 6655         |
| agc cuc agc cca gug ugg uuu gca ugu cug aaa cug cuc eua gag aag<br>Ser Leu Ser Pro Val Trp Phe Ala Cys Leu Lys Leu Leu Leu Glu Lys<br>1975 | 1980 | 1985 | 6703         |
| cua ggg uac eca cac eeg gaa eca eec eac aua gau uac cuc ugc aac<br>Leu Gly Tyr Thr His Lys Glu Thr Asn Tyr Ile Asp Tyr Leu Cys Asn<br>1990 | 1995 | 2000 | 6751         |
| ucc cac cac cug uac aga gac aaa eac uuc uuu gug ega ggu ggu aug<br>Ser His His Leu Tyr Arg Asp Lys His Tyr Phe Val Arg Gly Gly Met<br>2005 | 2010 | 2015 | 6799         |
| cca uca ggg ugu ucu ggc acc agc aac uuu aac uca aug auu aac aac<br>Pro Ser Gly Cys Ser Gly Thr Ser Ile Phe Asn Ser Met Ile Asn Asn<br>2020 | 2025 | 2030 | 6847<br>2035 |
| auc aua auc agg aca cuc aug cug aas gug uac eag ggc eua gac uug<br>Ile Ile Ile Arg Thr Leu Met Leu Lys Val Tyr Lys Gly Ile Asp Leu<br>2040 | 2045 | 2050 | 6895         |
| gac caa uuc agg aua auu gcc uau ggu gau gau gug auu gcu ucc uac<br>Asp Gln Phe Arg Ile Ile Ala Tyr Gly Asp Asp Val Ile Ala Ser Tyr<br>2055 | 2060 | 2065 | 6943         |
| cug ugg ccc auu gau gcu ucc cug eua gcu gaa gca gga eaa gau uau<br>Pro Trp Pro Ile Asp Ala Ser Leu Leu Ala Glu Ala Gly Lys Asp Tyr<br>2070 | 2075 | 2080 | 6991         |
| ggu uug auc aug eca cca gca gau aaa gga gag agc uuc auu gaa guc<br>Gly Leu Ile Met Thr Pro Ala Asp Lys Gly Glu Cys Phe Asn Glu Val<br>2085 | 2090 | 2095 | 7039         |
| eac ugg agc eaa guc acc uuc cug aaa agg uac uuu age gac gau gag<br>Asn Trp Thr Asn Val Thr Phe Leu Lys Arg Tyr Phe Arg Ala Asp Glu<br>2100 | 2105 | 2110 | 7087<br>2115 |
| caa uac cca uuc cug guc cac ccu guu aug ccc aug eaa gac auc cau<br>Gln Tyr Pro Phe Leu Val His Pro Val Met Pro Met Lys Asp Ile His<br>2120 | 2125 | 2130 | 7135         |
| gaa ucu auu aga ugg acc aas gau cca aag aac acc caa gau cau gug<br>Glu Ser Ile Arg Trp Thr Lys Asp Pro Lys Asn Thr Gln Asp His Val<br>2135 | 2140 | 2145 | 7183         |
| agc uug cug ugc eua uug gcu ugg cac aau ggg gag cac gaa uau gag<br>Arg Ser Leu Cys Leu Leu Ala Trp His Asn Gly Glu His Glu Tyr Glu<br>2150 | 2155 | 2160 | 7231         |

# MD 4480 C1 2017.12.31

46

```

gag uuc auu cgc aaa auc aga aaq cgu gcc agu ugg acg cug uuu gac 7279
Glu Phe Ile Arg Lys Ile Arg Lys Arg Ala Ser Trp Thr Leu Phe Asp
2165                2170                2175

ccu acc ugc guu uuc aac ccu gcc cag gaa gug guu gga cuc cuu uaa 7327
Pro Thr Cys Val Phe Asn Pro Ala Gln Glu Val Val Gly Leu Leu Leu
2180                2185                2190                2195

aaa uaa agcacaaauu aguaaaauug aaauugguua acccuacagc acuaaccgaa 7383
lys

cuagauaacg guggcguagc gguaaaauuu ccgcauucgg ugcggucagc g 7434

```

```

<210>      3
<211>      7427
<212>      ARN
<213>      Enterovirus sp. Echo 7

<220>
<221> CDS
<222> (743)-(7327)
<223>      Virus modificat după reproducere timp de 12 luni

<400>      3

```

```

uuuuuacagc cugugggguug uuuuuuuuuu cagggccccc uggggcgcuaq 50
cacacuggna ucacgguaacc cuugugcggc aguuuuuuuu uuuuuuuuuu 100
acuguaauuu agaaqaauga cauaaaaggu caacagauag cucaguacaa 150
caacugagcc ccgaccaaagc acuuuuuuuu ccccgagccg aguaacaaua 200
ggcugcucgc gcccugaaag gugaaaaauu ucuuuuuuuu gcuuuuuuuu 250
uugagaaacc uaguaccacc augaagguug ccgagcguuu cgcuuuuuuu 300
aauuuuuuuu uagauuaggu cgaagaguuu ccgcauuuuu caagggcgac 350
cugggcggug gcugcgcugc cggccuuuuu auuuuuuuuu ccauuuuuuu 400
uuuuuuuuuu gacauugugc gaagaguuuu uugaguuuuu ugguaaguuu 450
ccggccuuuu aaugcgguaa auuuuuuuuu cggggcaagu gcccacaaac 500
cagugggugc cuugcguuaa cggguuuuuu ugcagcggaa ccgacuuuuu 550
uggguguuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu cuugcguuuu auuuuuuuuu 600
uugagaguuu guugcuaauu agcuuuuuuu uuggcuuuuu gguuaguuuu 650
agagcuauuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu auuuuuuuuu auuuuuuuuu 700

```



# MD 4480 C1 2017.12.31

48

|   |                          |  |
|---|--------------------------|--|
| Ala Met Asn Leu Thr Lys Gly Glu Thr Ala His Lys Phe Glu Pro Thr | 215<br>220<br>225        |  |
| aaa acc aca ggc ggc cac aca gug caa ucc aua gug ugc aac gcg ggu | 1471                     |  |
| Lys Thr Thr Gly Gly His Thr Val Gln Ser Ile Val Cys Asn Ala Gly | 230<br>235<br>240        |  |
| aug ggc aac ggc gug ggg aac uac acc aac uac cuu cac cag ugg aac | 1519                     |  |
| Met Gly Ile Gly Val Gly Asn Leu Thr Ile Tyr Pro His Gln Trp Ile | 245<br>250<br>255        |  |
| aac uug cgc acU aaU aac ugc gcc aca aua gug aug ccg uau eua aau | 1567                     |  |
| Asn Leu Arg Thr Asn Asn Cys Ala Thr Ile Val Met Pro Tyr Ile Asn | 260<br>265<br>270<br>275 |  |
| uca gaa ccc aug gau aac aug uuu agg cac uac aau uuc aag cua aug | 1615                     |  |
| Ser Val Pro Met Asp Asn Met Phe Arg His Tyr Asn Phe Thr Leu Met | 280<br>285<br>290        |  |
| gug aac cca uuu gca ccc cug gau uac aau gcc caa gca ucu gag uac | 1663                     |  |
| Val Ile Pro Phe Ala Pro Leu Asp Tyr Asn Ala Gln Ala Ser Glu Tyr | 295<br>300<br>305        |  |
| gua ccu gaa ecu gcc eca aua gcc cca aug agu gca gaa uac aau ggu | 1711                     |  |
| Val Pro Val Thr Val Thr Ile Ala Pro Met Cys Ala Glu Tyr Asn Gly | 310<br>315<br>320        |  |
| uur agg cug gcc uac cag caa ggg cug cca gug cua aau aca ccg gga | 1759                     |  |
| Leu Arg Leu Ala Tyr Gln Gln Gly Leu Pro Val Leu Asn Thr Pro Gly | 325<br>330<br>335        |  |
| agc aau cag uuu aag aca ucg gau gau uuu caa ucc ccu ucg gcc aag | 1807                     |  |
| Ser Asn Gln Phe Met Thr Ser Asp Asp Phe Gln Ser Pro Ser Ala Met | 340<br>345<br>350<br>355 |  |
| cca cca uuu gau gag acu ccg cac aag gac aac cca ggu gaa gug cac | 1855                     |  |
| Pro Gln Phe Asp Val Thr Pro His Met Asp Ile Pro Gly Glu Val His | 360<br>365<br>370        |  |
| aac cuc aag gag aau gca gaa guu gau ucg gug gaa ccu guu aac aac | 1903                     |  |
| Asn Leu Met Glu Ile Ala Glu Val Asp Ser Val Val Pro Val Asn Asn | 375<br>380<br>385        |  |
| ecu gcg gcc eaa cug cea agc aug gcc gca uau cac aua gag gug aac | 1951                     |  |
| Thr Ala Ala Asn Leu Gln Ser Met Asp Ala Tyr His Ile Glu Val Asn | 390<br>395<br>400        |  |
| gca gga aau cac caa ggu gaa aag aca ucc gcc uuc cag aua caa ccc | 1999                     |  |
| Ala Gly Asn His Gln Gly Gln Lys Ile Phe Ala Phe Gln Ile Gln Pro | 405<br>410<br>415        |  |
| ggg cug gau uca gug uuu aag aga aca cug cua ggu gaa gug cuc aau | 2047                     |  |
| Gly Leu Asp Ser Val Phe Lys Arg Thr Leu Leu Gly Glu Val Leu Asn | 420<br>425<br>430<br>435 |  |
| uuu uac gcg cac ugg uca ggg agc aau aag cua eca uuc eca uuu ugu | 2095                     |  |
| Tyr Tyr Ala His Trp Ser Gly Ser Ile Lys Leu Thr Phe Thr Phe Cys |                          |  |

# MD 4480 C1 2017.12.31

49

|   | 440 |     | 445 |     | 450 |     |      |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| ggv ucc gcc acg gcc acg ggc aag cua cuc uua gca uac ucc cca ccu |     |     |     |     |     |     | 2143 |
| Gly Ser Ala Met Ala Thr Gly Lys Leu Leu Leu Ala Tyr Ser Pro Pro | 455 |     | 460 |     | 465 |     |      |
| ggc gcc gac gaa ccg gcc agc aga aag cag gca aug mug gga acc cau |     |     |     |     |     |     | 2191 |
| Gly Ala Asp Val Pro Ala Ser Arg Lys Gln Ala Met Xaa Gly Thr His | 470 |     | 475 |     | 480 |     |      |
| auc auc ugg gac uua ggg cug caa ucc aga ugc guu cua ugu suu cca |     |     |     |     |     |     | 2239 |
| Ile Ile Trp Asp Leu Gly Leu Gln Ser Ser Cys Val Leu Cys Ile Pro | 485 |     | 490 |     | 495 |     |      |
| ugg auc agu cag eca ccu ucu cgc cua gug caa cag guu gag uac acc |     |     |     |     |     |     | 2267 |
| Trp Ile Ser Gln Thr His Tyr Arg Leu Val Gln Gln Asp Glu Tyr Thr | 500 | 505 |     | 510 |     | 515 |      |
| agc gcc gcc aau guc acc ugc ugg uau cag aca ggu aua gug guu cca |     |     |     |     |     |     | 2335 |
| Ser Ala Gly Asn Val Thr Cys Trp Tyr Gln Thr Gly Ile Val Val Pro | 520 |     | 525 |     | 530 |     |      |
| ccc ggc aca ccc aac aag ugu guc guc cug ugc uuu gug uca gag ugu |     |     |     |     |     |     | 2383 |
| Pro Gly Thr Pro Asn Lys Cys Val Val Leu Cys Phe Val Ser Ala Cys | 535 |     | 540 |     | 545 |     |      |
| aau gac uuc ucc gag cgc aag cug ugu gac aca cca uuc auc ggc caa |     |     |     |     |     |     | 2431 |
| Asn Asp Phe Ser Val Arg Met Leu Arg Asp Thr Pro Phe Ile Gly Gln | 550 |     | 555 |     | 560 |     |      |
| aca aca cug cua caa ggu gau acg gac gug gcc guc aac aau gca gaa |     |     |     |     |     |     | 2479 |
| Thr Thr Leu Leu Gln Gly Asp Thr Asp Val Ala Val Asn Asn Ala Val | 565 |     | 570 |     | 575 |     |      |
| gcc agg gaa gcc gau aca aau gcc agu ggg ccc agc aac ucc acu agc |     |     |     |     |     |     | 2527 |
| Ala Arg Val Ala Asp Thr Ile Ala Ser Gly Pro Ser Asn Ser Thr Ser | 580 | 585 |     | 590 |     | 595 |      |
| auu ccu gca cua acc gca guu gag acu ggg cac aca uca cag gaa gag |     |     |     |     |     |     | 2575 |
| Ile Pro Ala Leu Thr Ala Val Glu Thr Gly His Thr Ser Gln Val Glu | 600 |     | 605 |     | 610 |     |      |
| ccu agu gau aca auq caa aca cgg ccu gaa aag aac uac cau ucg cga |     |     |     |     |     |     | 2623 |
| Pro Ser Asp Thr Met Gln Thr Arg His Val Lys Asn Tyr His Ser Arg | 615 |     | 620 |     | 625 |     |      |
| ucu gaa uca aca aca gag aac uuc cuu agc cgg ucg gcc ugu gaa uau |     |     |     |     |     |     | 2671 |
| Ser Glu Ser Thr Ile Glu Asn Phe Leu Ser Arg Ser Ala Cys Val Tyr | 630 |     | 635 |     | 640 |     |      |
| uuu gaa gaa uac usu acc aaa gau caa gac agc gcc aau agy uac aug |     |     |     |     |     |     | 2719 |
| Xaa Glu Xaa Tyr Phe Thr Lys Asp Gln Asp Ser Ala Asn Arg Tyr Met | 645 |     | 650 |     | 655 |     |      |
| uca ugg acu aua aau gcc aga agy aug gug caa uuq agy cga aag uuu |     |     |     |     |     |     | 2767 |
| Ser Trp Thr Ile Asn Ala Arg Arg Met Val Gln Leu Arg Arg Lys Phe | 660 | 665 |     | 670 |     | 675 |      |

# MD 4480 C1 2017.12.31

50

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| gaa | cug | uuc | aca | uac | aug | cgg | uuu | gau | aug | gag | auc | aca | uuu | guu | auc | 2815 |
| Glu | Leu | Phe | Thr | Tyr | Met | Arg | Phe | Asp | Met | Gln | Ile | Thr | Phe | Val | Ile |      |
|     |     |     |     | 680 |     |     |     |     | 685 |     |     |     |     | 690 |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| acu | agu | aga | caa | cug | ccu | ggg | acu | agc | auc | gog | caa | gac | aug | cog | cca | 2863 |
| Thr | Ser | Arg | Gln | Leu | Pro | Gly | Thr | Ser | Ile | Ala | Gln | Asp | Met | Pro | Pro |      |
|     |     |     | 695 |     |     |     |     |     | 700 |     |     |     |     | 705 |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| cug | aca | cac | caa | auc | aug | uau | aua | ccc | ccu | ggv | ggv | cca | rua | cca | aac | 2911 |
| Leu | Thr | His | Gln | Ile | Met | Tyr | Ile | Pro | Pro | Gly | Gly | Pro | Met | Pro | Asn |      |
|     |     | 710 |     |     |     |     | 715 |     |     |     |     | 720 |     |     |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| agu | gug | acc | gau | uuu | gca | ugg | caa | acu | ucg | acu | aau | cca | agu | auc | uuu | 2959 |
| Ser | Val | Thr | Asp | Phe | Ala | Trp | Gln | Thr | Ser | Thr | Asn | Pro | Ser | Ile | Phe |      |
|     | 725 |     |     |     |     | 730 |     |     |     |     | 735 |     |     |     |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| ugg | acu | gag | ggc | asu | gcc | ccc | ccg | cgu | aug | ucc | aua | cca | uuu | aua | agc | 3007 |
| Trp | Thr | Glu | Gly | Asn | Ala | Pro | Pro | Arg | Met | Ser | Ile | Pro | Phe | Ile | Ser |      |
| 740 |     |     |     | 745 |     |     |     |     |     | 750 |     |     |     | 755 |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| aua | ggg | aau | gca | uac | agc | aac | uuu | uau | gac | gga | ugg | ucg | cac | uuc | uca | 3055 |
| Ile | Gly | Asn | Ala | Tyr | Ser | Asn | Phe | Tyr | Asp | Gly | Trp | Ser | His | Phe | Ser |      |
|     |     |     | 760 |     |     |     |     |     | 765 |     |     |     |     | 770 |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| caa | aau | ggg | guc | uac | ggc | uac | aau | gca | uuu | aac | aac | aug | ggc | aaa | uuu | 3103 |
| Gln | Asn | Gly | Val | Tyr | Gly | Tyr | Asn | Ala | Leu | Asn | Asn | Met | Gly | Lys | Leu |      |
|     |     | 775 |     |     |     |     |     | 780 |     |     |     |     | 785 |     |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| uac | gca | cgc | cau | gug | aac | aaa | gac | aca | ccg | uac | cag | aug | uuc | agu | acg | 3151 |
| Tyr | Ala | Arg | His | Val | Asn | Lys | Asp | Thr | Pro | Tyr | Gln | Met | Ser | Ser | Thr |      |
|     |     | 790 |     |     |     |     | 795 |     |     |     |     | 800 |     |     |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| auu | cgu | gug | uac | uuu | aaa | ccc | aaa | cau | auc | aga | gug | ugg | gug | cca | aga | 3199 |
| Ile | Arg | Val | Tyr | Phe | Lys | Pro | Lys | His | Ile | Arg | Val | Trp | Val | Pro | Arg |      |
|     | 805 |     |     |     |     | 810 |     |     |     |     | 815 |     |     |     |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| cca | cca | cgu | uug | ugc | ccc | uuu | aaa | ucu | agu | aac | guu | aac | uuu | gac |     | 3247 |
| Pro | Pro | Arg | Leu | Cys | Pro | Tyr | Ile | Lys | Ser | Ser | Asn | Val | Asn | Phe | Asp |      |
| 820 |     |     |     |     | 825 |     |     |     |     | 830 |     |     |     | 835 |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| cca | acc | aac | caa | acu | gau | uca | aga | uca | agu | aua | aca | uau | gug | cca | gac | 3295 |
| Pro | Thr | Asn | Leu | Thr | Asp | Ser | Arg | Ser | Ser | Ile | Thr | Tyr | Val | Pro | Asp |      |
|     |     |     | 840 |     |     |     |     |     | 845 |     |     |     |     | 850 |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| acu | auc | cgu | ccg | gaa | guc | cgu | aca | gcu | gga | aaa | uuc | ggc | cac | cag | ucc | 3343 |
| Thr | Ile | Arg | Pro | Glu | Val | Arg | Thr | Ala | Gly | Lys | Phe | Gly | His | Gln | Ser |      |
|     |     |     | 855 |     |     |     |     | 860 |     |     |     |     | 865 |     |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| ggv | gcu | guu | uac | gug | ggv | aau | uac | aga | aua | gug | aac | egg | cac | cuc | gcc | 3391 |
| Gly | Ala | Val | Tyr | Val | Gly | Asn | Tyr | Arg | Ile | Val | Asn | Arg | His | Leu | Ala |      |
|     |     | 870 |     |     |     |     | 875 |     |     |     |     | 880 |     |     |     |      |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |
| acg | cac | aac | gac | ugg | caa | aac | ugu | gug | ugg | gaa | gac | uac | aac | aga | gac | 3439 |
| Thr | His | Asn | Asp | Trp | Gln | Asn | Cys | Val | Trp | Glu | Asp | Tyr | Asn | Arg | Asp |      |
|     | 885 |     |     |     |     | 890 |     |     |     |     | 895 |     |     |     |     |      |

# MD 4480 C1 2017.12.31

51

|      |      |      |      |     |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|------|------|------|------|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| cuc  | cus  | gug  | agc  | acc | acu  | aca  | gcc  | ceu  | ggg  | ugu  | gac  | acu  | sua  | gcc  | aga  | 3487 |
| leu  | leu  | val  | ser  | thr | thr  | thr  | ala  | his  | gly  | cys  | asp  | thr  | ile  | ala  | arg  |      |
| 960  |      |      |      |     |      | 905  |      |      |      | 910  |      |      |      |      | 915  |      |
| ugu  | cag  | ugc  | aca  | gca | ggc  | gua  | cau  | uuu  | ugu  | gcc  | uca  | agg  | aac  | aaa  | cau  | 3535 |
| Cys  | Gln  | Cys  | Thr  | Ala | Gly  | Val  | Tyr  | Phe  | Cys  | Ala  | Ser  | Arg  | Asn  | Lys  | His  |      |
|      |      |      |      | 920 |      |      |      |      | 925  |      |      |      |      | 930  |      |      |
| uac  | cca  | guc  | acc  | uoc | gag  | ggg  | cca  | ggc  | uug  | gug  | gaa  | guu  | cag  | gag  | agc  | 3583 |
| Tyr  | Pro  | Val  | Thr  | Phe | Glu  | Gly  | Pro  | Gly  | Leu  | Val  | Glu  | Val  | Gln  | Glu  | Ser  |      |
|      |      |      | 935  |     |      |      |      | 940  |      |      |      |      | 945  |      |      |      |
| gag  | uac  | uac  | cca  | aaa | aga  | uau  | cag  | ucc  | cac  | gug  | cus  | caa  | gcu  | gca  | gga  | 3631 |
| Glu  | Tyr  | Tyr  | Pro  | Lys | Arg  | Tyr  | Gln  | Ser  | His  | Val  | Leu  | Leu  | Ala  | Ala  | Gly  |      |
|      |      | 950  |      |     |      |      | 955  |      |      |      |      | 960  |      |      |      |      |
| uuu  | uuu  | gaa  | ccg  | ggc | gau  | ugu  | ggc  | gga  | auc  | cuc  | aga  | ugu  | caa  | cac  | ggc  | 3679 |
| Phe  | Ser  | Glu  | Pro  | Gly | Asp  | Cys  | Gly  | Gly  | Ile  | Leu  | Arg  | Cys  | Gln  | His  | Gly  |      |
|      | 965  |      |      |     | 970  |      |      |      |      |      | 975  |      |      |      |      |      |
| gug  | auc  | ggu  | auc  | guc | acc  | aug  | ggc  | gga  | gag  | ggg  | guc  | guu  | ggg  | uuu  | gcc  | 3727 |
| Val  | Ile  | Gly  | Ile  | Val | Thr  | Met  | Gly  | Gly  | Glu  | Gly  | Val  | Val  | Gly  | Phe  | Ala  |      |
| 980  |      |      |      |     | 985  |      |      |      |      | 990  |      |      |      |      | 995  |      |
| gac  | guc  | aga  | gac  | caa | cug  | ugg  | uua  | gag  | gau  | gau  | gcc  | aug  | gaa  | cag  | ggc  | 3775 |
| Asp  | Val  | Arg  | Asp  | Leu | Leu  | Trp  | Leu  | Glu  | Asp  | Asp  | Ala  | Met  | Glu  | Gln  | Gly  |      |
|      |      |      | 1000 |     |      |      |      |      | 1005 |      |      |      |      | 1010 |      |      |
| gua  | aga  | gac  | uau  | guu | gea  | caa  | caa  | gga  | cau  | gcu  | uuc  | ggc  | uac  | ggv  | uuc  | 3823 |
| Val  | Arg  | Asp  | Tyr  | Val | Glu  | Gln  | Leu  | Gly  | Asn  | Ala  | Phe  | Gly  | Ser  | Gly  | Phe  |      |
|      |      |      | 1015 |     |      |      |      | 1020 |      |      |      |      | 1025 |      |      |      |
| acc  | aau  | caa  | auu  | ugu | gaa  | cag  | guc  | aac  | cuc  | cuc  | aaa  | gag  | uca  | uug  | guu  | 3871 |
| Thr  | Asn  | Gln  | Ile  | Cys | Glu  | Gln  | Val  | Asn  | Leu  | Leu  | Lys  | Glu  | Ser  | Leu  | Val  |      |
|      |      | 1030 |      |     |      |      | 1035 |      |      |      |      | 1040 |      |      |      |      |
| gga  | cag  | gau  | ucu  | auu | ccg  | gaa  | aaa  | ucc  | cuu  | aag  | gcu  | caa  | guu  | aag  | auu  | 3919 |
| Gly  | Gln  | Asp  | Ser  | Ile | Leu  | Glu  | Lys  | Ser  | Leu  | Lys  | Ala  | Leu  | Val  | Lys  | Ile  |      |
|      | 1045 |      |      |     |      | 1050 |      |      |      |      | 1055 |      |      |      |      |      |
| auc  | uca  | gca  | cug  | guc | guu  | gua  | gug  | aga  | aau  | cac  | gau  | gau  | cuc  | uaa  | acg  | 3967 |
| Ile  | Ser  | Ala  | Leu  | Val | Val  | Val  | Val  | Arg  | Asn  | His  | Asp  | Asp  | Leu  | Ile  | Thr  |      |
| 1060 |      |      |      |     | 1065 |      |      |      |      | 1070 |      |      |      |      | 1075 |      |
| guu  | acc  | guc  | acu  | caa | gcu  | uua  | auu  | ggv  | ugc  | acc  | ucu  | ucu  | ccg  | ggg  | ggg  | 4015 |
| Val  | Thr  | Ala  | Thr  | Leu | Ala  | Leu  | Ile  | Gly  | Cys  | Thr  | Ser  | Ser  | Pro  | Trp  | Arg  |      |
|      |      |      | 1080 |     |      |      |      |      | 1085 |      |      |      |      | 1090 |      |      |
| ugg  | cuc  | aag  | cag  | aag | gug  | uca  | caa  | uau  | uau  | gga  | sua  | ccc  | agg  | gcc  | gag  | 4063 |
| Trp  | Leu  | Lys  | Gln  | Lys | Val  | Ser  | Gln  | Tyr  | Tyr  | Gly  | Ile  | Pro  | Arg  | Ala  | Gln  |      |
|      |      |      | 1095 |     |      |      |      | 1100 |      |      |      |      |      | 1105 |      |      |
| cga  | caa  | aac  | cau  | agc | ugg  | cuc  | aag  | aag  | uuu  | acu  | gag  | aug  | acc  | aac  | gcc  | 4111 |
| Arg  | Gln  | Asn  | Asn  | Ser | Trp  | Leu  | Lys  | Lys  | Phe  | Thr  | Glu  | Met  | Thr  | Asn  | Ala  |      |
|      |      | 1110 |      |     |      |      | 1115 |      |      |      |      | 1120 |      |      |      |      |
| ugc  | aag  | ggc  | aug  | gag | ugg  | aca  | gcc  | aca  | aaa  | auu  | caa  | aag  | uuu  | auu  | gag  | 4159 |

# MD 4480 C1 2017.12.31

52

|      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |      |      |      |
|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|------|------|------|
| Cys  | Lys  | Gly  | Met  | Glu  | Trp  | Ile  | Ala  | Ile  | Lys  | Ile  | Gln  | Lys  | Phe | Ile  | Glu  |      |
|      | 1125 |      |      |      |      | 1130 |      |      |      |      | 1135 |      |     |      |      |      |
| ugg  | cuu  | aaa  | guc  | aag  | asu  | cug  | ccg  | gaa  | gug  | aag  | gaa  | aaa  | cac | gag  | uuc  | 4267 |
| Trp  | Leu  | Lys  | Val  | Lys  | Ile  | Leu  | Pro  | Glu  | Val  | Lys  | Glu  | Lys  | His | Glu  | Phe  |      |
| 1140 |      |      |      |      | 1145 |      |      |      |      | 1150 |      |      |     |      | 1155 |      |
| ccc  | aac  | agg  | cuc  | aag  | caa  | uua  | cca  | cuu  | cua  | gag  | agc  | cag  | uuu | gca  | acc  | 4255 |
| Leu  | Asn  | Arg  | Leu  | Lys  | Gln  | Leu  | Pro  | Leu  | Leu  | Gln  | Ser  | Gln  | Ile | Ala  | Thr  |      |
|      |      |      |      | 1160 |      |      |      |      |      | 1165 |      |      |     | 1170 |      |      |
| auu  | gag  | cag  | agu  | gca  | cca  | ucg  | cag  | agu  | gaa  | caa  | gag  | caa  | cuc | uuc  | ucc  | 4303 |
| Ile  | Glu  | Gln  | Ser  | Ala  | Pro  | Ser  | Gln  | Ser  | Asp  | Gln  | Gln  | Gln  | Leu | Phe  | Ser  |      |
|      |      |      | 1175 |      |      |      |      | 1180 |      |      |      |      |     | 1185 |      |      |
| aac  | guc  | cag  | uac  | uuu  | gcc  | cau  | uuu  | ugc  | aga  | aag  | uuu  | gcg  | cca | uug  | uac  | 4351 |
| Asn  | Val  | Gln  | Tyr  | Phe  | Ala  | His  | Tyr  | Cys  | Arg  | Lys  | Tyr  | Ala  | Pro | Leu  | Tyr  |      |
|      | 1190 |      |      |      |      |      | 1195 |      |      |      |      | 1200 |     |      |      |      |
| gcu  | gcc  | gag  | gcg  | aag  | aga  | gug  | uuc  | uca  | cuu  | gag  | aag  | aaa  | aug | agc  | aac  | 4399 |
| Ala  | Ala  | Glu  | Ala  | Lys  | Arg  | Val  | Phe  | Ser  | Leu  | Gln  | Lys  | Lys  | Met | Ser  | Asn  |      |
|      | 1205 |      |      |      |      | 1210 |      |      |      |      |      | 1215 |     |      |      |      |
| uac  | aua  | cag  | uuc  | aag  | ucc  | aaa  | ugc  | cgu  | auu  | gag  | ccu  | guc  | agc | uuu  | ccc  | 4447 |
| Tyr  | Ile  | Gln  | Phe  | Lys  | Ser  | Lys  | Cys  | Arg  | Ile  | Glu  | Pro  | Val  | Cys | Leu  | Leu  |      |
| 1220 |      |      |      |      | 1225 |      |      |      |      | 1230 |      |      |     |      | 1235 |      |
| cua  | cau  | ggc  | agc  | cca  | ggg  | gcc  | gga  | aag  | ucc  | gug  | gcc  | acc  | aac | uug  | auu  | 4495 |
| Leu  | His  | Gly  | Ser  | Pro  | Gly  | Ala  | Gly  | Lys  | Ser  | Val  | Ala  | Thr  | Asn | Leu  | Ile  |      |
|      |      |      |      | 1240 |      |      |      |      |      | 1245 |      |      |     | 1250 |      |      |
| ggc  | aga  | ucc  | cuc  | gca  | gaa  | aaa  | uuc  | aac  | agc  | ucu  | gua  | uac  | ucc | cua  | cca  | 4543 |
| Gly  | Arg  | Ser  | Leu  | Ala  | Glu  | Lys  | Leu  | Asn  | Ser  | Ser  | Val  | Tyr  | Ser | Leu  | Pro  |      |
|      |      |      | 1255 |      |      |      |      | 1260 |      |      |      |      |     | 1265 |      |      |
| cca  | gac  | ccc  | gac  | cac  | uuu  | gac  | ggc  | uac  | aag  | cag  | caa  | gug  | guc | gug  | auc  | 4591 |
| Pro  | Asp  | Pro  | Asp  | His  | Phe  | Asp  | Gly  | Tyr  | Lys  | Gln  | Gln  | Ala  | Val | Val  | Ile  |      |
|      | 1270 |      |      |      |      |      | 1275 |      |      |      |      | 1280 |     |      |      |      |
| aug  | gau  | gac  | uuu  | uga  | caa  | aau  | ccu  | gau  | gga  | aaa  | gaa  | guc  | uca | cua  | uuu  | 4639 |
| Met  | Asp  | Asp  | Leu  | Cys  | Gln  | Asn  | Pro  | Asp  | Gly  | Lys  | Asp  | Val  | Ser | Leu  | Phe  |      |
|      | 1285 |      |      |      |      | 1290 |      |      |      |      | 1295 |      |     |      |      |      |
| ugu  | cag  | aug  | guu  | ucu  | agc  | gug  | gac  | uuu  | gua  | cca  | ccg  | aug  | gcu | gcg  | caa  | 4687 |
| Cys  | Gln  | Met  | Val  | Ser  | Ser  | Val  | Asp  | Phe  | Val  | Pro  | Pro  | Met  | Ala | Ala  | Leu  |      |
| 1300 |      |      |      |      | 1305 |      |      |      |      | 1310 |      |      |     |      | 1315 |      |
| gag  | gaa  | aaa  | gga  | auc  | cca  | uuu  | acc  | ucc  | ccg  | uuc  | gug  | uug  | gca | uca  | acc  | 4735 |
| Glu  | Glu  | Lys  | Gly  | Ile  | Leu  | Phe  | Thr  | Ser  | Pro  | Phe  | Val  | Leu  | Ala | Ser  | Thr  |      |
|      |      |      | 1320 |      |      |      |      |      | 1325 |      |      |      |     | 1330 |      |      |
| aac  | gcu  | ggg  | ucc  | auc  | aau  | gca  | ccc  | acu  | gug  | ucu  | gac  | agc  | aga | gcg  | cuu  | 4783 |
| Asn  | Ala  | Gly  | Ser  | Ile  | Asn  | Ala  | Pro  | Thr  | Val  | Ser  | Asp  | Ser  | Arg | Ala  | Leu  |      |
|      |      | 1335 |      |      |      |      |      | 1340 |      |      |      |      |     | 1345 |      |      |
| gcu  | agg  | age  | uuc  | cac  | uuu  | gac  | aug  | aac  | auu  | gaa  | guc  | uuu  | ucu | aug  | uac  | 4831 |
| Ala  | Arg  | Arg  | Phe  | His  | Phe  | Asp  | Met  | Asn  | Ile  | Glu  | Val  | Ile  | Ser | Met  | Tyr  |      |

# MD 4480 C1 2017.12.31

53

| 1350   | 1355 | 1360 |      |
|--|------|------|------|
| agu cca aac ggc aag aac aac aug ucc aug uca guc eaa eca ugu gau<br>Ser Gln Asn Gly Lys Ile Asn Met Pro Met Ser Val Lys Thr Cys Asp<br>1365 | 1370 | 1375 | 4879 |
| gaa gag ugu ugu cca guu aac uuc aaa agg ugc ugc ccg uug gug ugu<br>Glu Glu Cys Cys Pro Val Asn Phe Lys Arg Cys Cys Pro Leu Val Cys<br>1380 | 1385 | 1390 | 4927 |
| ggg aag gcy aug caa uuc auu gau agg aga acu caa guu aga gau ucg<br>Gly Lys Ala Met Gln Phe Ile Asp Arg Arg Thr Gln Val Arg Tyr Ser<br>1400 | 1405 | 1410 | 4975 |
| cug gac aug cua guu acu gaa aug uuu agg gag uau aac cau age cac<br>Leu Asp Met Leu Val Thr Gln Met Phe Arg Glu Tyr Asn His Arg His<br>1415 | 1420 | 1425 | 5023 |
| agu gug gga gcc acu cou gaa gcu cug ucc caa ggg cca cca guc uac<br>Ser Val Gly Ala Thr Leu Glu Ala Leu Phe Gln Gly Pro Pro Val Tyr<br>1430 | 1435 | 1440 | 5071 |
| aga gag aac eaa aac agc guc gcc cca gag aca cac cca cca cca guc<br>Arg Glu Ile Lys Ile Ser Val Ala Pro Glu Thr Pro Pro Pro Ala<br>1445     | 1450 | 1455 | 5119 |
| auu gcu gcu uca cug aaa uca gug gac agc gaa gcc gug agg gaa uac<br>Ile Ala Asp Leu Leu Lys Ser Val Asp Ser Glu Ala Val Arg Glu Tyr<br>1460 | 1465 | 1470 | 5167 |
| ugc aag gag aga ggg ugg cuu gug cca gag auc aau ucu acc cua caa<br>Cys Lys Glu Arg Gly Trp Leu Val Pro Glu Ile Asn Ser Thr Leu Gln<br>1480 | 1485 | 1490 | 5215 |
| aaa gag aag cau gug agu aga gca uuc aua ugu uua caa gcc cua acc<br>Ile Glu Lys His Val Ser Arg Ala Phe Ile Cys Leu Gln Ala Leu Thr<br>1495 | 1500 | 1505 | 5263 |
| acg uuc guu uca guu gcu ggu aua aua cac auu auu cac aaa uua uuu<br>Thr Phe Val Ser Val Ala Gly Ile Ile Tyr Ile Ile Tyr Lys Leu Phe<br>1510 | 1515 | 1520 | 5311 |
| gca ggu uuc caa ggc gcc uac aca ggg aug ccc aac cag aac ccu aag<br>Ala Gly Phe Gln Gly Ala Tyr Thr Gly Met Pro Asn Gln Lys Pro Lys<br>1525 | 1530 | 1535 | 5359 |
| gug ccc acc cug aga cag gcc aaa guc cag gcc cca gcg uuu gag uuc<br>Val Pro Thr Leu Arg Gln Ala Lys Val Glu Gly Pro Ala Phe Glu Phe<br>1540 | 1545 | 1550 | 5407 |
| gcu gug gcg aug aag aaa agg aac gcc agc aca gaa aaa acc gag uac<br>Ala Val Ala Met Met Lys Arg Asn Ala Ser Thr Val Lys Thr Glu Tyr<br>1560 | 1565 | 1570 | 5455 |
| ggc gaa uuc acc aug cuu gcc auu uac gac aag ugg gcg gug uua ccg<br>Gly Glu Phe Thr Met Leu Gly Ile Tyr Asp Lys Trp Ala Val Leu Pro<br>1575 | 1580 | 1585 | 5503 |

# MD 4480 C1 2017.12.31

54

|   |      |
|---|------|
| ggc cac gcc aag ccu ggc ccc acc auc uug aug sau gau cag gaa guc | 5551 |
| Arg His Ala Lys Pro Gly Pro Thr Ile Leu Met Asn Asp Gln Glu Val |      |
| 1590  | 1595 |
| 1600  |      |
| ggc gug uug gau gcc aag gaa cua guu gau aaa gau ggg acc aau cua | 5599 |
| Gly Val Leu Asp Ala Lys Glu Leu Val Asp Lys Asp Gly Thr Asn Leu |      |
| 1605  | 1610 |
| 1615  |      |
| gaa uug acc cuc cug aag cuc aac cgu aac gaa aag uuc aga gau aau | 5647 |
| Glu Leu Thr Leu Leu Lys Leu Asn Arg Asn Glu Lys Phe Arg Asp Ile |      |
| 1620  | 1625 |
| 1630  | 1635 |
| agg ggg uuu cua gca aga gaa gag guu gaa gug sau gaa gcu guc cua | 5685 |
| Arg Gly Phe Leu Ala Arg Glu Glu Val Glu Val Asn Glu Ala Val Leu |      |
| 1640  | 1645 |
| 1650  |      |
| gca aua sau aca agc aaa uuc ccu aac aug uac aua cca gug ggc cag | 5743 |
| Ala Ile Asn Thr Ser Lys Phe Pro Asn Met Tyr Ile Pro Val Gly Gln |      |
| 1655  | 1660 |
| 1665  |      |
| gug aau gac uac ggg uuu cug aac cug gga ggg acu ccc acg aag aga | 5791 |
| Val Thr Asp Tyr Gly Phe Leu Asn Leu Gly Gly Thr Pro Thr Lys Arg |      |
| 1670  | 1675 |
| 1680  |      |
| aug cuc aug uau aac uuc cca acu aga gca ggu cag ugu gga ggu guc | 5839 |
| Met Leu Met Tyr Asn Phe Pro Thr Arg Ala Gly Gln Cys Gly Gly Val |      |
| 1685  | 1690 |
| 1695  |      |
| cuc aug uca aca ggg aaa guc cug gga aua cau gaa gga ggg aau gga | 5887 |
| Leu Met Ser Thr Gly Lys Val Leu Gly Ile His Val Gly Gly Asn Gly |      |
| 1700  | 1705 |
| 1710  | 1715 |
| cau caa ggg uuc uca gcg gca cuc cuc agg cac uac uuc aac gag gag | 5935 |
| His Gln Gly Phe Ser Ala Ala Leu Leu Arg His Tyr Phe Asn Glu Glu |      |
| 1720  | 1725 |
| 1730  |      |
| cag ggu gaa aua gaa uuc auu gag agc uca aag gac gcg gge uuc ccu | 5983 |
| Gln Gly Glu Ile Glu Phe Ile Glu Ser Ser Lys Asp Ala Gly Phe Pro |      |
| 1735  | 1740 |
| 1745  |      |
| gug auc aac acu ccc agu aag aca aaa uug gaa cca agu gug uuu cac | 6031 |
| Val Ile Asn Thr Pro Ser Lys Thr Lys Leu Glu Pro Ser Val Phe His |      |
| 1750  | 1755 |
| 1760  |      |
| cag gug uuc gag gcc aac aag gaa cca gcg guc cuu aga aau ggg gac | 6079 |
| Gln Val Phe Glu Gly Asn Lys Glu Pro Ala Val Leu Arg Asn Gly Asp |      |
| 1765  | 1770 |
| 1775  |      |
| cca cge cuc aac gcc aac uuc gag gaa gca auc uuc ucc aag uac auu | 6127 |
| Pro Arg Leu Lys Ala Asn Phe Glu Glu Ala Ile Phe Ser Lys Tyr Ile |      |
| 1780  | 1785 |
| 1790  | 1795 |
| ggc aau guc aac acg cau gua gau gag uac aug uug gag gcu gug gac | 6175 |
| Gly Asn Val Asn Thr His Val Asp Glu Tyr Met Leu Glu Ala Val Asp |      |
| 1800  | 1805 |
| 1810  |      |

# MD 4480 C1 2017.12.31

55

|   |                             |                     |         |      |
|---|-----------------------------|---------------------|---------|------|
| caa uaa gca gga                             | caa cua gcu acu cug         | gac auc agu acg gag | ccc aag | 6223 |
| His Tyr Ala Gly                             | Gln Leu Ala Thr Leu         | Asp Ile Ser Thr Glu | Pro Met |      |
| 1815  | 1820                        | 1825                |         |      |
|   |                             |                     |         |      |
| eag cua gag gac gcc ggg uuu ggu aca ggg ggg | cug gaa gca cca gac         |                     |         | 6271 |
| Lys Leu Glu Asp Ala Val Tyr Gly Thr Glu Gly | Leu Glu Ala Leu Asp         |                     |         |      |
| 1830  | 1835                        | 1840                |         |      |
|   |                             |                     |         |      |
| cua acc acc agu gca ggc uac ccu uac gug gcc | cug ggc auc aag aaa         |                     |         | 6319 |
| Leu Thr Thr Ser Ala Gly Tyr Pro Tyr Val Ala | Leu Gly Ile Lys Lys         |                     |         |      |
| 1845  | 1850                        | 1855                |         |      |
|   |                             |                     |         |      |
| aga gau auu cua ucu aag aag acu aaa gac cuc | acu aag uug aag gaa         |                     |         | 6367 |
| Arg Asp Ile Leu Ser Lys Lys Thr Lys Asp Leu | Thr Lys Leu Lys Glu         |                     |         |      |
| 1860  | 1865                        | 1870                | 1875    |      |
|   |                             |                     |         |      |
| ugc aag gac aac uau ggc cua aau uug cca aug | gua acc uac guc aca         |                     |         | 6415 |
| Cys Met Asp Lys Tyr Gly Leu Asn Leu Pro     | Met Val Thr Tyr Val Lys     |                     |         |      |
| 1880  | 1885                        | 1890                |         |      |
|   |                             |                     |         |      |
| gau gag uug aga ucu gcu gag aag gug gcc aag | gga aca ucc egg cuu         |                     |         | 6463 |
| Asp Glu Leu Arg Ser Ala Glu Lys Val Ala Lys | Gly Lys Ser Arg Leu         |                     |         |      |
| 1895  | 1900                        | 1905                |         |      |
|   |                             |                     |         |      |
| auu gag gcu ucu agu cuc aau gac uca gua gca | aug agg caa aca uuu         |                     |         | 6511 |
| Ile Glu Ala Ser Ser Leu Asn Asp Ser Val Ala | Met Arg Gln Thr Phe         |                     |         |      |
| 1910  | 1915                        | 1920                |         |      |
|   |                             |                     |         |      |
| gga aau uua uau aag acc uuu cac cuc aac ccg | ggc auc guu aag gcc         |                     |         | 6559 |
| Gly Asn Leu Tyr Lys Thr Phe His Leu Asn Pro | Gly Ile Val Thr Gly         |                     |         |      |
| 1925  | 1930                        | 1935                |         |      |
|   |                             |                     |         |      |
| agu gcu guu ggg ugu gau cca gau ggg uuu ugg | agc aag auc ccu guu         |                     |         | 6607 |
| Ser Ala Val Gly Cys Asp Pro Asp Val Phe Trp | Ser Lys Ile Pro Val         |                     |         |      |
| 1940  | 1945                        | 1950                | 1955    |      |
|   |                             |                     |         |      |
| aug cuu gau gga cau ccc aca gcu uuu gac uau | uca ggc uau gac gcu         |                     |         | 6655 |
| Met Leu Asp Gly His Leu Ile Ala Phe Asp Tyr | Ser Gly Tyr Asp Ala         |                     |         |      |
| 1960  | 1965                        | 1970                |         |      |
|   |                             |                     |         |      |
| agc cuc agc cca ggg ugg uuu gca ugu uug aaa | cuu cuc cua gag aca         |                     |         | 6703 |
| Ser Leu Ser Pro Val Trp Phe Ala Cys Leu Lys | Leu Leu Leu Glu Lys         |                     |         |      |
| 1975  | 1980                        | 1985                |         |      |
|   |                             |                     |         |      |
| cua ggg uau aca aac aag gaa aca aac uac     | aua gau cac cuc ugu aau     |                     |         | 6751 |
| Leu Gly Tyr Thr Asn Lys Glu Thr Asn Tyr Ile | Asp Tyr Leu Cys Asn         |                     |         |      |
| 1990  | 1995                        | 2000                |         |      |
|   |                             |                     |         |      |
| ucc caa cac cug uau aga gac aag cac uac     | uuu gua aga ggc ggu aug     |                     |         | 6799 |
| Ser His His Leu Tyr Arg Asp Lys His Tyr Phe | Val Arg Gly Gly Met         |                     |         |      |
| 2005  | 2010                        | 2015                |         |      |
|   |                             |                     |         |      |
| cca uca ggg ugu uca ggc acc agc aua uuw     | aau ucc aug auu aac aac     |                     |         | 6847 |
| Pro Ser Gly Cys Ser Gly Thr Ser Ile Phe     | Asn Ser Met Ile Asn Asn     |                     |         |      |
| 2020  | 2025                        | 2030                | 2035    |      |
|   |                             |                     |         |      |
| auc aua auc agg acu ccc aag ccg aag         | gou uau aaa ggc auu gau uug |                     |         | 6895 |

# MD 4480 C1 2017.12.31

56

```

Ile Ile Ile Arg Thr Leu Met Leu Lys Val Tyr Lys Gly Ile Asp Leu
      2040      2045      2050
gac caa uuc aga aug auu gcc uuu ggg gaa gaa gag auu gcc ucc uuu 6943
Asp Gln Phe Arg Met Ile Ala Tyr Gly Asp Asp Val Ile Ala Ser Tyr
      2055      2060      2065
cag ugg ccu aac gau guu uog uag uuu gcc gaa gaa gga aaa gau uuu 6991
Pro Trp Pro Ile Asp Ala Ser Leu Leu Ala Gln Ala Gly Lys Asp Tyr
      2070      2075      2080
ggv uuu aac aug acc cca gcc gac aaa ggc gag ugc uuc aac gag guu 7039
Gly Leu Ile Met Thr Pro Ala Asp Lys Gly Gln Cys Phe Asn Glu Val
      2085      2090      2095
acc ugg agc aau gag acc uuu cug aaa agg uac uuu agg gca gau gag 7087
Thr Trp Thr Asn Val Thr Phe Leu Lys Arg Tyr Phe Arg Ala Asp Glu
2100      2105      2110      2115
caa uac cca uuu cug guc cau ccu guu aug cca aug aag gac aua cau 7135
Gln Tyr Pro Phe Leu Val His Pro Val Met Pro Met Lys Asp Ile His
      2120      2125      2130
gag ucc auu egg ugg acc aua guu ccc aag aac aca cag gau cau gag 7183
Glu Ser Ile Arg Trp Thr Lys Asp Pro Lys Asn Thr Gln Asp His Val
      2135      2140      2145
cgc ccg cug ugc aua uug guu ugg cac aac ggg gag caa gas uau gag 7231
Arg Ser Leu Cys Leu Leu Ala Trp His Asn Gly Glu Gln Glu Tyr Glu
      2150      2155      2160
gag uuu auu cgc aag aac aga agc gag ccc guu ggg cgc ugc uuq acc 7279
Glu Phe Ile Arg Lys Ile Arg Ser Val Pro Val Gly Arg Cys Leu Thr
      2165      2170      2175
cua ccc guu uuu uca aca cug cgc agg aag ugg cug gac ucc uuu uaa 7327
Leu Pro Ala Phe Ser Thr Leu Arg Arg Lys Trp Leu Asp Ser Phe
2180      2185      2190
aaauagagca aaauuagaaa auaauaaauug guuuuauuuu accgcaugaa 7377
ccgaacuuga aaaaagugcg guagggguua auuucccgca uuuggugcgg 7427

```

```

<210> 4
<211> 2194
<212> PRT
<213> Enterovirus sp. Echo 7

<220>
<221> insert
<222> 16, 404, 954, 1065
<223> Secvența aminoacidă a virusului modificat

<400> 4

```

# MD 4480 C1 2017.12.31

57

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| Met | Gly | Ala | Gln | Val | Ser | Thr | Gln | Lys | Thr | Gly | Ala | His | Glu | Thr | 1   | 5   | 10  | 15 |
| Xaa | Leu | Ser | Ala | Asn | Gly | His | Ser | Ile | Ile | His | Tyr | Thr | Asn | Ile | 20  | 25  | 30  |    |
| Asn | Tyr | Tyr | Lys | Asp | Ala | Ala | Ser | Asn | Ser | Ala | Asn | Arg | Gln | Asp | 35  | 40  | 45  |    |
| Phe | Thr | Gln | Asp | Pro | Gly | Lys | Phe | Thr | Glu | Pro | Val | Lys | Asp | Ile | 50  | 55  | 60  |    |
| Met | Ile | Lys | Ser | Met | Pro | Ala | Leu | Asn | Ser | Pro | Ser | Ala | Glu | Glu | 65  | 70  | 75  |    |
| Cys | Gly | Tyr | Ser | Asp | Arg | Val | Arg | Ser | Leu | Thr | Leu | Gly | Asn | Ser | 80  | 85  | 90  |    |
| Thr | Ile | Thr | Thr | Gln | Glu | Ser | Ala | Asn | Val | Val | Val | Gly | Tyr | Gly | 95  | 100 | 105 |    |
| Arg | Trp | Pro | Glu | Tyr | Leu | Lys | Asp | Glu | Glu | Ala | Thr | Ala | Glu | Asp | 110 | 115 | 120 |    |
| Gln | Pro | Thr | Gln | Pro | Asp | Val | Ala | Thr | Cys | Arg | Phe | Tyr | Thr | Leu | 125 | 130 | 135 |    |
| Glu | Ser | Val | Gln | Trp | Glu | Lys | Asn | Ser | Ala | Gly | Trp | Trp | Trp | Lys | 140 | 145 | 150 |    |
| Phe | Pro | Gln | Ala | Leu | Lys | Asp | Met | Gly | Leu | Phe | Gly | Gln | Asn | Met | 155 | 160 | 165 |    |
| Leu | Tyr | His | Tyr | Leu | Gly | Arg | Ala | Gly | Tyr | Thr | Ile | His | Val | Gln | 170 | 175 | 180 |    |
| Cys | Asn | Ala | Ser | Lys | Phe | His | Gln | Gly | Cys | Leu | Leu | Val | Val | Cys | 185 | 190 | 195 |    |
| Val | Pro | Gln | Ala | Glu | Met | Gly | Cys | Ser | Gln | Thr | Asp | Lys | Glu | Val | 200 | 205 | 210 |    |
| Ala | Ala | Met | Asn | Leu | Thr | Lys | Gly | Glu | Thr | Ala | His | Lys | Phe | Glu | 215 | 220 | 225 |    |
| Pro | Thr | Lys | Thr | Thr | Gly | Gly | His | Thr | Val | Gln | Ser | Ile | Val | Cys | 230 | 235 | 240 |    |
| Asn | Ala | Gly | Met | Gly | Ile | Gly | Val | Gly | Asn | Leu | Thr | Ile | Tyr | Pro | 245 | 250 | 255 |    |
| His | Gln | Trp | Ile | Asn | Leu | Arg | Thr | Asn | Asn | Cys | Ala | Thr | Ile | Val | 260 | 265 | 270 |    |
| Met | Pro | Tyr | Ile | Asn | Ser | Val | Pro | Met | Asp | Asn | Met | Phe | Arg | His | 275 | 280 | 285 |    |

# MD 4480 C1 2017.12.31

58

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Tyr | Asn | Phe | Thr | Leu | Met | Val | Ile | Pro | Phe | Ala | Pro | Leu | Asp | Tyr | 290 | 295 | 300 |
| Asn | Ala | Gln | Ala | Ser | Gln | Tyr | Val | Pro | Val | Thr | Val | Thr | Ile | Ala | 305 | 310 | 315 |
| Pro | Met | Cys | Ala | Gln | Tyr | Asn | Gly | Leu | Arg | Leu | Ala | Tyr | Gln | Gln | 320 | 325 | 330 |
| Gly | Leu | Pro | Val | Leu | Asn | Thr | Pro | Gly | Ser | Asn | Gln | Phe | Met | Thr | 335 | 340 | 345 |
| Ser | Asp | Asp | Phe | Gln | Ser | Pro | Ser | Ala | Met | Pro | Gln | Phe | Asp | Val | 350 | 355 | 360 |
| Thr | Pro | His | Met | Asp | Ile | Pro | Gly | Glu | Val | His | Asn | Leu | Met | Glu | 365 | 370 | 375 |
| Ile | Ala | Gln | Val | Asp | Ser | Val | Val | Pro | Val | Asn | Asn | Thr | Ala | Ala | 380 | 385 | 390 |
| Asn | Leu | Gln | Ser | Met | Asp | Ala | Tyr | His | Ile | Glu | Val | Asn | Asa | Gly | 395 | 400 | 405 |
| Asn | His | Gln | Gly | Gln | Lys | Ile | Phe | Ala | Phe | Gln | Ile | Gln | Pro | Gly | 410 | 415 | 420 |
| Leu | Asp | Ser | Val | Phe | Lys | Arg | Thr | Leu | Leu | Gly | Gln | Val | Leu | Asn | 425 | 430 | 435 |
| Tyr | Tyr | Ala | His | Trp | Ser | Gly | Ser | Ile | Lys | Leu | Thr | Phe | Thr | Phe | 440 | 445 | 450 |
| Cys | Gly | Ser | Ala | Met | Ala | Thr | Gly | Lys | Leu | Leu | Leu | Ala | Tyr | Ser | 455 | 460 | 465 |
| Pro | Pro | Gly | Ala | Asp | Val | Pro | Ala | Ser | Arg | Lys | Gln | Ala | Met | Met | 470 | 475 | 480 |
| Gly | Thr | His | Ile | Ile | Trp | Asp | Leu | Gly | Leu | Gln | Ser | Ser | Cys | Val | 485 | 490 | 495 |
| Leu | Cys | Ile | Pro | Trp | Ile | Ser | Gln | Thr | His | Tyr | Arg | Leu | Val | Gln | 500 | 505 | 510 |
| Gln | Asp | Gln | Tyr | Thr | Ser | Ala | Gly | Asn | Val | Thr | Cys | Trp | Tyr | Gln | 515 | 520 | 525 |
| Thr | Gly | Ile | Val | Val | Pro | Pro | Gly | Thr | Pro | Asn | Lys | Cys | Val | Val | 530 | 535 | 540 |
| Leu | Cys | Phe | Val | Ser | Ala | Cys | Asn | Asp | Phe | Ser | Val | Arg | Met | Leu | 545 | 550 | 555 |
| Arg | Asp | Thr | Pro | Phe | Ile | Gly | Gln | Thr | Thr | Leu | Leu | Gln | Gly | Asp | 560 | 565 | 570 |

# MD 4480 C1 2017.12.31

59

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | Asp | Val | Ala | Val | Asn | Asn | Ala | Val | Ala | Arg | Val | Ala | Asp | Thr |
|     |     |     |     | 575 |     |     |     |     | 580 |     |     |     |     | 585 |
| Ile | Ala | Ser | Gly | Pro | Ser | Asn | Ser | Thr | Ser | Ile | Pro | Ala | Leu | Thr |
|     |     |     |     | 590 |     |     |     |     | 595 |     |     |     |     | 600 |
| Ala | Val | Glu | Thr | Gly | His | Thr | Ser | Gln | Val | Glu | Pro | Ser | Asp | Thr |
|     |     |     |     | 605 |     |     |     |     | 610 |     |     |     |     | 615 |
| Met | Gln | Thr | Arg | His | Val | Lys | Asn | Tyr | His | Ser | Arg | Ser | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 620 |     |     |     |     | 625 |     |     |     |     | 630 |
| Thr | Ile | Glu | Asn | Phe | Leu | Ser | Arg | Ser | Ala | Cys | Val | Tyr | Ile | Glu |
|     |     |     |     | 635 |     |     |     |     | 640 |     |     |     |     | 645 |
| Glu | Tyr | Phe | Thr | Lys | Asp | Gln | Asp | Ser | Ala | Asn | Arg | Tyr | Met | Ser |
|     |     |     |     | 650 |     |     |     |     | 655 |     |     |     |     | 660 |
| Trp | Thr | Ile | Asn | Ala | Arg | Arg | Met | Val | Gln | Leu | Arg | Arg | Lys | Phe |
|     |     |     |     | 665 |     |     |     |     | 670 |     |     |     |     | 675 |
| Glu | Leu | Phe | Thr | Tyr | Met | Arg | Phe | Asp | Met | Glu | Ile | Thr | Phe | Val |
|     |     |     |     | 680 |     |     |     |     | 685 |     |     |     |     | 690 |
| Ile | Thr | Ser | Arg | Gln | Leu | Pro | Gly | Thr | Ser | Ile | Ala | Gln | Asp | Met |
|     |     |     |     | 695 |     |     |     |     | 700 |     |     |     |     | 705 |
| Pro | Pro | Leu | Thr | His | Gln | Ile | Met | Tyr | Ile | Pro | Pro | Gly | Gly | Pro |
|     |     |     |     | 710 |     |     |     |     | 715 |     |     |     |     | 720 |
| Val | Pro | Asn | Ser | Val | Thr | Asp | Phe | Ala | Trp | Gln | Thr | Ser | Thr | Asn |
|     |     |     |     | 725 |     |     |     |     | 730 |     |     |     |     | 735 |
| Pro | Ser | Ile | Phe | Trp | Thr | Glu | Gly | Asn | Ala | Pro | Pro | Arg | Met | Ser |
|     |     |     |     | 740 |     |     |     |     | 745 |     |     |     |     | 750 |
| Ile | Pro | Phe | Ile | Ser | Ile | Gly | Asn | Ala | Tyr | Ser | Asn | Phe | Tyr | Asp |
|     |     |     |     | 755 |     |     |     |     | 760 |     |     |     |     | 765 |
| Gly | Trp | Ser | His | Phe | Ser | Gln | Asn | Gly | Val | Tyr | Gly | Tyr | Asn | Ala |
|     |     |     |     | 770 |     |     |     |     | 775 |     |     |     |     | 780 |
| Leu | Asn | Asn | Met | Gly | Lys | Leu | Tyr | Ala | Arg | His | Val | Asn | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 785 |     |     |     |     | 790 |     |     |     |     | 795 |
| Thr | Pro | Tyr | Gln | Met | Ser | Ser | Thr | Ile | Arg | Val | Tyr | Phe | Lys | Pro |
|     |     |     |     | 800 |     |     |     |     | 805 |     |     |     |     | 810 |
| Lys | His | Ile | Arg | Val | Trp | Val | Pro | Arg | Pro | Pro | Arg | Leu | Cys | Pro |
|     |     |     |     | 815 |     |     |     |     | 820 |     |     |     |     | 825 |
| Tyr | Ile | Lys | Ser | Ser | Asn | Val | Asn | Phe | Asp | Pro | Thr | Asn | Leu | Thr |
|     |     |     |     | 830 |     |     |     |     | 835 |     |     |     |     | 840 |
| Asp | Ser | Arg | Ser | Ser | Ile | Thr | Tyr | Val | Pro | Asp | Thr | Ile | Arg | Pro |
|     |     |     |     | 845 |     |     |     |     | 850 |     |     |     |     | 855 |

# MD 4480 C1 2017.12.31

60

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|
| Glu | Val | Arg | Thr | Ala | Gly | Lys | Phe | Gly | His | Gln | Ser | Gly | Ala | Val | 860  | 865  | 870  |
| Tyr | Val | Gly | Asn | Tyr | Arg | Ile | Val | Asn | Arg | His | Leu | Ala | Thr | His | 875  | 880  | 885  |
| Asn | Asp | Trp | Gln | Asn | Cys | Val | Trp | Glu | Asp | Tyr | Asn | Arg | Asp | Leu | 890  | 895  | 900  |
| Leu | Val | Ser | Thr | Thr | Thr | Ala | His | Gly | Cys | Asp | Thr | Ile | Ala | Arg | 905  | 910  | 915  |
| Cys | Gln | Cys | Thr | Ala | Gly | Val | Tyr | Phe | Cys | Ala | Ser | Arg | Asn | Lys | 920  | 925  | 930  |
| His | Tyr | Pro | Val | Thr | Phe | Glu | Gly | Pro | Gly | Leu | Val | Glu | Val | Gln | 935  | 940  | 945  |
| Glu | Ser | Glu | Tyr | Tyr | Pro | Lys | Arg | Asn | Gln | Ser | His | Val | Leu | Leu | 950  | 955  | 960  |
| Ala | Ala | Gly | Phe | Ser | Glu | Pro | Gly | Asp | Cys | Gly | Gly | Ile | Leu | Arg | 965  | 970  | 975  |
| Cys | Gln | His | Gly | Val | Ile | Gly | Ile | Val | Thr | Met | Gly | Gly | Glu | Gly | 980  | 985  | 990  |
| Val | Val | Gly | Phe | Ala | Asp | Val | Arg | Asp | Leu | Leu | Trp | Leu | Glu | Asp | 995  | 1000 | 1005 |
| Asp | Ala | Met | Glu | Gln | Gly | Val | Arg | Asp | Tyr | Val | Glu | Gln | Leu | Gly | 1010 | 1015 | 1020 |
| Asn | Ala | Phe | Gly | Ser | Gly | Phe | Thr | Asn | Gln | Ile | Cys | Glu | Gln | Val | 1025 | 1030 | 1035 |
| Asn | Leu | Leu | Lys | Glu | Ser | Leu | Val | Gly | Gln | Asp | Ser | Ile | Leu | Glu | 1040 | 1045 | 1050 |
| Lys | Ser | Leu | Lys | Ala | Leu | Val | Lys | Ile | Ile | Ser | Ala | Leu | Val | Asn | 1055 | 1060 | 1065 |
| Val | Val | Arg | Asn | His | Asp | Asp | Leu | Ile | Thr | Val | Thr | Ala | Thr | Leu | 1070 | 1075 | 1080 |
| Ala | Leu | Ile | Gly | Cys | Thr | Ser | Ser | Pro | Trp | Arg | Trp | Leu | Lys | Gln | 1085 | 1090 | 1095 |
| Lys | Val | Ser | Gln | Tyr | Tyr | Gly | Ile | Pro | Arg | Ala | Glu | Arg | Gln | Asn | 1100 | 1105 | 1110 |
| Asn | Ser | Trp | Leu | Lys | Lys | Phe | Thr | Glu | Met | Thr | Asn | Ala | Cys | Lys | 1115 | 1120 | 1125 |
| Gly | Met | Glu | Trp | Ile | Ala | Ile | Lys | Ile | Gln | Lys | Phe | Ile | Glu | Trp | 1130 | 1135 | 1140 |

# MD 4480 C1 2017.12.31

61

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|
| Leu | Lys | Val | Lys | Ile | Leu | Pro | Glu | Val | Lys | Glu | Lys | His | Glu | Phe | 1145 | 1150 | 1155 |
| Leu | Asn | Arg | Leu | Lys | Gln | Leu | Pro | Leu | Leu | Glu | Ser | Gln | Ile | Ala | 1160 | 1165 | 1170 |
| Thr | Ile | Gln | Gln | Ser | Ala | Pro | Ser | Gln | Ser | Asp | Gln | Glu | Gln | Leu | 1175 | 1180 | 1185 |
| Phe | Ser | Asn | Val | Gln | Tyr | Phe | Ala | His | Tyr | Cys | Arg | Lys | Tyr | Ala | 1190 | 1195 | 1200 |
| Pro | Leu | Tyr | Ala | Ala | Gln | Ala | Lys | Arg | Val | Phe | Ser | Leu | Glu | Lys | 1205 | 1210 | 1215 |
| Lys | Met | Ser | Asn | Tyr | Ile | Gln | Phe | Lys | Ser | Lys | Cys | Arg | Ile | Glu | 1220 | 1225 | 1230 |
| Pro | Val | Cys | Leu | Leu | Leu | His | Gly | Ser | Pro | Gly | Ala | Gly | Lys | Ser | 1235 | 1240 | 1245 |
| Val | Ala | Thr | Asn | Leu | Ile | Gly | Arg | Ser | Leu | Ala | Glu | Lys | Leu | Asn | 1250 | 1255 | 1260 |
| Ser | Ser | Val | Tyr | Ser | Leu | Pro | Pro | Asp | Pro | Asp | His | Phe | Asp | Gly | 1265 | 1270 | 1275 |
| Tyr | Lys | Gln | Gln | Ala | Val | Val | Ile | Met | Asp | Asp | Leu | Cys | Gln | Asn | 1280 | 1285 | 1290 |
| Pro | Asp | Gly | Lys | Asp | Val | Ser | Leu | Phe | Cys | Gln | Met | Val | Ser | Ser | 1295 | 1300 | 1305 |
| Val | Asp | Phe | Val | Pro | Pro | Met | Ala | Ala | Leu | Glu | Glu | Lys | Gly | Ile | 1310 | 1315 | 1320 |
| Leu | Phe | Thr | Ser | Pro | Phe | Val | Leu | Ala | Ser | Thr | Asn | Ala | Gly | Ser | 1325 | 1330 | 1335 |
| Ile | Asn | Ala | Pro | Thr | Val | Ser | Asp | Ser | Arg | Ala | Leu | Ala | Arg | Arg | 1340 | 1345 | 1350 |
| Phe | His | Phe | Asp | Met | Asn | Ile | Glu | Val | Ile | Ser | Met | Tyr | Ser | Gln | 1355 | 1360 | 1365 |
| Asn | Gly | Lys | Ile | Asn | Met | Pro | Met | Ser | Val | Lys | Thr | Cys | Asp | Glu | 1370 | 1375 | 1380 |
| Glu | Cys | Cys | Pro | Val | Asn | Phe | Lys | Arg | Cys | Cys | Pro | Leu | Val | Cys | 1385 | 1390 | 1395 |
| Gly | Lys | Ala | Met | Gln | Phe | Ile | Asp | Arg | Arg | Thr | Gln | Val | Arg | Tyr | 1400 | 1405 | 1410 |
| Ser | Leu | Asp | Met | Leu | Val | Thr | Glu | Met | Phe | Arg | Glu | Tyr | Asn | His | 1415 | 1420 | 1425 |

# MD 4480 C1 2017.12.31

62

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|
| Arg | His | Ser | Val | Gly | Ala | Thr | Leu | Glu | Ala | Leu | Phe | Gln | Gly | Pro | 1430 | 1435 | 1440 |
| Pro | Val | Tyr | Arg | Gln | Ile | Lys | Ile | Ser | Val | Ala | Pro | Glu | Thr | Pro | 1445 | 1450 | 1455 |
| Pro | Pro | Pro | Ala | Ile | Ala | Asp | Leu | Leu | Lys | Ser | Val | Asp | Ser | Glu | 1460 | 1465 | 1470 |
| Ala | Val | Arg | Gln | Tyr | Cys | Lys | Glu | Arg | Gly | Trp | Leu | Val | Pro | Glu | 1475 | 1480 | 1485 |
| Ile | Asn | Ser | Thr | Leu | Gln | Ile | Glu | Lys | His | Val | Ser | Arg | Ala | Phe | 1490 | 1495 | 1500 |
| Ile | Cys | Leu | Gln | Ala | Leu | Thr | Thr | Phe | Val | Ser | Val | Ala | Gly | Ile | 1505 | 1510 | 1515 |
| Ile | Tyr | Ile | Ile | Tyr | Lys | Leu | Phe | Ala | Gly | Phe | Gln | Gly | Ala | Tyr | 1520 | 1525 | 1530 |
| Thr | Gly | Met | Pro | Asn | Gln | Lys | Pro | Lys | Val | Pro | Thr | Leu | Arg | Gln | 1535 | 1540 | 1545 |
| Ala | Lys | Val | Gln | Gly | Pro | Ala | Phe | Glu | Phe | Ala | Val | Ala | Met | Met | 1550 | 1555 | 1560 |
| Lys | Arg | Asn | Ala | Ser | Thr | Val | Lys | Thr | Gln | Tyr | Gly | Gln | Phe | Thr | 1565 | 1570 | 1575 |
| Met | Leu | Gly | Ile | Tyr | Asp | Lys | Trp | Ala | Val | Leu | Pro | Arg | His | Ala | 1580 | 1585 | 1590 |
| Lys | Pro | Gly | Pro | Thr | Ile | Leu | Met | Asn | Asp | Gln | Gln | Val | Gly | Val | 1595 | 1600 | 1605 |
| Leu | Asp | Ala | Lys | Gln | Leu | Val | Asp | Lys | Asp | Gly | Thr | Asn | Leu | Gln | 1610 | 1615 | 1620 |
| Leu | Thr | Leu | Leu | Lys | Leu | Asn | Arg | Asn | Gln | Lys | Phe | Arg | Asp | Ile | 1625 | 1630 | 1635 |
| Arg | Gly | Phe | Leu | Ala | Arg | Gln | Gln | Val | Gln | Val | Asn | Gln | Ala | Val | 1640 | 1645 | 1650 |
| Leu | Ala | Ile | Asn | Thr | Ser | Lys | Phe | Pro | Asn | Met | Tyr | Ile | Pro | Val | 1655 | 1660 | 1665 |
| Gly | Gln | Val | Thr | Asp | Tyr | Gly | Phe | Leu | Asn | Leu | Gly | Gly | Thr | Pro | 1670 | 1675 | 1680 |
| Thr | Lys | Arg | Met | Leu | Met | Tyr | Asn | Phe | Pro | Thr | Arg | Ala | Gly | Gln | 1685 | 1690 | 1695 |
| Cys | Gly | Gly | Val | Leu | Met | Ser | Thr | Gly | Lys | Val | Leu | Gly | Ile | His | 1700 | 1705 | 1710 |

# MD 4480 C1 2017.12.31

63

|   |      |      |      |
|---|------|------|------|
| Val Gly Gly Asn Gly His Gln Gly Phe Ser Ala Ala Leu Leu Arg | 1715 | 1720 | 1725 |
| His Tyr Phe Asn Glu Glu Gln Gly Glu Ile Glu Phe Ile Glu Ser | 1730 | 1735 | 1740 |
| Ser Lys Asp Ala Gly Phe Pro Val Ile Asn Thr Pro Ser Lys Thr | 1745 | 1750 | 1755 |
| Lys Leu Glu Pro Ser Val Phe His Gln Val Phe Glu Gly Asn Lys | 1760 | 1765 | 1770 |
| Glu Pro Ala Val Leu Arg Asn Gly Asp Pro Arg Leu Lys Ala Asn | 1775 | 1780 | 1785 |
| Phe Glu Glu Ala Ile Phe Ser Lys Tyr Ile Gly Asn Val Asn Thr | 1790 | 1795 | 1800 |
| His Val Asp Glu Tyr Met Leu Glu Ala Val Asp His Tyr Ala Gly | 1805 | 1810 | 1815 |
| Gln Leu Ala Thr Leu Asp Ile Ser Thr Glu Pro Met Lys Leu Glu | 1820 | 1825 | 1830 |
| Asp Ala Val Tyr Gly Thr Glu Gly Leu Glu Ala Leu Asp Leu Thr | 1835 | 1840 | 1845 |
| Thr Ser Ala Gly Tyr Pro Tyr Val Ala Leu Gly Ile Lys Lys Arg | 1850 | 1855 | 1860 |
| Asp Ile Leu Ser Lys Lys Thr Lys Asp Leu Thr Lys Leu Lys Glu | 1865 | 1870 | 1875 |
| Cys Met Asp Lys Tyr Gly Leu Asn Leu Pro Met Val Thr Tyr Val | 1880 | 1885 | 1890 |
| Lys Asp Glu Leu Arg Ser Ala Glu Lys Val Ala Lys Gly Lys Ser | 1895 | 1900 | 1905 |
| Arg Leu Ile Glu Ala Ser Ser Leu Asn Asp Ser Val Ala Met Arg | 1910 | 1915 | 1920 |
| Gln Thr Phe Gly Asn Leu Tyr Lys Thr Phe His Leu Asn Pro Gly | 1925 | 1930 | 1935 |
| Ile Val Thr Gly Ser Ala Val Gly Cys Asp Pro Asp Val Phe Trp | 1940 | 1945 | 1950 |
| Ser Lys Ile Pro Val Met Leu Asp Gly His Leu Ile Ala Phe Asp | 1955 | 1960 | 1965 |
| Tyr Ser Gly Tyr Asp Ala Ser Leu Ser Pro Val Trp Phe Ala Cys | 1970 | 1975 | 1980 |
| Leu Lys Leu Leu Leu Glu Lys Leu Gly Tyr Thr Asn Lys Glu Thr | 1985 | 1990 | 1995 |

# MD 4480 C1 2017.12.31

64

Asn Tyr Ile Asp Tyr Leu Cys Asn Ser His His Leu Tyr Arg Asp  
2080 2085 2090

Lys His Tyr Phe Val Arg Gly Gly Met Pro Ser Gly Cys Ser Gly  
2095 2100 2105

Thr Ser Ile Phe Asn Ser Met Ile Asn Asn Ile Ile Ile Arg Thr  
2110 2115 2120

Leu Met Leu Lys Val Tyr Lys Gly Ile Asp Leu Asp Gln Phe Arg  
2125 2130 2135

Met Ile Ala Tyr Gly Asp Asp Val Ile Ala Ser Tyr Pro Trp Pro  
2140 2145 2150

Ile Asp Ala Ser Leu Leu Ala Glu Ala Gly Lys Asp Tyr Gly Leu  
2155 2160 2165

Ile Met Thr Pro Ala Asp Lys Gly Glu Cys Phe Asn Glu Val Thr  
2170 2175 2180

Trp Thr Asn Val Thr Phe Leu Lys Arg Tyr Phe Arg Ala Asp Glu  
2185 2190 2195

Gln Tyr Pro Phe Leu Val His Pro Val Met Pro Met Lys Asp Ile  
2200 2205 2210

His Glu Ser Ile Arg Trp Thr Lys Asp Pro Lys Asn Thr Gln Asp  
2215 2220 2225

His Val Arg Ser Leu Cys Leu Leu Ala Trp His Asn Gly Glu Glu  
2230 2235 2240

Glu Tyr Glu Glu Phe Ile Arg Lys Ile Arg Ser Val Pro Val Gly  
2245 2250 2255

Arg Cys Leu Thr Leu Pro Ala Phe Ser Thr Leu Arg Arg Lys Trp  
2260 2265 2270

Leu Asp Ser Phe

<210> 5  
<211> 2196  
<212> FFT  
<213> Enterovirus sp. Echo 7

<220>  
<221> incert  
<222> 16, 404, 1236  
<223> Servența aminoacidă a virusului nemodificat

<400> 5

Met Gly Ala Gln Val Ser Thr Gln Lys Thr Gly Ala His Glu Thr

# MD 4480 C1 2017.12.31

65

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |
| Kaa | Leu | Ser | Ala | Asn | Gly | Ser | Ser | Ile | Ile | His | Tyr | Thr | Asn | Ile |
|     |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |
| Asn | Tyr | Tyr | Lys | Asp | Ala | Ala | Ser | Asn | Ser | Ala | Asn | Arg | Gln | Asp |
|     |     |     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |
| Phe | Thr | Gln | Asp | Pro | Gly | Lys | Phe | Thr | Glu | Pro | Val | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |
| Met | Ile | Lys | Ser | Met | Pro | Ala | Leu | Asn | Ser | Pro | Thr | Val | Glu | Glu |
|     |     |     |     | 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |
| Cys | Gly | Tyr | Ser | Asp | Arg | Val | Arg | Ser | Ile | Thr | Leu | Gly | Asn | Ser |
|     |     |     |     | 80  |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |
| Thr | Ile | Thr | Thr | Gln | Gln | Ser | Ala | Asn | Val | Val | Val | Gly | Tyr | Gly |
|     |     |     |     | 95  |     |     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |
| Gly | Trp | Pro | Gln | Tyr | Leu | Lys | Asp | Gln | Glu | Ala | Thr | Ala | Glu | Asp |
|     |     |     |     | 110 |     |     |     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |
| Gln | Pro | Thr | Gln | Pro | Asp | Val | Ala | Thr | Cys | Arg | Phe | Tyr | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 125 |     |     |     |     | 130 |     |     |     |     | 135 |
| Glu | Ser | Val | Gln | Trp | Gln | Lys | Asn | Ser | Ala | Gly | Trp | Trp | Trp | Lys |
|     |     |     |     | 140 |     |     |     |     | 145 |     |     |     |     | 150 |
| Phe | Pro | Glu | Ala | Leu | Lys | Asp | Met | Gly | Leu | Phe | Gly | Gln | Asn | Met |
|     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |     |     |     |     | 165 |
| His | Tyr | His | Tyr | Leu | Gly | Arg | Ala | Gly | Tyr | Thr | Ile | His | Val | Gln |
|     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |     |     |     | 180 |
| Cys | Asn | Ala | Ser | Lys | Phe | His | Gln | Gly | Cys | Leu | Leu | Val | Val | Cys |
|     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |     |     | 195 |
| Val | Pro | Glu | Ala | Glu | Met | Gly | Cys | Ser | Lys | Val | Asp | Gly | Thr | Val |
|     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |     | 210 |
| Asn | Glu | Gln | Gln | Leu | Thr | Gln | Gly | Gln | Thr | Asp | Met | Lys | Leu | Glu |
|     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     | 225 |
| Pro | Thr | Arg | Thr | Thr | Gly | Val | Arg | Arg | Val | Gln | Ser | Ala | Val | Tyr |
|     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Asn | Ala | Gly | Met | Gly | Val | Gly | Val | Gly | Asn | Leu | Thr | Ile | Phe | Pro |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |
| His | Gln | Trp | Ile | Asn | Leu | Arg | Thr | Asn | Asn | Cys | Ala | Thr | Ile | Val |
|     |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |
| Met | Pro | Tyr | Ile | Asn | Ser | Val | Pro | Met | Asp | Asn | Met | Phe | Arg | His |
|     |     |     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |
| Tyr | Asn | Phe | Thr | Leu | Met | Met | Ile | Pro | Phe | Ala | Pro | Leu | Asp | Tyr |

# MD 4480 C1 2017.12.31

66

|                     |                 |                         |     |  |     |
|---------------------|-----------------|-------------------------|-----|--|-----|
|                     | 290             |                         | 295 |  | 300 |
| Thr Asn Glu Ala Ser | Thr Tyr Val Pro | Ile Thr Val Thr Ile Ala |     |  |     |
| 305                 |                 | 310                     |     |  | 315 |
| Pro Met Cys Ala Glu | Tyr Asn Gly Leu | Arg Leu Val Thr Ser Glu |     |  |     |
| 320                 |                 | 325                     |     |  | 330 |
| Gly Leu Pro Val Met | Asn Thr Pro Gly | Ser Asn Gln Phe Leu Thr |     |  |     |
| 335                 |                 | 340                     |     |  | 345 |
| Ser Asp Asp Phe Glu | Ser Pro Ser Ala | Met Pro Gln Phe Asp Val |     |  |     |
| 350                 |                 | 355                     |     |  | 360 |
| Thr Pro Asp Met Asp | Ile Pro Gly Glu | Val Asn Asn Leu Met Glu |     |  |     |
| 365                 |                 | 370                     |     |  | 375 |
| Ile Ala Glu Val Asp | Ser Val Val Pro | Val Asn Asn Asn Glu Ala |     |  |     |
| 380                 |                 | 385                     |     |  | 390 |
| Asn Leu Lys Ser Met | Asp Ala Tyr Arg | Ile Pro Val Asn Xaa Gly |     |  |     |
| 395                 |                 | 400                     |     |  | 405 |
| Asn Gln Gln Gly Glu | Lys Ile Phe Gly | Phe Gln Ile Gln Pro Gly |     |  |     |
| 410                 |                 | 415                     |     |  | 420 |
| Leu Asp Ser Val Phe | Lys Arg Thr Leu | Leu Gly Glu Met Leu Asn |     |  |     |
| 425                 |                 | 430                     |     |  | 435 |
| Tyr Tyr Thr His Trp | Ser Gly Ser Ile | Lys Leu Thr Phe Met Phe |     |  |     |
| 440                 |                 | 445                     |     |  | 450 |
| Cys Gly Ser Ala Met | Ala Thr Gly Lys | Leu Leu Leu Ala Tyr Ser |     |  |     |
| 455                 |                 | 460                     |     |  | 465 |
| Pro Pro Gly Ala Asp | Val Pro Thr Ser | Arg Lys Glu Ala Met Leu |     |  |     |
| 470                 |                 | 475                     |     |  | 480 |
| Gly Thr His Val Ile | Trp Asp Phe Gly | Leu Gln Ser Ser Cys Val |     |  |     |
| 485                 |                 | 490                     |     |  | 495 |
| Leu Cys Val Pro Trp | Ile Ser Gln Thr | His Tyr Arg Leu Val Gln |     |  |     |
| 500                 |                 | 505                     |     |  | 510 |
| Gln Asp Glu Tyr Thr | Gly Ala Gly Tyr | Ile Thr Cys Trp Tyr Glu |     |  |     |
| 515                 |                 | 520                     |     |  | 525 |
| Thr Ser Ile Val Val | Pro Pro Gly Thr | Pro Lys Lys Cys Val Ile |     |  |     |
| 530                 |                 | 535                     |     |  | 540 |
| Leu Cys Phe Val Ser | Ala Cys Asn Asp | Phe Ser Val Ser Met Leu |     |  |     |
| 545                 |                 | 550                     |     |  | 555 |
| Ser Asp Thr Pro Phe | Ile Gly Gln Thr | Ala Leu Leu Gln Ser Pro |     |  |     |
| 560                 |                 | 565                     |     |  | 570 |
| Val Glu Glu Ala Glu | Gln Asn Ala Val | Ala Arg Val Ala Asp Thr |     |  |     |

# MD 4480 C1 2017.12.31

67

|                 | 575                 | 580                     | 585     |
|-----------------|---------------------|-------------------------|---------|
| Ile Ala Ser Gly | Pro Ser Asn Ser Glu | Ser Val Pro Ala Leu Thr | 590 600 |
| Ala Val Glu Thr | Gly His Thr Ser Gln | Val Val Pro Ser Asp Thr | 605 615 |
| Met Glu Thr Arg | His Val Lys Asn Tyr | His Ser Arg Ser Glu Ser | 620 630 |
| Thr Ile Glu Asn | Phe Leu Ser Arg Ser | Ala Cys Val Tyr Ile Glu | 635 645 |
| Glu Tyr Tyr Thr | Asn Thr Glu Thr Arg | Gln Asn Leu Tyr Met Leu | 650 660 |
| Pro Thr Ile Asn | Thr Arg Trp Met Val | Gln Leu Arg Arg Lys Phe | 665 675 |
| Glu Met Phe Thr | Tyr Met Arg Phe Asp | Met Glu Ile Thr Phe Val | 680 690 |
| Ile Thr Ser Arg | Gln Leu His Arg Thr | Ser Met Pro Gln Asp Met | 695 705 |
| Pro Val Leu Thr | His Gln Ile Met Tyr | Val Pro Pro Gly Gly Pro | 710 720 |
| Val Pro Asn Ser | Val Asp Asp Tyr Ala | Trp Gln Thr Ser Thr Asn | 725 735 |
| Pro Ser Val Phe | Trp Thr Glu Gly Asn | Ala Pro Pro Arg Met Ser | 740 750 |
| Ile Pro Phe Ile | Ser Ile Gly Asn Ala | Tyr Ser Asn Phe Tyr Asp | 755 765 |
| Gly Ser Ser His | Phe Leu Gln Tyr Gly | Val Tyr Gly Tyr Asn Thr | 770 780 |
| Leu Asn Asn Met | Gly Lys Leu Tyr Val | Arg His Val Asn Asn His | 785 795 |
| Thr Pro Tyr Gln | Met Thr Ser Thr Val | Ser Val Tyr Phe Lys Pro | 800 810 |
| Lys His Val Arg | Ala Trp Val Pro Arg | Pro Pro Arg Leu Cys Pro | 815 825 |
| Tyr Lys Asn Ala | Trp Asn Val Asn Phe | Glu Pro Thr Asn Val Thr | 830 840 |
| Asp Ser Arg Ser | Ser Ile Thr Tyr Ile | Pro Glu Thr Val Lys Pro | 845 855 |
| Asp Leu Ser Lys | Ala Gly Ala Phe Gly | His Gln Ser Gly Ala Val |         |



# MD 4480 C1 2017.12.31

69

|   |      |      |
|---|------|------|
| 1145  | 1150 | 1155 |
| Ser Thr Asp Tyr Asn Asn Tyr His Ser Trp Lys Ser Gln Ile Ala<br>1160 | 1165 | 1170 |
| Thr Ile Glu Gln Ser Ala Pro Ser Gln Ser Asp Gln Glu Gln Leu<br>1175 | 1180 | 1185 |
| Phe Ser Asn Val Glu Tyr Phe Ala His Tyr Cys Arg Lys Tyr Ala<br>1190 | 1195 | 1200 |
| Pro Leu Tyr Ala Ala Glu Ala Lys Arg Val Phe Ser Leu Glu Lys<br>1205 | 1210 | 1215 |
| Lys Met Ser Asn Tyr Ile Gln Phe Lys Ser Lys Cys Arg Ile Glu<br>1220 | 1225 | 1230 |
| Pro Val Cys Leu Leu Asn His Gly Ser Pro Gly Ala Gly Lys Ser<br>1235 | 1240 | 1245 |
| Val Ala Thr Asn Leu Ile Gly Arg Ser Leu Ala Glu Lys Leu Asn<br>1250 | 1255 | 1260 |
| Ser Ser Val Tyr Ser Leu Pro Pro Asp Pro Asp His Phe Asp Gly<br>1265 | 1270 | 1275 |
| Tyr Lys Gln Gln Ala Val Val Ile Met Asp Asp Leu Cys Gln Asn<br>1280 | 1285 | 1290 |
| Pro Asp Gly Lys Asp Val Ser Leu Phe Cys Gln Met Val Ser Ser<br>1295 | 1300 | 1305 |
| Val Asp Phe Val Pro Pro Met Ala Ala Leu Glu Glu Lys Gly Ile<br>1310 | 1315 | 1320 |
| Leu Phe Thr Ser Pro Phe Val Leu Ala Ser Thr Asn Ala Gly Ser<br>1325 | 1330 | 1335 |
| Ile Asn Ala Pro Thr Val Ser Asp Ser Arg Ala Leu Ala Arg Arg<br>1340 | 1345 | 1350 |
| Phe His Phe Asp Met Asn Ile Glu Val Ile Ser Met Tyr Ser Gln<br>1355 | 1360 | 1365 |
| Asn Gly Lys Ile Asn Met Pro Met Ser Val Lys Thr Cys Asp Glu<br>1370 | 1375 | 1380 |
| Glu Cys Cys Pro Val Asn Phe Lys Arg Cys Cys Pro Leu Val Cys<br>1385 | 1390 | 1395 |
| Gly Lys Ala Met Gln Phe Ile Asp Arg Arg Thr Gln Val Arg Tyr<br>1400 | 1405 | 1410 |
| Ser Leu Asp Met Leu Val Thr Glu Met Phe Arg Glu Tyr Asn His<br>1415 | 1420 | 1425 |
| Arg His Ser Val Gly Ala Thr Leu Glu Ala Leu Phe Gln Gly Pro         |      |      |

# MD 4480 C1 2017.12.31

70

|   |      |  |      |  |      |
|---|------|--|------|--|------|
|   | 1430 |  | 1435 |  | 1440 |
| Pro Val Tyr Arg Glu Ile Lys Ile Ser Val Ala Pro Glu Thr Pro | 1445 |  | 1450 |  | 1455 |
| Pro Pro Pro Ala Ile Ala Asp Leu Leu Lys Ser Val Asp Ser Glu | 1460 |  | 1465 |  | 1470 |
| Ala Val Arg Glu Tyr Cys Lys Glu Lys Gly Trp Leu Val Pro Glu | 1475 |  | 1480 |  | 1485 |
| Ile Asn Ser Thr Leu Gln Ile Glu Lys His Val Ser Arg Ala Phe | 1490 |  | 1495 |  | 1500 |
| Ile Cys Leu Gln Ala Leu Thr Thr Phe Val Ser Val Ala Gly Ile | 1505 |  | 1510 |  | 1515 |
| Ile Tyr Ile Ile Tyr Lys Leu Phe Ala Gly Phe Gln Gly Ala Tyr | 1520 |  | 1525 |  | 1530 |
| Thr Gly Met Pro Asn Gln Lys Pro Lys Val Pro Thr Leu Arg Gln | 1535 |  | 1540 |  | 1545 |
| Ala Lys Val Gln Gly Pro Ala Phe Glu Phe Ala Val Ala Met Met | 1550 |  | 1555 |  | 1560 |
| Lys Arg Asn Ser Ser Thr Val Lys Thr Glu Tyr Gly Glu Phe Thr | 1565 |  | 1570 |  | 1575 |
| Met Leu Gly Ile Tyr Asp Arg Trp Ala Val Leu Pro Arg His Ala | 1580 |  | 1585 |  | 1590 |
| Lys Pro Gly Pro Thr Ile Leu Met Asn Asp Gln Glu Val Gly Val | 1595 |  | 1600 |  | 1605 |
| Leu Asp Ala Lys Glu Leu Val Asp Lys Asp Gly Thr Asn Leu Glu | 1610 |  | 1615 |  | 1620 |
| Leu Thr Leu Leu Lys Leu Asn Ser Asn Glu Lys Phe Arg Asp Ile | 1625 |  | 1630 |  | 1635 |
| Arg Gly Phe Leu Ala Lys Glu Glu Val Glu Val Asn Glu Ala Val | 1640 |  | 1645 |  | 1650 |
| Leu Ala Ile Asn Thr Ser Lys Phe Pro Asn Met Tyr Ile Pro Val | 1655 |  | 1660 |  | 1665 |
| Gly Glu Val Thr Asp Tyr Gly Phe Leu Asn Leu Gly Gly Thr Pro | 1670 |  | 1675 |  | 1680 |
| Thr Lys Arg Met Leu Met Tyr Asn Phe Pro Thr Arg Ala Gly Gln | 1685 |  | 1690 |  | 1695 |
| Cys Gly Gly Val Leu Met Ser Thr Gly Lys Val Leu Gly Ile His | 1700 |  | 1705 |  | 1710 |
| Val Gly Gly Asn Gly His Gln Gly Phe Ser Ala Ala Leu Leu Lys |      |  |      |  |      |

# MD 4480 C1 2017.12.31

71

|   |   |  |      |  |      |
|---|---|--|------|--|------|
|   | 1715                                    |  | 1720 |  | 1725 |
| His Tyr Phe Asn Asp   | Glu Gln Gly Glu Ile Glu Phe Ile Glu Ser |  |      |  |      |
|   | 1730                                    |  | 1735 |  | 1740 |
| Ser Lys Asp Ala Gly Phe Pro Ile Ile Asn Thr Pro Ser Lys Thr |   |  |      |  |      |
|   | 1745                                    |  | 1750 |  | 1755 |
| Lys Leu Glu Pro Ser Val Phe His Gln Cys Leu Lys Ala Thr Lys |   |  |      |  |      |
|   | 1760                                    |  | 1765 |  | 1770 |
| Asn Pro Ala Val Leu Arg Asn Gly Asp Pro Arg Leu Lys Ala Asn |   |  |      |  |      |
|   | 1775                                    |  | 1780 |  | 1785 |
| Phe Glu Glu Ala Ile Phe Ser Lys Tyr Ile Gly Asn Val Asn Thr |   |  |      |  |      |
|   | 1790                                    |  | 1795 |  | 1800 |
| His Val Asp Glu Tyr Met Leu Glu Ala Val Asp His Tyr Ala Gly |   |  |      |  |      |
|   | 1805                                    |  | 1810 |  | 1815 |
| Gln Leu Ala Thr Leu Asp Ile Ser Thr Glu Pro Met Lys Leu Glu |   |  |      |  |      |
|   | 1820                                    |  | 1825 |  | 1830 |
| Asp Ala Val Tyr Gly Thr Glu Gly Leu Glu Ala Leu Asp Leu Thr |   |  |      |  |      |
|   | 1835                                    |  | 1840 |  | 1845 |
| Thr Ser Ala Gly Tyr Pro Tyr Val Ala Leu Gly Ile Lys Lys Arg |   |  |      |  |      |
|   | 1850                                    |  | 1855 |  | 1860 |
| Asp Ile Leu Ser Lys Lys Thr Arg Asp Leu Thr Lys Leu Lys Glu |   |  |      |  |      |
|   | 1865                                    |  | 1870 |  | 1875 |
| Cys Met Asp Lys Tyr Gly Leu Asn Leu Pro Met Val Thr Tyr Val |   |  |      |  |      |
|   | 1880                                    |  | 1885 |  | 1890 |
| Lys Asp Glu Leu Arg Ser Ala Glu Lys Val Ala Lys Gly Lys Ser |   |  |      |  |      |
|   | 1895                                    |  | 1900 |  | 1905 |
| Arg Leu Ile Glu Ala Ser Ser Leu Asn Asp Ser Val Ala Met Arg |   |  |      |  |      |
|   | 1910                                    |  | 1915 |  | 1920 |
| Gln Thr Phe Gly Asn Leu Tyr Lys Thr Phe His Leu Asn Pro Gly |   |  |      |  |      |
|   | 1925                                    |  | 1930 |  | 1935 |
| Ile Val Thr Gly Ser Ala Val Gly Cys Asp Pro Asp Leu Phe Trp |   |  |      |  |      |
|   | 1940                                    |  | 1945 |  | 1950 |
| Ser Lys Ile Pro Val Met Leu Asp Gly His Leu Ile Ala Phe Asp |   |  |      |  |      |
|   | 1955                                    |  | 1960 |  | 1965 |
| Tyr Ser Gly Tyr Asp Ala Ser Leu Ser Pro Val Trp Phe Ala Cys |   |  |      |  |      |
|   | 1970                                    |  | 1975 |  | 1980 |
| Leu Lys Leu Leu Leu Glu Lys Leu Gly Tyr Thr His Lys Glu Thr |   |  |      |  |      |
|   | 1985                                    |  | 1990 |  | 1995 |
| Asn Tyr Ile Asp Tyr Leu Cys Asn Ser His His Leu Tyr Arg Asp |   |  |      |  |      |

# MD 4480 C1 2017.12.31

72

|   |      |  |      |  |      |
|---|------|--|------|--|------|
|   | 2000 |  | 2005 |  | 2010 |
| Lys His Tyr Phe Val Arg Gly Gly Met Pro Ser Gly Cys Ser Gly | 2015 |  | 2020 |  | 2025 |
| Thr Ser Ile Phe Asn Ser Met Ile Asn Asn Ile Ile Ile Arg Thr | 2030 |  | 2035 |  | 2040 |
| Leu Met Leu Lys Val Tyr Lys Gly Ile Asp Leu Asp Gln Phe Arg | 2045 |  | 2050 |  | 2055 |
| Ile Ile Ala Tyr Gly Asp Asp Val Ile Ala Ser Tyr Pro Trp Pro | 2060 |  | 2065 |  | 2070 |
| Ile Asp Ala Ser Leu Leu Ala Glu Ala Gly Lys Asp Tyr Gly Leu | 2075 |  | 2080 |  | 2085 |
| Ile Met Thr Pro Ala Asp Lys Gly Glu Cys Phe Asn Glu Val Asn | 2090 |  | 2095 |  | 2100 |
| Trp Thr Asn Val Thr Phe Leu Lys Arg Tyr Phe Arg Ala Asp Glu | 2105 |  | 2110 |  | 2115 |
| Gln Tyr Pro Phe Leu Val His Pro Val Met Pro Met Lys Asp Ile | 2120 |  | 2125 |  | 2130 |
| His Glu Ser Ile Arg Trp Thr Lys Asp Pro Lys Asn Thr Gln Asp | 2135 |  | 2140 |  | 2145 |
| His Val Arg Ser Leu Cys Leu Leu Ala Trp His Asn Gly Glu His | 2150 |  | 2155 |  | 2160 |
| Glu Tyr Glu Glu Phe Ile Arg Lys Ile Arg Lys Arg Ala Ser Trp | 2165 |  | 2170 |  | 2175 |
| Thr Leu Phe Asp Pro Thr Cys Val Phe Asn Pro Ala Gln Glu Val | 2180 |  | 2185 |  | 2190 |
| Val Gly Leu Leu Leu Lys                                     | 2195 |  |      |  |      |

<210> 6  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> Secvența artificială

<220>  
 <223> Primer Eo7-1F

<400> 6

ttaaaacagc ctgtgggttg 20

# MD 4480 C1 2017.12.31

73

<210> 7  
<211> 22  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-1R

<400> 7

gaaccangga cacccaaat ag 22

<210> 8  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-2F

<400> 8

ccatgggag cttcaatact 20

<210> 9  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-2R

<400> 9

gcaccagctct cttgtctcga 20

<210> 10  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-3F

<400> 10

cgactacttt ggggtgtccgt gtttc 25

<210> 11

# MD 4480 C1 2017.12.31

74

<211> 23  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-3R

<400> 11

tcdggraagt cacaccaca ccc 23

<210> 12  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-4F

<400> 12

cgaccgggtg agetccctaa 20

<210> 13  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-4R

<400> 13

tttcaccctt cgtgaggttc 20

<210> 14  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-5F

<400> 14

goatcyaart tycaycargg 20

<210> 15  
<211> 20

# MD 4480 C1 2017.12.31

75

<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-5E

<400> 15

cacatkggkq caatsgtgac 20

<210> 15  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-6F

<400> 15

gtggatcaac ttgcgcaata 20

<210> 17  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-6R

<400> 17

aaattgtggc atagccgaag 20

<210> 18  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-7F

<400> 18

gtcccaattg cmccmatgtg 20

<210> 19  
<211> 23  
<212> ADN

# MD 4480 C1 2017.12.31

76

<213> Secvența artificială

<220>

<221> incert

<222> 4

<223> Primer Eo7-7R

<400> 19

cttnatrcxy cctgaccagt gtg 23

<210> 20

<211> 20

<212> ADN

<213> Secvența artificială

<220>

<223> Primer Eo7-8F

<400> 20

segcctgggc gctatcaca 20

<210> 21

<211> 20

<212> ADN

<213> Secvența artificială

<220>

<223> Primer Eo7-8R

<400> 21

getatggggt cccacattgc 20

<210> 22

<211> 23

<212> ADN

<213> Secvența artificială

<220>

<221> incert

<222> 20

<223> Primer Eo7-9F

<400> 22

cacactggtc aggragyats aag 23

# MD 4480 C1 2017.12.31

77

<210> 23  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-10F

<400> 23

caagtgtgtc gtctctgtgat 20

<210> 24  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-9R

<400> 24

cctattggcg ctgtcttgat 20

<210> 25  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-11F

<400> 25

accacagatc agacacgggc 20

<210> 26  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-11R

<400> 26

ctggcaccnc cactctgata 20

<210> 27

# MD 4480 C1 2017.12.31

78

<211> 29  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-12F

<400> 27

accagtcggg cgctgtttac 20

<210> 28  
<211> 23  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-12R

<400> 28

tcccayacac atttytgcca gtc 23

<210> 29  
<211> 23  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-13F

<400> 29

ccrasytgty tgtgggcaqa cta 23

<210> 30  
<211> 27  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-13R

<400> 30

acctgytca tkgtttatc ytcyarc 27

<210> 31  
<211> 20

# MD 4480 C1 2017.12.31

79

<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-14F

<400> 31

ttaccacagtc acotttcgagg 20

<210> 32  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-14R

<400> 32

tgttttttctt tcacttcagg 20

<210> 33  
<211> 27  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<221> incert  
<222> 16  
<223> Primer Eo7-15F

<400> 33

gtttrgargat gatgcgatgg arcargg 27

<210> 34  
<211> 23  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-15R

<400> 34

kcaatccggy rtttgawctt gaa 23

<210> 35

# MD 4480 C1 2017.12.31

80

<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-16F

<400> 35

ccctyrttagg ovgygarggc 20

<210> 36  
<211> 23  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-17F

<400> 36

ktcaagwacc aayrcogtat tga 23

<210> 37  
<211> 23  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-16R

<400> 37

seytgeatgg cctthocaca cac 23

<210> 38  
<211> 23  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<221> incert  
<223> 21  
<223> Primer Eo7-18F

<400> 38

ctdgtgtgtg graagcoyat nca 23

# MD 4480 C1 2017.12.31

81

<210> 39  
<211> 23  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Ep7-18R

<400> 39

tatgctccyt gaaacccctgc aas 23

<210> 40  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Ep7-19F

<400> 40

caagccntaa ccacgtttgt 20

<210> 41  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Ep7-19R

<400> 41

accogtagtc agtcacctgg 20

<210> 42  
<211> 23  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Ep7-20F

<400> 42

tttgccggmt tycarggwc ata 23

<210> 43

# MD 4480 C1 2017.12.31

82

<211> 23  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Ec7-20K

<400> 43

gcycwtggtg graagtrta cat 23

<210> 44  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Ec7-21F

<400> 44

gtgttggatg cceaggaact 20

<210> 45  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Ec7-21R

<400> 45

atgggctcag atctgatgtc 20

<210> 46  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Ec7-22F

<400> 46

ctcccccacws grgcaggcca rtgygg 26

<210> 47  
<211> 23

# MD 4480 C1 2017.12.31

83

<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-22R

<400> 47

ctccaaaaba ertcygggtc rca 23

<210> 48  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-23F

<400> 48

tgaaggaatg catggacaaa 20

<210> 49  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-23R

<400> 49

atgggtattg ctcatctgcc 20

<210> 50  
<211> 23  
<212> ADN  
<213> Secvența artificială

<220>  
<223> Primer Eo7-24F

<400> 50

tgygaccorg aysvttttg gag 23

<210> 51  
<211> 22  
<212> ADN

# MD 4480 C1 2017.12.31

84

<213> Secvența artificială

<220>

<223> Primer Eo7-24R

<400> 51

tortgdatdt cyttcatggg ca 22

<210> 52

<211> 20

<212> ADN

<213> Secvența artificială

<220>

<223> Primer Eo7-25F

<400> 52

oatgganqaa tgtgaccttt 20

<210> 53

<211> 20

<212> ADN

<213> Secvența artificială

<220>

<223> Primer Eo7-25R

<400> 53

oootacnqca cttttatcca 20

<210> 54

<211> 23

<212> ADN

<213> Secvența artificială

<220>

<223> Primer Eo7-26F

<400> 54

atccaygart cbatyagrtg gac 23

<210> 55

<211> 24

<212> ADN

<213> Secvența artificială

# MD 4480 C1 2017.12.31

85

<220>

<223> Primer Ep7-26R

<400> 55

ccgcaccgac tcgggagcat ttac 24

**RAPORT DE DOCUMENTARE**

|   |  |                             |
|---|--|-----------------------------|
| I. Datele de identificare a cererii   |  |                             |
| (21) Nr. depozit: a 2016 0014   | (32) Data de prioritate recunoscută: 2013.07.16  |                             |
| (22) Data depozit: 2014.07.16   | Raport de documentare internațională: <input checked="" type="checkbox"/> da                     |                             |
| (71) Solicitant: <b>DITESAN LTD., LV</b>  |  |                             |
| (54) <b>Titlul: Virus ARN oncolitic stabil genetic, metodă de producere și de utilizare a acestuia</b>  |  |                             |
| II. Clasificarea obiectului invenției:  |  |                             |
| (51) <b>Int.Cl: A61K 35/76 (2006.01)</b><br><b>C12N 7/00 (2006.01)</b><br><b>A61P 35/00 (2006.01)</b>   |  |                             |
| III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)   |  |                             |
| <b>MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta): Int.Cl: A61K 35/76 (2006.01)</b><br><b>C12N 7/00 (2006.01)</b><br><b>A61P 35/00 (2006.01)</b><br><b>ECHO 7, virus ARN, enterovirus</b> |  |                             |
| <b>"Worldwide" (Espacenet): Int.Cl: A61K 35/76 (2006.01)</b><br><b>C12N 7/00 (2006.01)</b><br><b>A61P 35/00 (2006.01)</b><br><b>ECHO 7, RNA virus, enterovirus</b>  |  |                             |
| <b>EA, CIS (Eapatis): Int.Cl: A61K 35/76 (2006.01)</b><br><b>C12N 7/00 (2006.01)</b><br><b>A61P 35/00 (2006.01)</b><br><b>ECHO 7, РНК вирус, энтеровирус</b>  |  |                             |
| <b>SU (nonpublic): Int.Cl: A61K 35/76 (2006.01)</b><br><b>C12N 7/00 (2006.01)</b><br><b>A61P 35/00 (2006.01)</b><br><b>ECHO 7, РНК вирус, энтеровирус</b>   |  |                             |
| IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate  |  |                             |
| 1. Ferdat A.K. mechanism of immunomodulation in the anti-tumour effect of the ECHO – 7 Enterovirus. Eksperimental NAA oncologia – experimental oncology. Kiev, 1989.01.01, p. 43-48   |  |                             |
| 2. Chua B.H. et al. Comparison of the complete nucleotide sequences of echovirus 7 strain UMMC and the prototype (Wallace)strain demonstrates significant genetic drift over time. J. of General Virology, vol. 82, nr. 11, 2001.11, p. 2629-2639 |  |                             |
| V. Documente considerate a fi relevante   |  |                             |
| Categoria*  | Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente | Numărul revendicării vizate |

|   |   |    |
|---|---|----|
| A | Ferdat A.K. mechanism of immunomodulation in the anti-tumour effect of the ECHO - 7 Enterovirus. Eksperimental NAA oncologia - experimental oncology. Kiev, 1989.01.01, p. 43-48  | 14 |
| A | Chua B.H. et al. Comparison of the complete nucleotide sequences of echovirus 7 strain UMMC and the prototype (Wallace) strain demonstrates significant genetic drift over time. J. of General Virology, vol. 82, nr. 11, 2001.11, p. 2629-2639 | 14 |
| A | EP 1537872 A1 2005.06.08  | 14 |

**\* categoriile speciale ale documentelor citate:**

|  |  |
|--|--|
| <b>A</b> – document care definește stadiul anterior general  | <b>T</b> – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidența principiul sau teoria pe care se bazează invenția |
| <b>X</b> – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur                    | <b>E</b> – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată   |
| <b>Y</b> – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie | <b>D</b> – document menționat în descrierea cererii de brevet  |
| <b>O</b> - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare   | <b>C</b> – document considerat ca cea mai apropiată soluție  |
|  | <b>&amp;</b> – document, care face parte din aceeași familie de brevete  |
| <b>P</b> - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate  | <b>L</b> – document citat cu alte scopuri  |

|                               |             |
|-------------------------------|-------------|
| Data finalizării documentării | 2017.01.25  |
| Examinator                    | GROSU Petru |