



MD 4480 B1 2017.05.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4480** (13) **B1**
(51) Int.Cl: *A61K 35/76* (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2016 0014 (22) Data depozit: 2014.07.16 (31) Nr.: 13176757.6 (32) Data: 2013.07.16 (33) Țara: EP (41) Data publicării cererii: 2016.07.31, BOPI nr. 7/2016	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2017.05.31, BOPI nr. 5/2017 (85) 2016.02.15 (86) PCT/EP2014/065277, 2014.07.16 (87) WO 2015/007788 A1, 2015.01.22
(71) Solicitant: DITESAN LTD., LV (72) Inventatori: VENSKUS Dite, LV; KALVINS Ivars, LV; PJANOVA Dace, LV; PETROVSKA Ramona, LV; AUZINS Jurgis, LV (73) Titular: DITESAN LTD., LV (74) Mandatar autorizat: GLAZUNOV Nicolae	

(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 B1 2017.05.31

(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 nouă 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 gendicine 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 dezvăluire 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

10 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

15 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;
Seq ID No 54: Primer Eo7- 26F; Seq ID NO 55: Primer Eo7-26R.
- 55

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 3×10^5 TCID₅₀/0,03 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, TCID ₅₀ /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 monofilar 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 TCID₅₀ = 1×10^{-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 reproduc în linii celulare tumorale, atenuate cu un agent anticanceros. În această etapă a fost utilizată o linie celulară de adenocarcinom mamar uman (MCF-7).

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.

30

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 μ 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 finaliza 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 TCID₅₀/1 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 rhabdiosarcom 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 administrău 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 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 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).

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% CO₂ 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 10 ori.

- 45 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, 100 UI/ml de streptomycină) la 37°C într-o atmosferă conținând 5% CO₂, 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 cm³ 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 reproduș în mod repetat în cultura de fibroblaste embrionare umane până la titrul de 7 lg TCID₅₀/1 ml.

Virusul modificat era reproduș 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 reproduș în cultură celulară de fibroblaste embrionare umane fără adaos de ribavirină.

Mostra cu virus reproduș 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
- 35
- 40
- 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	TTTCACCCCTTCGTGAGGTTC	20	1381-1400	VP2
Eo7-5F	GCATCYAARTTYCAYCARGG	20	1289-1308	VP2
Eo7-5R	CACATKGGKGCAATSGTGAC	20	1676-1695	VP2

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	CAAGTGTGTCGTCTGTGCT	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	ACCAGTCCGGTGCTGTTTAC	20	3336-3355	VP1-2A
Eo7-12R	TCCCAAYACACARTTYTGCCAGTC	23	3401-3423	2A
Eo7-13F	CARAAYTGTGTGTGGGAAGACTA	23	3407-3429	2A
Eo7-13R	CCCTGYTCCATKGCTTCATCYTCYARC	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	CCTYTRTAYGCVGCGYARGC	20	4343-4362	2C
Eo7-17F	TTCAAGWSCAAAYRCCGTATTGA	23	4409-4431	2C
Eo7-16R	AAYTGAATGGCCTTHCCACACAC	23	4922-4944	2C
Eo7-18F	CTDGTGTGTGGRAAGGCYATNCA	23	4919-4941	2C
Eo7-18R	TATGCTCCYTGRAARCCTGCAAA	23	5309-5330	3A-3B
Eo7-19F	CAAGCCCTAACCACGTTTGT	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	GTGTTGGATGCCAAGGAAGT	20	5555-5574	3C
Eo7-21R	ATGGGCTCCGATCTGATGTC	20	6203-6222	3D
Eo7-22F	TTCCCCACWAGRGAGGCCARTGYGG	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	TGYGACCCRGAYSTVTTTGGAG	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).

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.

În 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 În 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 substituii 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 În 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 rabdomiosarcom 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 injectare cu VM în doză de 15×10^6 TCID₅₀ 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 2×10^6 TCID₅₀/ml - 2×10^8 TCID₅₀/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 Intr-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 Intr-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 întrerupt din cauza efectelor adverse.

35 Din octombrie 2010 s-a început terapia cu preparat viral în doza de 2 ml cu titrul de 2×10^6 TCID₅₀/ml – 2×10^8 TCID₅₀/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 2×10^6 TCID₅₀/ml – 2×10^8 TCID₅₀/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 2×10^6 TCID₅₀/ml - 2×10^8 TCID₅₀/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 limfogranulomatoză.

Preparatul viral (2 ml, cu titrul 2×10^6 TCID₅₀/ml - 2×10^8 TCID₅₀/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 2×10^6 TCID₅₀/ml - 2×10^8 TCID₅₀/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 2×10^6 TCID₅₀/ml - 2×10^8 TCID₅₀/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.

Preparatul poate fi administrat prin injectare 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 injectare se repetă, conform schemei de terapie planificate.

30

Descrierea se publică în redacția solicitantului.

(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

(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 sân 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 Secție Examinare:

LEVIȚCHI Svetlana

Examinator:

GROSU Petru

Redactor:

LOZOVANU Maria

Compararea genomurilor virusului nemodificat (nativ) și
virusului modificat

N: Virusul nemodificat (nativ)

M: Virusul modificat

```

1                                     50
N TTAAACAGC CTGTGGGTTG TTCCACCCA CAGGGCCCAC TGGGCGCTAG
M .....
51                                     100
N CACACTGGTA TCACGGTACC TTTGTGCGCC TGTTTTATAT CCCCCTCCCC
M ..... C.....C. T.....
101                                     150
N ACTGTAACTT AGAGAAATCA CATAAACGAT CAATAGAAGG CCGAGCACAC
M .....AG...G. ....G. ...C...TA. .T...T....
151                                     200
N CAGCTGAGTC TTGACCAAGC ACTTCTGTTT CCCCGGACTG AGTATCAATA
M ..A.....C. CC.....A .....C. ....A.....
201                                     250
N GACTGCTCAC GCGGTTGAAG GAGAAAACGT TGGTTACCGG GCCAACTACT
M .G.....G. ....C......T.....T....
251                                     300
N TCGAGAAACC TAGTACCACC ATGAAAGTTG CGCAGTGTTT CGCTCAGCAC
M .....G.... ....C.... ....C....
301                                     350
N AACCCCAAGT TAGATCAGGT CGATGAGTCA CCGCATTCCC CACGGGCGAC
M .....C.....
351                                     400
N CGTGGCGGTG GCTGCGTTGG CCGCCTGCTT ATGGGGCAAC CCATGGGACG
M .....C....
401                                     450
N CTTCAATACT GACATGGTGC GAAGAGTCTA TTGAGCTAGT TGGTAGTCCT
M .....A.....
451                                     500
N CCGGCCCCCTG AATGGCGCTA ATCCTAACTG CCGAGCAAGT GCCCACAAC
M .....G.....
501                                     550
N CAGTGGGTAG CTTGTGCTAA CGGSCAACTC TGCAGCGGAA CCGACTACTT
M .....G. ....T...C. ....
551                                     600
N TGGGTGTCCG TGTTTCTTTT TATCTTATT CTGGCTGCTT ATGGTGACAA
M .....
601                                     650
N TTGAGAGATT GTTACCATAT AGCTATTGGA TTGGCCATCC GGTGACTAAC
M .....R.....R..T .....G....
651                                     700
N AGAGCAATTA TATACCTCTT TGTTCGATT ATACCACTTA ATTCCACTAA
M .....C. ...T.....G .....G
701                                     750
N TTACAACACT CTGCTACACA TTATTACTT AAAACCAAGA AGATGGGAGC
M .....T. ....G... ..TA.....
751                                     800
N ACAAGTATCA ACACAAAAAA CTGGTGCACA TGAGACCSGT TTGAGCGCTA
M .....G. ....G. ....C.....
801                                     850
N ACGGAAGCTC CATCATTCAC TACACCAACA TCAATTACTA CAAAGATGCA
M .....CA... T......T.....C.....

```

```

      851
N GCATCCAACT CAGCCAACAG GCAAGACTTC ACCCAAGATC CAGGCAAATT      900
M .....G..T... ..G.... ..T..G..
      901
N CACCGAACCG GTCAAGGATA TCATGATCAA GTCAATGCCC GCCCTAAACT      950
M ...T..... ..G.....
      951
N CACCGACCGT GGAGGAGTGT GGGTACAGTG ATAGGGTGAG ATCCATAACG      1000
M .....T...C .....C .....C .....C.....
      1001
N CTCGGCAACT CAACCATTC CACTCAGGAG AGTCCAAATG TAGTTGTTTC      1050
M .....A..A .....C.....
      1051
N CTATGGCGGG TGGCCAGAGT ACTTGAAAGA TGAAGAAGCT ACTGCGGAAG      1100
M .....A.....
      1101
N ATCAACCAAC ACAACCCGAT GTAGCCACAT GCAGGTTTTA CACGCTGGAA      1150
M ....G..... ..R.....C.. ..T.....
      1151
N TCCGTCCAGT GGGAGAAAAA TTCCGCTGGA TGGTGGTGGG AGTTCCTCGA      1200
M .....AG.....
      1201
N AGCACTTAAG GACATGGGDC TCTTTGGTCA AAACATGCAT TACCACTACC      1250
M .....G.....T. ....T.
      1251
N TCGGTAGAGC AGGCTACACT ATACACGTGC AGTGCAATGC ATCCAAATTC      1300
M .....T.... ..C.. ..T
      1301
N CACCAAGGCT GTCTACTTGT TGTCTGTGTA CCTGAGGCTG AGATGGGGTG      1350
M ..T..G.... ..A.....
      1351
N TTCCAAAGTG GACGGTACTG TAAATGAGCA GGAATTGACG GAGGGTGAAG      1400
M ....C.GAC. ...AAAGAG. .TGC..C.AT .A.CC.C... A.....
      1401
N CGGATATGAA GCTTGAAACC ACCAGAACCA CAGGCGTACG CCGAGTGCAA      1450
M ...CGCAC.. .T.....A ....A..... ..GC.A .AC.....
      1451
N TCCGCAGTGT ACAACGCGGG TATGGGCGTC GGCCTGGGGA ACCTCACCAT      1500
M ...AT..... G.....A..
      1501
N CTTCCTCAC CAGTGGATCA ACCTGCGCAC TAACAACTGT GCTACAATTG      1550
M ..A..... ..T..... ..T.....C
      1551
N TGATGCCATA CATAAATAGT GTACCCATGG ATAACATGTT TAGGCACTAC      1600
M .....G.. T.....TCA .....
      1601
N AACTTCACGC TAATGATGAT CCCATTGCA CCCCTGGATT ACACCAACCA      1650
M ..T..... ..G..... ..ATGC...
      1651
N AGCATCTACG TACGTACCTA TAACTGTCAC AATAGCACCA ATGTGTGCTG      1700
M .....GA. ....G .....C.....A.
      1701
N AATACAATGG TTTGAGGCTC GTTACCTCGC AAGGGTTGCC AGTGATGAAC      1750
M .....A.....G .C.TA.CA.. ..C.... ..C.A..T
      1751
N ACACCGGGGA GCAATCAGTT CCTGACATCG GATGACTTTC AATCACCTTC      1800
M .....TA..... ..T.... ..C.....
      1801
N GGCTATGCCA CAATTTGATG TGACTCCAGA CATGGACATC CCAGGTGAAG      1850
M .....GC.....

```

```

1851
N TGAACAACCT CATGGASATT GCAGAGGTTG ACTCGSTGGT ACCTGTTAAC
M ..C..... ..A.... .T.....
1901
N AACAAATGAGG CCAATCTGAA AAGCATGGAC GCATACCGCA TACCGGTGAA
M ....C..C.. .....C. ....T.A.. ..GA.....
1951
N CRCAGGAAAT CAACAAGGTG AAAAGATATT TGGTTTCCAA ATACAACCCG
M ..... ..C..... C.C.....G .....
2001
N GCCTTGATTC AGTGTTTAAG AGAACACTGC TAGGTGAGAT GCTCAATTAT
M ....G..... .....AG. ....
2051
N TACACGCACT GGTCAAGGAG CATTAAAGCTA ACAATTATGT TTTGTGGTTC
M ...G..... .....C.CA. ....
2101
N AGCAATGGCC ACGGGCAAAAT TACTCTTAGC ATACTCACCA CCTGGCCGCC
M .....GC .....C... .....
2151
N ATGTACCGAC TAGCAGAAAG GAGGCAATGC TGGGAACCCA TGTCATCTGG
M .....G. ....C....A .....A.....
2201
N GACTTTGGGC TCCAATCCAG TTGTGTTCTG TGTGTTCCAT GGATCAGCCA
M .....A.... ....C.....A ...A.....T..
2251
N GACACACTAC AGGTTGGTGC AGCAGGATGA GTACACCGGC GCCGGCTATA
M .....T..T C.CC.A.... .A..... .A.. ..A..G
2301
N TCACCTGCTG GTACCAAACA AGTATAGTGG TTCCACCCGG CACACCCAAA
M .....T..G... G..... ..C
2351
N AAGTGTSTCA TCCTGTGCTT TGTGTCAGCG TGTAAATGATT TCTCCGTGAG
M .....G .....C.....C. ....C.
2401
N CATGCTGAGT GACACACCAT TCATCGGCCA AACAGCACTG CTGCAGAGCC
M .....C.. .....A..... ..A..AG.TG
2451
N CTGTGGAAGA AGCTGAAGAG AACGCAGTTG CACGTGTGGC TGACACAATT
M A.AC...C.T G..C.TCA.C ..T....A. .CA.G..A.. ...T.....
2501
N GCCAGTGGGC CCAGCAACTC CGAGAGCGTT CCTGCACTAA CAGCAGTTGA
M ..... .ACT...A.. .....C.....
2551
N GACTGGGCAC ACATCACAGG TAGTGCCTAG TGACACAATG CAAACAAGGC
M ..... ..A..... .T.....C...
2601
N ATGTGAAGAA CTACCATTCG AGATCTGAGT CAACAATAGA GAACCTCCTT
M ....A..... C.....A. ....
2651
N AGCAGGTCCG CCTGTGTGTA TATTGAAGAG TACTATACCA ACACTGAAAC
M ...C....G. ....A.. ....T.....AGA.C..G.
2701
N CAGACAAAT TTATACATGT TGCCCACTAT AAATACTAGA TGGATGGTGC
M ...CGCC... AGG..... CATGG.....G.....A.....
2751
N AATTGAGGAG AAAGTTTGAG ATGTTACAT ACATGAGGTT TGACATGGAA
M .....C. ....A C.....C....T.....G
2801
N ATCACATTTG TTATCACTAG TAGACAACTG CATCSAACTA GCATGCCGCA
M ..... .C.G.G.... ..CG....

```

```

2851                                     2900
N GGACATGCCG GTACTGACAC ACCAAATCAT GTATGTACCA CCTGGTGGTC
M A..... CC..... ..A....C .....
2901                                     2950
N CAGTACCAAA CAGTGTGGAC GATTACGCAT GGCAAACTTC GACTAACCCA
M .....AC. ....TT.... .....T...
2951                                     3000
N AGTGTCTTTT GGACTGAGGG CAATGCCCCA CCGCGTATGT CCATACCATT
M ...A..... .....C .....
3001                                     3050
N CATAAGCATA GGAATGTCAT ACAGCAACTT TTATGATGGG TCCTGGCACT
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 CCATACCAAA TGACCAGTAC
M .....C.. .....AG..... ..G....G. ..T.....
3151                                     3200
N GGTTAGTGTG TACTTTAAAC CCAAACATGT CAGAGCGTGG GTGCCGAGAC
M .A..C..... .....A. ....T.... ....A....
3201                                     3250
N CACCACGTCT 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 TTTATGTGGG TAACTACAGA GTGGTGAATA GGCACCTGGC CACGCACAAC
M ....C..... ..T..... A.A.....C. ....
3401                                     3450
N GACTGGCAAA ACTGTGTGTG GGAAGACTAC AACAGAGACC TCCTTGTGAG
M .....
3451                                     3500
N CACCACCACA GCCCATGGGT GTGACACCAT AGCCAGATGC CAGTGCACAA
M .....T... .....T.. .....T .....G
3501                                     3550
N CAGGCGTGTA CTTTGTGTC TCAAGGAACA AACACTACCC AGTCACCTTT
M .....A.. T..... .....T.....C
3551                                     3600
N GAGGGGCCAG GCCTGGTGGT AGTTCAGGAG AGTGAGTACT ACCCAAAAAG
M .....T..... .....C.....
3601                                     3650
N ATACCAATCC CATGTGCTTC TAGCTGCAGG ATTTTCTGAA CCAGGCGATT
M .Y.T..G... ..C..... ..G.....
3651                                     3700
N GTGGTGGAAAT CCTCAGGTGT GAACATGGTG TCATCGGTAT CGTCACCATG
M ....C..... .....A... C....C..C. .G.....
3701                                     3750
N GGTGGAGAGG GGGTCGTGG GTTTGCCGAC GTCCGAGACC TACTGTGGTT
M .....
3751                                     3800
N AGAGGATGAT GCCATGGAAC AGGGCGTAAG AGACTATGTT GAACAACTAG
M .....
3801                                     3850
N GAAATGCTTT TGGCTCAGGT TTCACCAACC AAATTTGTGA ACAAGTCAAC
M .....C..... .....T. ....G.....

```

```

3851                                     3900
N CTCCTCAAAG AGTCACTGGT TGGACAGGAC TCCATTCTGG AGAAATCCCT
M .....T.... .....T ..T..... .A.....
3901                                     3950
N TAAAGCCCTA GTTAAGATTA TCTCAGCACT GGTCAATTGTA GTGAGAAATC
M ...G..T... .....R.....
3951                                     4000
N ACGATGACCT CATCACAGTG ACTGCCACTC TAGCCCTCAT TGGTTGCACC
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 ATGGAGTGGT TAGCCATCAA AATTCAAAAA
M .....C.. .....A.. .....G
4151                                     4200
N TTTATTGAGT 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 GCCACCATAG AACAAAGTGC ACCATCGCAG AGTGACCAGG AGCAACTGTT
M ..A..... .G..G..... ....T..A. ....C..
4301                                     4350
N TTCCAATGTC CAGTACTTCG CCCACTATTG CAGAAAGTAT GCGCCACTGT
M C.....C... .....T..... .....T...
4351                                     4400
N ATGCAGCTGA GCGAAAGAGA GTGTTCTCCC TTGAGAGAA AATGAGCAAT
M .C..T..C.. A..G..... .....A. ....C
4401                                     4450
N TACATACAGT TCAAGTCCAA ATGCCGTATT GAGCCTGTAT GTTGTCTCNT
M .....C..A...C.
4451                                     4500
N ACATGGGCAGC CCAGGGGCCC 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 GCGGTGCTGA 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 ATTCTGTTCA CCTCCCCGTT TGTCTGGCA TCAACCAATG CTGGGTCCAT
M ..C..A..T. ....GT..... ..C.....
4751                                     4800
N CAATGCACCA ACTGTGTCAG ACAGCAGAGC CCTCGCTAGG AGATTCCACT
M .....C .....T. ....G.....
4801                                     4850
N TTGACATGAA CATTGAAGTC ATTTCCATGT ACAGTCAAAA TGGCAAGATC
M .....T....C.....

```

	4851				4900
N	AACATGCCCCA	TGTCAGTTAA	GACGTGTGAT	GAAGAGTGT	GTCCAGTCAA
M			A..A.....		T..
	4901				4950
N	CTTCAAGAGG	TGCTGCCCGC	TGGTGTGTGG	AAAGGCCATG	CAGTTCATTG
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	CCACCACTCT	ACAGAGAGAT	CAAAATTAGT	GTCCCAACCAG
M				C..C	C....
	5101				5150
N	AGACACCACC	ACCACCGCT	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	CTGGAATAAT	ATACATTATT
M	.A.....C..			T.....	
	5301				5350
N	TACAAGCTAT	TTGCAGGTTT	CCAAGGCCCA	TACACAGGGA	TGCCCCAACC
M	AT...		C		
	5351				5400
N	GAAACCCAAG	GTGCCACCCC	TGAGACAAGC	CAAAGTGCAA	GGCCACGCGT
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	CTTGATGAAT	GACCAGGAAG
M	...G.....	G....	C.....		..T.....
	5551				5600
N	TCGGCGTGTT	GGATGCCAAG	GAAGTAGTGG	ATAAGGATGG	GACAAAUCTA
M			T.	A.....	T...
	5601				5650
N	GAAGTGACAC	TCCTGAAGCT	CAACAGTAAT	GAGAASTTCA	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	TACCAAGTGG	CCAGGTGACT
M	T.....	...A.....T			
	5751				5800
N	GACTACGGGT	TCCTGACCT	GGGTGGGACG	CCCACTAAGA	GAATGCTCAT
M		.T.....	...A.....T	G....	
	5801				5850
N	GTACRACTTC	CCCACTAGAG	CAGGTCAGTG	TGGTGGTGTG	CTCATGTCCA
M	...T.....	..A.....		...A.....	A.

```

5851                                5900
N CTGGGAAAGT CCTGGGGATA CATGTTGGTG GGAATGGTCA TCAAGGGTTC
M .A..... .A... .A..A. ....A.. .....
5901                                5950
N TCAGCAGCAC TCCTCAAGCA CTACTTCAAC GATGAACAAG GTGAARTAGA
M .....G.... .G.... .G..G..G. ....
5951                                6000
N GTTCATTGAG AGCTCAAAGG ACGCGGGGTT CCTATCATC AACACACCCA
M A..... .A... .G.G... .T....
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 TGTGGAAGC TGTGGACCAT TATGCAGGAC AACTGGCTAC
M .....G.... ..... .A....
6201                                6250
N TCTGGACATC AGCACGGAAC CAATGAAGCT GGAGGATGCC GTGTATGGTA
M ..... .T.....G. .C..... A....C... .....
6251                                6300
N CAGAGGGGCT GGAAGCACTA 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 GATGSGCCTA AACCTGCCAA
M .....G.... A..... .TT.....
6401                                6450
N TGGTAACCTA TGTGAAAGAT 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 TTTGGAARAC TGTACAAAC CTTCCACCTC 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 TGTGGATGG ACATCTCATA GCTTTTGATT ACTCAGGCTA
M ..C..T..T. ..C.T.... .C. .T.....
6651                                6700
N TGATGCTAGC CTCAGCCAG TGTGGTTTGC ATGTCTGAAA CTGCTCCTAG
M ...C..... .T.... .T.....
6701                                6750
N AGAAGCTTGG GTACACACAC AAGGAACAA ACTACATAGA TTACCTCTGC
M ....A..A.. .T..A.. .....T
6751                                6800
N AACTCCCACC AACTGTACAG AGACAAACAC TACTTTGTGC GAGGTGGTAT
M ..T.....T. ....T.. .G....AA ....C....
6801                                6850
N GCCATCAGGG TGTCTGSCA CCAGCATCTT TAACTCAATG ATTARCAACA
M .....A.... .A... .T..C....

```

```

6851                                     6900
N TCATAATCAG GACACTCATG CTGAAAGTGT ACAAGGGCAT TGA CT TGGAC
M .....T.....G..T..T..A.....T.....
6901                                     6950
N CAATTCAGCA 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 GGAGAGTGCT TCAATGAAGT CAACTGGACG
M .....C...C...C.....C..G..A.C.....
7051                                     7100
N AATGTCACCT TCCTGAAAAG GTACTTTAGA GCAGATGAGC AATACCCATT
M .....G....T.....G.....
7101                                     7150
N CCTGGTCCAC CCTGTTATGC CCATGAAAGA CATCCATGAA TCTATTAGAT
M T.....T.....A....G..G.....G.....
7151                                     7200
N GGACCAAAGA TCCAAAGAAC ACCCAAGATC ATGTGCGCTC GCTGTGCCTA
M .....C.....A..G....
7201                                     7250
N TTGGCTTGGC ACAATGGGGA GCACGAATAT GAGGAGTTCA TTCGCAAAT
M .....C.....A.....T.....G..
7251                                     7300
N CAGAAAGCGT GCCAGTTGGA CGCTGTTTGA CCCTACCTGC 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 AATTTGAATT GGCTTAACCC TACCGCACTA ACCGAAGTAG ATAACGGTGC
M ...CAT....TG.....T....AA....
7401                                     7437
N GGTAGGGGTA AATTCTCCGC ATTCGGTGCG GTCGAGG
M .....-.....

```

Identitatea secvenței: 90,3%

Fig. 1

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	MIKSMFALNS	PTVEECGYSD	RVRKSITLGNS	TITTQESANV
M			.SA.....	L.....	
	101				150
N	VVGYGQWPEY	LKDEEATAED	QPTQPDVATC	RFYTLESVQW	EKNSAGWWK
M	R.....				
	151				200
N	FPEALKDMGL	FGQNMHYHYL	GPAGYTIRVQ	CHASKFRQGC	LLVVCVPEAE
M		L.....			
	201				250
N	MGCSKVDGTV	NEQELTEGET	EMKLEPTRTT	GVRKVDQSAVY	NAGMGVGVGN
M	QT.KE.	AAMN..K...	AM.F...K..	.GHT...I.C	I.....
	251				300
N	LTIFPHQWIN	LRTWNCATIV	MPYINGVEMD	NMFRHYNFTL	MMIPFAPLDY
M	...Y.....				.V.....
	301				350
N	TNQASTYVPI	TVTIAPMCAE	YNGRLRLVTSQ	GLPVMNTPGS	NQFLTSDDFQ
M	NA...E...V		AYQ.	L.....	...M.....
	351				400
N	SPSAMPQFDV	TFMDIPGEV	NNLMEIAEVD	SVVFPVNNNEA	NLKSMDAYRI
M		..H.....	H.....	TA.	..Q.....H.
	401				450
N	PVNXGNQOGE	KIFGFQIQPC	LDSVFKRTLL	GEMLNYYTHW	SGSIKLTFMF
M	E.....H...	...A.....		..V....A..	T.
	451				500
N	CGSAMATGKL	LLAYSPPGAD	VFTSRKEAML	GTHVIWDFGL	QSSCVLCVPW
M			..A...Q..M	...I...L..	I..
	501				550
N	ISQTHYRLVQ	QDEYTGAGYI	TCWYQTSIVV	PPGTPKRCVI	LCFVSACNDF
M		S..NV	G...	N...V	
	551				600
N	SVSMLSDTFP	IGQTALLQSP	VEEAENAVA	RVADTIASGP	SNSESVPALT
M	..R..R....	T...GD	TDV.VN....		...T.I....
	601				650
N	AVETGHTSQV	VPSDTMQTRH	VKNYHRSSES	TIENFLERSA	CVYIEEYYTN
M		E.....			FTK
	651				700
N	TETRONLYML	PTINTRWVQ	LREKFEMFTY	MRFDMEITFV	ITSRLHRTS
M	DQDSA.R..S	W...ARR...	L...		PG..
	701				750
N	MPQDMFVLTH	QIMYVPPGGP	VPNSVDDYAW	QTSTNPSVFW	TEGNAPPRMS
M	IA....P...	I.....	T.F..	I..	
	751				800
N	IEFTISIGNAY	SNFYDGSSHF	LQYGVYGYNT	LNMNGKLYVE	HVNMHTPYQM
M		W...	S.N.....A	A.	...KD.....
	801				850
N	TSTVSVYFKP	KHVRAWVRP	PRLCFYKNW	NVNFEPNTVT	DSPSSITYIF
M	S..IR.....	..I.V.....	IKSS	D...L.	V.

	851				900
N	ETVKPDLSKA	GAFGHQSGAV	YVGNRYVVNR	HLATHNDWQN	CVWEDYNRDL
M	D.IR.EVRT.	.K.....	I...		
	901				950
N	LVSTTTAHGC	DTIAPCQCTT	GVYFCASRNK	HYFVTFEGPG	LVEVQESEYY
M		A			
	951				1000
N	PKRYQSHVLL	AAGFSEPGDC	GGILRCENG	IGIVTMGGEG	VVGFDVDRDL
M	...X.....	Q...			
	1001				1050
N	LWLEDDAMEQ	GVRDYVEQLG	NAFGSGFTNQ	ICEQVNLLKE	SLVGQDSILE
M					
	1051				1100
N	KSLKALVKII	SALVIVVRNH	DOLITVTATL	ALIGCTSSPW	RWLKQKVSQY
M		...X.....			
	1101				1150
N	YGIPMAERON	NGWLKKPTM	TNACKGMEWI	AIKIQKFIEW	LKVKIYQKCR
M	R.....	.S.....			LPEVK
	1151				1200
N	KNMSSSTDYN	NYHSWKSQIA	TIEQSAPSQS	DQEQLFSNVQ	YFAHYCRKYA
M	EKHEFLNRLK	QLPILLE...			
	1201				1250
N	PLYAAEAKRV	FSLEKEMSNI	IQFKSKCRIE	PVCLLXHGSP	GAGKSVATNL
M				L....	
	1251				1300
N	IGRSLAEKLN	SSVYSLPPDP	DHFDGYKQQA	VVIMDDLCQN	PDGKDVSLFC
M					
	1301				1350
N	QMVSSVDFVP	PMAALEEKG	LFTSPFVLAS	TNAGSINAPT	VSDSRALAPP
M					
	1351				1400
N	FHFDNMIEVI	SMYSQNGKIN	MPMSVKTCDE	ECCPVNFKRC	CPLVCGKAMQ
M					
	1401				1450
N	FIDRRTQVRY	SLDMLVTEMF	REYNHRHSVG	ATLEALFOGP	FVYREIKISV
M					
	1451				1500
N	APETPPPPAI	ADLLKSVDSE	AVREYCKEKG	WLVPEINSTL	QIEKHVSRAF
M			R.		
	1501				1550
N	ICLQALTTFV	SVAGIYYIYY	KLFAGFGGAY	TGMPNQKPKV	PTLRQAKVOG
M					
	1551				1600
N	FAFEFAVAMM	KRNSSTVKTE	YGEFTMLGIY	DRWAVLPRHA	KPGPTILMND
M		...A.....		...K.....	
	1601				1650
N	QEVGVLEAKE	LVDKDGNTLE	LTLLKLNSNE	KFRDIRGFLA	KEEVEVNEAV
M			R..		
	1651				1700
N	LAINTSKFPN	MYIPVGQVTD	YGFLNLGGTP	TKRMLMYNFP	TRAGQCGGVL
M					
	1701				1750
N	MSTGKVLGIH	VGGNGHQGFS	AALLKHYFND	EQGEIEFIES	SKDAGFPIIN
M			R....E		V..
	1751				1800
N	TPSKTKLEFS	VFHQCLKATK	NPAVLNRGDP	RLKANFEEAI	FSKYIGNVNT
M		VFEGN.	E.....		
	1801				1850
N	HYDEYMLEAV	DHYAGQLATL	DISTEPMKLE	DAVYGTEGLE	ALDLTTSAGY
M					

```

1851                                     1900
N PYVALGIKKR DILSKKTRDL TKLKECMDKY GLNLPMVTYV KDELRSAEKV
M .....K.. .....
1901                                     1950
N AKGESRLIEA SSLNDSVAMR QTFGNLYKTF HLNPGIVTGS AVGCDDPLFW
M .....V..
1951                                     2000
N SKIPVMLDGH LIAFDYSGYD ASLSPVWFAC LKLLLEKLGY THKETNYIDY
M .....N.....
2001                                     2050
N LCNSHHLYRD KHYFVRGGMP SGCSGTSIFN SMINNIIRT LMLKVYKGID
M .....
2051                                     2100
N LDQFRIIAYG DDVIASYPWP IDASLLAEAG KDYGLIMTPA DKGECEFNEVN
M .....M.... .....T
2101                                     2150
N WTNVTFLKRY FRADEQYFFL VHFVMPMKDI NESIRWTKDP KNTQDHVRSI
M .....
2151                                     2196
N CLLAWNGER EYEEFIRKIR KRASWTLFDP TCVFNPAQEV VGLLLK
M .....Q .....SVPVGRCLTL PAFSTLRKRW LDSF--

```

Identitatea secvenței: 91%

Fig. 2

Lista secvențelor

<110> BIA Latima
 <120> Virus ARN oncolitic stabil genetic, metodă de producere
 și de utilizare a acestuia
 <140> EPI3176757
 <141> 2013-07-16
 <160> SS
 <210> 1
 <211> 7427
 <212> ARN
 <213> Enterovirus sp. Echo 7
 <220>
 <221> CDS
 <222> (743)-(7327)
 <223> Virus modificat
 <400> 1
 uuaaaacagc cugugggguug uucccaaccc caggggccac uggggcgcuag 50
 cacacuggua ucacgguacc cugugcgcc cguuuuauuc uccccuaccc 100
 acuguaacuu agaagaauga cauaaacggu caacagauag cucaguacac 150
 caacugagcc ccgaccacgc acuuucugua ccccgagccg aguaacaaua 200
 ggcugcucgc gggcgugaag gugaaaacgu ucguuacccc gccaaauacu 250
 ucgagaaacc uaguaccacc augaaggguug ccgagcguuu cgcuccgcac 300
 caccccagug aagaaacggu cgaugagucc ccgcacucc cccgggcgac 350
 cguggcgguug gcugcgcuug cggcucgccc auggggcaac ccaugggacg 400
 cuucaauacu gacauggguc gaagagucua uugagcuauu ugguaquccu 450
 cgggcccccug aaugcggcua auccuaacug cggggcaagu gccacaaaac 500
 cagugggguug cuugucguua cggguaaacc ugcagcggaa ccgacuacuu 550
 uggguguccg uguuuccuuu uauucuuuu cuggcugcuu augguagaaa 600
 uugagagauu guurccauu agcuauugga uuggcrcucu ggugaguuac 650
 agagcaauca uauucucuu uguuggauu auaccacug auuccacuag 700
 uuaaacacu cugcuacaua uuaauugcuu aaauacaaga ag aug gga gca 751
 Met Gly Ala
 1

MD 4480 B1 2017.05.31

26

caa gaa ucg aca caa aag acg 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 auc auu cac uau acc aac auc aac uac uac aac 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 gaa uuc acc cag gaa cca ggu	895
Ala Ala Ser Asn Ser Ala Asn Arg Gln Asp Phe Thr Gln Asp Pro Gly	
40 45 50	
aag uuc acg gaa ccg gac aag gaa auc aug auc aac 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 ggc gag gag ugc ggg uac agc gac agg gug aga	991
Leu Asn Ser Pro Ser Ala Glu Glu Cys Gly Tyr Ser Asp Arg Val Arg	
70 75 80	
ucc caa acc cuc ggc aac uca acc auu acc acg 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 ggc agg ugg cca gag uac uug aac 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 acg ggc gaa gau cag cca aca caa ccc gaa gaa gcc acg ugc agg	1135
Ala Thr Ala Glu Asp Gln Pro Thr Gln Pro Asp Val Ala Thr Cys Arg	
120 125 130	
auc uac acc uug gaa ucc gac cag ugg gag aac aac agc 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 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 ggc uac acg 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 aac uuu cau cag ggc 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 gcu gag aug ggg ugu ucc cag acc gac aac gag guu gcu	1375
Val Pro Glu Ala Glu Met Gly Cys Ser Gln Thr Asp Lys Glu Val Ala	
200 205 210	
ggg aug aac cuc acc aag ggu gaa acc ggc cac aag uuu gaa cca acc	1423
Ala Met Asn Leu Thr Lys Gly Glu Thr Ala His Lys Phe Glu Pro Thr	
215 220 225	
aaa acc aca ggc ggc cac aca gug caa ucc aua gug ugc aac ggc ggu	1471

MD 4480 B1 2017.05.31

27

Lys Thr Thr Gly Gly His Thr Val Gln Ser Ile Val Cys Asn Ala Gly	
230 235 240	
aug ggc auc ggc ggg ggg aac cuc acc auc uac ccc 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 cgc acv asu aac ugc gcu acc auu gug aug ccg uau eua sau	1567
Asn Leu Arg Thr Asn Asn Cys Ala Thr Ile Val Met Pro Tyr Ile Asn	
260 265 270 275	
uce gue ccc aug gau aac aug uuu agg cac uac aau uuc acg 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 acv guc aca suu 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 cag cea ggg cug cca gug cua aau acc ccg ggc	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 ucg gau gau uuu caa ucc ccu ucg 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 acv ccg cac aug gac auc cca 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 acv gca gas guu gau ucg 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	
acu ggc gcc 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 gaa aag aua auc gcu uuc cag aua 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 uca ggg uuu aag aga aca ccg cua ggu 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 aag cua aca uuc acc uuu ugu	2095
Tyr Tyr Ala His Trp Ser Gly Ser Ile Lys Leu Thr Phe Thr Phe Cys	
440 445 450	
ggv uca gca aug 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	

MD 4480 B1 2017.05.31

28

455					460					465						
ggc	goc	gau	gae	cgg	gou	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	uac	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	acc	ugc	ugg	uuu	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	cug	ugc	uuu	gug	uac	ggc	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	cgc	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	cua	caa	ggc	gau	acg	gac	gug	gcc	guc	aac	cau	gca	gua	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	agg	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	gua	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	gcc	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	gcc	cau	agg	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	aug	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	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	Glu	Ile	Thr	Phe	Val	Ile	
				680					685					690		

MD 4480 B1 2017.05.31

29

acc	agu	aga	caa	cug	ccu	ggg	acu	agc	auc	ggg	caa	gac	aug	ccg	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	acc	aug	uau	aua	ccc	ccu	ggg	ggg	cca	guc	cca	aac	2911
Leu	Thr	His	Gln	Ile	Met	Tyr	Ile	Pro	Pro	Gly	Gly	Pro	Val	Pro	Asn	
			710				715					720				
agu	gug	acc	gau	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	uau	gac	ggr	ugg	ucg	cac	uuu	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	gcc	cgc	cau	gug	aac	aaa	gac	aca	ccg	uac	cag	aug	ucc	agu	scg	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	auu	aaa	ucc	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	cua	acu	gau	uca	aga	uca	agu	aua	aca	uuu	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			
ggu	gcu	guu	uac	gug	ggg	aau	uac	aga	aua	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	aga	gac	3439
Thr	His	Asn	Asp	Trp	Gln	Asn	Cys	Val	Trp	Gln	Asp	Tyr	Asn	Arg	Asp	
			885			890					895					
cuc	cuc	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	

ugc cag ugc aca 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 cuu 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 gcc gau ugu ggc gga auc cuc aga ugu caa cac gcc		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 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		
980	985 990 995	
gac guc age gac cua cug ugg uua gag gaa gau gcc aug gaa cag gcc		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 gaa caa cua gga aaU gcu uuc gcc uca ggu uuc		3823
Val Arg Asp Tyr Val Glu Gln Leu Gly Asn Ala Phe Gly Ser Gly Phe		
1015	1020 1025	
acc aaU caa uuU ugu gaa ccg guc aac cuc cuc aaa gag ucc 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 aaU ccg gaa aaa ucc cuu 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 cug guc rou gua gug aga aaU cac gau gau cuc aaU 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 aaU ggu ugc acc ucu 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 aaU ccc agg gcc gag		4063
Trp Leu Lys Gln Lys Val Ser Glu Tyr Tyr Gly Ile Pro Arg Ala Glu		
1095	1100 1105	
cga caa aac aaU ago 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 aaU gcc aaU 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 B1 2017.05.31

31

Trp	Leu	Lys	Val	Lys	Ile	Leu	Pro	Glu	Val	Lys	Glu	Lys	His	Glu	Phe		
1140						1145					1150					1155	
cuc	sac	agg	cua	aag	caa	uaa	cca	cuc	cua	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		
auc	gag	cag	agu	gac	cca	ucg	cag	agu	gau	caa	gag	caa	cuc	uuc	ucc	4303	
Ile	Glu	Gln	Ser	Ala	Pro	Ser	Gln	Ser	Asp	Gln	Glu	Gln	Gln	Leu	Phe	Ser	
				1175					1180						1185		
aac	guc	cag	uac	uuc	guc	cau	uau	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				
gcc	gcc	gaa	gcg	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	ugu	auu	gag	ccu	gaa	ugc	uaa	cuc	4447	
Tyr	Ile	Gln	Phe	Lys	Ser	Lys	Cys	Arg	Ile	Glu	Pro	Val	Cys	Leu	Leu		
1220					1225						1230				1235		
cua	cau	ggc	egc	cca	ggg	gcc	gga	aag	ucc	gug	goc	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	uoc	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	gcg	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	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	ucc	agc	gug	gac	uuu	gua	cca	ccg	aug	gcu	gcg	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	gca	ucc	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	gcg	cuc	4783	
Asn	Ala	Gly	Ser	Ile													

MD 4480 B1 2017.05.31

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 aug cua 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 acu 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 ccc cca cca cca gcu			5119
Arg Glu Ile Lys Ile Ser Val Ala Pro Glu Thr Pro Pro Pro Ala			
1445	1450	1455	
auu gcu gau uua cug aaa uca gug gac agu gaa gcu gug agg gaa 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 aau ucu acc cua caa			5215
Cys Lys Glu Arg Gly Trp Leu Val Pro Glu Ile Asn Ser Thr Leu Gln			
1480	1485	1490	
aau 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 aau uua uu			5311
Thr Phe Val Ser Val Ala Gly Ile Ile Tyr Ile Ile Tyr Lys Leu Phe			
1510	1515	1520	
gca ggu uuc caa gcc 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 gua cag gcc 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 gcc aug aag aaa agg aac gcc aga aca gua 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 cuu gcc auu uac gac aag ugg gcg gug uua ccg			5503
Gly Glu Phe Thr Met Leu Gly Ile Tyr Asp Lys Trp Ala Val Leu Pro			
1575	1580	1585	
cgc cac gcc aag ccu gcc 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 B1 2017.05.31

33

```

ggc gug uug gau gcc aag gaa cua guu gau aaa gau ggg aca sau cua 5599
Gly Val Leu Asp Ala Lys Glu Leu Val Asp Lys Asp Gly Thr Asn Leu
1605 1610 1615

gaa uug acu cuc cuq aag cuc aac ugu aac gaa aag uuc age gau acu 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 aau gaa gcu guc cua 5695
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 acu gac uac ggg uuu cuq aac cuq gga ggg acu ccc acg aag aga 5751
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 cuq gga aua cau gaa gga ggg sau 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 gga uuc ccu 5983
Gln Gly Glu Ile Glu Phe Ile Glu Ser Ser Lys Asp Ala Gly Phe Pro
1735 1740 1745

gug acu 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 ggc 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 cga cuc aaa 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 gaa gau gag uac aug uug gag guu gug gac 6175
Gly Asn Val Asn Thr His Val Asp Glu Tyr Met Leu Glu Ala Val Asp
1800 1805 1810

cau uac gca gga caa cua gcu acu cuq gac auc agu acg gag ccc aug 6223
His Tyr Ala Gly Gln Leu Ala Thr Leu Asp Ile Ser Thr Glu Pro Met
1815 1820 1825

```

MD 4480 B1 2017.05.31

34

aag	cua	gag	gac	gcc	gug	uau	ggg	aca	gag	ggg	cug	gaa	gca	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	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	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	
ugc	aug	gac	aaa	uau	ggc	cua	aau	uug	cca	aug	gua	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	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	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	cuc	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	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	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	agg	acu	cuc	aug	cug	aag	guu	uau	asa	ggc	auu	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	auu	gcc	uau	ggg	gau	gau	gug	auc	guu	ucc	uau	6943

MD 4480 B1 2017.05.31

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

ggc uuc 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 agc 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 cau 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 ccu 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 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 auc aga agc gug 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

aaauagagca aaauagaa acauaaauug gcuuaaccuu accgcaugaa 7377

ccgaacuaaa aaaaagugcg guagggguua auucuccgca uacggugcgg 7427

```

```

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

```

```

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

```

```

<400>      2

```

```

uuaaaacagc cugugggguug uuuccaccca cagggccac ugggagcuag 50

```

MD 4480 B1 2017.05.31

36

cacacuggua	ucacgguaac	uuugugcgcc	uguuuuuuuu	ccccuucccc	100
acuguaacuu	agagaaauca	cauaaagau	caauagaagg	cgcagacac	150
cagougaguc	uugaccaagc	acuuucuguu	ccccggacug	aguaucuaa	200
gacugucuc	gggguugag	gagaaaaau	ucguuacccg	gucacucuc	250
ucgagaaacc	uaguaccacc	augaaagug	cgcaguguu	cgcucagcac	300
aaacccagug	uagaucaggu	cgaugagucc	ccgcauuccc	cacgggagac	350
cugggcgug	gcugcgugg	cggccugccu	auggggcaac	cacugggag	400
cuaaauacu	gacuggguc	gaagagucua	uugagcuagu	ugguagucuu	450
ccggcccccug	aaugcgguca	auccuaucug	cggagcaagu	gcccacaaac	500
caguggguag	cuugucguua	cgggcaacuc	ugcagcgga	ccgaucucuu	550
uggguguccg	uguuuccuuu	uaauuuuuu	cuggucuguu	auggugacaa	600
uugagaguu	guuaccuuu	agcuauugga	uugcccaacc	ggugacuaac	650
agagcauua	uaauccucuu	uguuggaauu	auccacucug	auccacucug	700
uuacaaacu	cugcuacaca	uuauuuuuu	aaacccaaga	ag aug gga gca	751
				Met Gly Ala	
				1	
caa gua uca acc 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 gga agc ucc acc auu cac uac acc aac auc aau uac uac aaa 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 gcc	895				
Ala Ala Ser Asn Ser Ala Asn Arg Gln Asp Phe Thr Gln Asp Pro Gly					
40 45 50					
aaa uuc acc gaa ccg guc aag gau auc aug auc asg 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 gug gag gag ugu ggg uac agu gao 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					
gua guu guu ggc uau ggc ggg ugg cca gag uac uug aaa gau gaa gaa	1087				
Val Val Val Gly Tyr Gly Gly Trp Pro Glu Tyr Leu Lys Asp Glu Glu					

MD 4480 B1 2017.05.31

37

100		105		110		115	
gcu acg gcg gaa	gau caa cca acc caa ccc gaa	gua ggc acc ugc	agg	1125			
Ala Thr Ala Glu	Asp Gln Pro Thr Gln	Pro Asp Val Ala Thr	Cys Arg				
	128	125	130				
uuu uac agc 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 caa uac	cac uac cuc ggu aga	gca ggc acc acg	aae 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				
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 acc ggc	gua cgc cga gug caa	ucc gca gug uac	aac gag 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	auc uuc cuu cac	cag ugg auc	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	uac aua aau	1567			
Asn Leu Arg Thr	Asn Asn Cys Ala Thr	Ile Val Met Pro	Tyr Ile Asn				
	260	265	270				
agu gaa ccc aug	gau aac aug uuu agg	ccc uac aac uuc	acg cuu aug	1615			
Ser Val Pro Met	Asp Asn Met Phe Arg	His Tyr Asn Phe	Thr Leu Met				
	280	285	290				
aug auc cca uuu	gca ccc cug gau uac	acc aac caa gca	ucc 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	guc aca aua gca	cca aug ugu gcu	gaa uac aau	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 aca	1759			
Leu Arg Leu Val	Thr Ser Gln Gly	Leu Pro Val Met	Asn Thr Pro				
	325	330	335				

MD 4480 B1 2017.05.31

38

agc aau cag uuc cug aca ucg gau gac uuu caa uca ccu ucg guu 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 ggg acu cca gcc aug gcc auc cca ggu gaa 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 gcc ccg 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	
aau gag gcc aau cug aaa agc aug gcc gca uac ccg aua ccg gug aac	1951
Asn Glu Ala Asn Leu Lys Ser Met Asp Ala Tyr Arg Ile Pro Val Asn	
390 395 400	
cca gga aau caa caa ggu gaa aag aua uuu ggu uuc caa aua 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 cua ggu 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 aag cac ugg uca ggg agc auu aag cua aga uuu aug uuu ugu	2095
Tyr Tyr Thr His Trp Ser Gly Ser Ile Lys Leu Thr Phe Met Phe Cys	
440 445 450	
ggg uca gca aug gcc acg gcc aaa uua cuc uua gca uac uca cca ccu	2143
Gly Ser Ala Met Ala Thr Gly Lys Leu Leu Leu Ala Tyr Ser Pro Pro	
455 460 465	
ggc gcc gau gua ccg acu agc aga aag gag gca aug cug gga acc cau	2191
Gly Ala Asp Val Pro Thr Ser Arg Lys Glu Ala Met Leu Gly Thr His	
470 475 480	
guu auc ugg gac uuu ggg cug cea ucc agu ugu guu cug ugu guu cea	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 gcc ggc uau auc acc ugc ugg uac cea aca agu aua gug guu cea	2335
Gly Ala Gly Tyr Ile Thr Cys Trp Tyr Gln Thr Ser Ile Val Val Pro	
520 525 530	
ccc ggc ace ccc aaa aag ugu guc auc cug ugc uuu gug uca gcc ugu	2383
Pro Gly Thr Pro Lys Lys Cys Val Ile Leu Cys Phe Val Ser Ala Cys	
535 540 545	
aau gau uuc ucc gug ago aug cug agu gcc aca cca uuc auc ggc cea	2431
Asn Asp Phe Ser Val Ser Met Leu Ser Asp Thr Pro Phe Ile Gly Gln	
550 555 560	

MD 4480 B1 2017.05.31

39

aca gca cug cug cag ago ccu gug gaa gaa gcu gaa gag aac gca guu	2479
Thr Ala Leu Leu Gln Ser Pro Val Gln Gln Ala Glu Glu Asn Ala Val	
565 570 575	
gca cgu gug gcu gac aca auu 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	
580 585 590 595	
guu 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	
600 605 610	
ccu agu gac aca aug cca aca agg cau gug aag aac uac cau ucg aga	2623
Pro Ser Asp Thr Met Gln Thr Arg His Val Lys Asn Tyr His Ser Arg	
615 620 625	
ucc 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 aug	2719
Ile Glu Glu Tyr Tyr Thr Asn Thr Glu Thr Arg Gln Asn Leu Tyr Met	
645 650 655	
uug ccc acu aua aaU acu aga ugg aug gug caa uug agg aga aag uuU	2767
Leu Pro Thr Ile Asn Thr Arg Trp Met Val Gln Leu Arg Arg Lys Phe	
660 665 670 675	
gag aug uuc acc uac aug agg uuU gcc aug gaa auc acc uuU guu auc	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 acc cac caa auc 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 acu gag gcc 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 ago 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 gcc 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 ggg aac aac cac aca cca uac caa aug acc agu acg	3151

MD 4480 B1 2017.05.31

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	ogu	cug	ugc	ccc	uac	aaa	aau	gca	ugg	aac	guu	aac	uuu	gaa	3247	
Pro	Pro	Arg	Leu	Cys	Pro	Tyr	Lys	Asn	Ala	Trp	Asn	Val	Asn	Phe	Glu		
					825					830					835		
ccc	acc	aac	guc	acu	gau	uca	aga	uca	aga	auc	aca	uau	auu	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	aac	uac	aga	gug	gug	aau	agg	cac	cuc	gcc	2391	
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	aac	ugu	gug	ugg	gaa	gac	uac	aac	aga	gac	2439	
Thr	His	Asn	Asp	Trp	Gln	Asn	Cys	Val	Trp	Glu	Asp	Tyr	Asn	Arg	Asp		
		885					890				895						
cuc	cuu	gug	agc	acc	acc	aca	gcc	cau	ggg	ugu	gac	acc	aua	gcc	aga	2487	
Leu	Leu	Val	Ser	Thr	Thr	Thr	Ala	His	Gly	Cys	Asp	Thr	Ile	Ala	Arg		
						905				910					915		
ugc	cag	ugc	aca	aca	ggc	gug	uac	uuu	uga	gcc	uca	agg	aac	aaa	cac	2535	
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	2583	
Tyr	Pro	Val	Thr	Phe	Glu	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Glu	Val	Gln	Glu	Ser		
			935					940					945				
gag	uac	uac	ccc	aaa	aga	uac	caa	ucc	cau	gug	cua	cua	gcu	gcc	gga	2631	
Glu	Tyr	Tyr	Pro	Lys	Arg	Tyr	Gln	Ser	His	Val	Leu	Leu	Ala	Ala	Gly		
			950				955					960					
uuu	uuu	gaa	cca	ggc	gau	ugu	ggg	gga	auc	cuc	agg	ugu	gaa	cau	ggg	2679	
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	aug	ggg	gga	gag	ggg	guc	guu	ggg	uuu	gcc	2727	
Val	Ile	Gly	Ile	Val	Thr	Met	Gly	Gly	Glu	Gly	Val	Val	Gly	Phe	Ala		
						985				990					995		
gac	guc	aga	gac	cua	cug	ugg	uua	gag	gau	gau	gcc	aug	gaa	cag	ggc	2775	
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	aaa	gcu	uuu	ggc	uca	ggg	uuc	2823	
Val	Arg	Asp	Tyr	Val	Glu	Gln	Leu	Gly	Asn	Ala	Phe	Gly	Ser	Gly	Phe		

MD 4480 B1 2017.05.31

41

1015	1020	1025	
acc aac caa auu ugu gaa caa guc aac cuc cuc aaa gag uca cug guu	3871		
Thr Asn Gln Ile Cys Glu Gln Val Asn Leu Leu Lys Glu Ser Leu Val			
1030	1035	1040	
gga cag gac ucc auu cug gag aaa ucc cuu aaa 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 ucc gca cug guc auu gaa gag aga aau cac gau gac cuc auc aca	3967		
Ile Ser Ala Leu Val Ile Val Val Arg Asn His Asp Asp Leu Ile Thr			
1060	1065	1070	1075
gug acu gcc acu cua gcc cuc auu ggu agc acc acu ucu cca ugg cgg	4015		
Val Thr Ala Thr Leu Ala Leu Ile Gly Cys Thr Ser Ser Pro Trp Arg			
1080	1085	1090	
ugg cuc aac cag aac gug uca caa uau uau gga aua ccc aug guc gag	4063		
Trp Leu Lys Gln Lys Val Ser Gln Tyr Tyr Gly Ile Pro Met Ala Glu			
1095	1100	1105	
cga caa aac aau ggc ugg cuc aag aag uuc acu gag aug acc aau gcc	4111		
Arg Gln Asn Asn Gly Trp Leu Lys Lys Phe Thr Glu Met Thr Asn Ala			
1110	1115	1120	
ugc aag ggc aag gag ugg auu gcc auc aaa auu caa aaa uuu auu gag	4159		
Cys Lys Gly Met Glu Trp Ile Ala Ile Lys Ile Glu Lys Phe Ile Glu			
1125	1130	1135	
ugg cuu aac guc aag auc uac cag aag ugu agg aua aac aug agu ucc	4207		
Trp Leu Lys Val Lys Ile Tyr Gln Lys Cys Arg Lys Asn Met Ser Ser			
1140	1145	1150	1155
uca acc gac uau aac aac uac cac ucu ugg aag agu cag auu gcc acc	4255		
Ser Thr Asp Tyr Asn Asn Tyr His Ser Trp Lys Ser Gln Ile Ala Thr			
1160	1165	1170	
aua gaa caa agu gca cca ucy cag agu gac cag gag caa cug uuu ucc	4303		
Ile Glu Gln Ser Ala Pro Ser Gln Ser Asp Gln Glu Gln Leu Phe Ser			
1175	1180	1185	
aau guc cag uac uuc gcc cac uau ugc aga aag uau gcg cca cug uau	4351		
Asn Val Gln Tyr Phe Ala His Tyr Cys Arg Lys Tyr Ala Pro Leu Tyr			
1190	1195	1200	
gcc gcu gag gcc aag aga gug uuc ucc cuc gag aag aaa aug agc aau	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 ugu auu gag ccc gaa ugu uug cuc	4447		
Tyr Ile Gln Phe Lys Ser Lys Cys Arg Ile Glu Pro Val Cys Leu Leu			
1220	1225	1230	1235
uuu cau ggc agc cca ggg gcc gga aaa ucc gug gcc acc aac cug auu	4495		
Xaa His Gly Ser Pro Gly Ala Gly Lys Ser Val Ala Thr Asn Leu Ile			
1240	1245	1250	

MD 4480 B1 2017.05.31

42

```

ggc agc uca 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 gau ggc uac aaa cag cca gag 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 gau gga aaa gau gug uca uug 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 cug 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 agc uuc cac uuu gac aug aac auU gaa guc auU ucc aug uac 4831
Ala Arg Arg Phe His Phe Asp Met Asn Ile Glu 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 aag gcc aug cag uuc auU gac aga aga acu cca 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 cuU gag gcu cug 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 guU 5119
Arg Glu Ile Lys Ile Ser Val Ala Pro Glu Thr Pro Pro Pro Pro Ala
1445 1450 1455

auU gcc gac uua 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 1470 1475

```

```

ugc aas gaa aag gga ugg cuu gug cca gag auc aac ucc 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 cug caa gca 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 guu gga aua aua uac auu auu 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 Glu Gly Ala Tyr Thr Gly Met Pro Asn Gln Lys Pro Lys
      1525      1530      1535

gug ccc acc cug aga caa gcc aaa gug caa ggc cua gcg uuu gag uuu 5407
Val Pro Thr Leu Arg Gln Ala Lys Val Gln Gly Pro Ala Phe Glu Phe
1540      1545      1550      1555

guu gug gcg aug aug aag agg aac ucc aga aca gug aaa acc gag uac 5455
Ala Val Ala Met Met Lys Arg Asn Ser Ser Thr Val Lys Thr Glu Tyr
      1560      1565      1570

ggu gag uuc acc aug cuu gcc auu uau gac agg ugg gcg gug uua cca 5503
Gly Glu Phe Thr Met Leu Gly Ile Tyr Asp Arg Trp Ala Val Leu Pro
      1575      1580      1585

cgc cac gcc aaa ccu ggc cca acc auc uug aug aau gac 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 gug gau aag gau ggg aca aac cua 5599
Gly Val Leu Asp Ala Lys Glu Leu Val Asp Lys Asp Gly Thr Asn Leu
      1605      1610      1615

gaa cug aca cuc cug aag ccc aac agu aau gag aag uuc aga 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 cua gcc aaa gaa gag guu gag gug aau gaa guu guc cua 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 gcc cag 5743
Ala Ile Asn Thr Ser Lys Phe Pro Asn Met Tyr Ile Pro Val Gly Gln
      1655      1660      1665

gug acc gac uac ggg uuc cug aac cug ggu ggg acg ccc acu 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 uac aac uuc ccc acu aga gca ggu 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 ucc acu ggg aaa guc cug ggg aua cau guu ggu ggg aau ggu 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 gca gca cuc cuc 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 ggu gaa aua gag uuc auu 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 aas 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 ugu uug aag gca aca aag aac cca gca guc cuc aga sau ggu 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 aac 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 ceu gug geu gag aac 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 cca cug gcu acg 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 ggu 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
cua aca acc agu gca ggc uac ccu uau guc gcc cug ggc aac 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 acu aag uug aac 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 uau gug aac	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 gug gcc aac gga aac uuc agg cuu	6463
Asp Glu Leu Arg Ser Ala Glu 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
gge aac cug uac aac acc uuc cac cuc aac cca ggc auu gug acg gcc	6559
Gly Asn Leu Tyr Lys Thr Phe His Leu Asn Pro Gly Ile Val Thr Gly	

MD 4480 B1 2017.05.31

45

1925	1930	1935	
agu gaa guu ggg ugu gac cca gau cug uuu ugg agc aag aua cca guc			6607
Ser Ala Val Gly Cys Asp Pro Asp Leu Phe Trp Ser Lys Ile Pro Val			
1940	1945	1950	1955
aug uug gau gga cau cuc aua gcu uuu gau uac uca ggc uau gau 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 cug aaa cug cuc cua gag aag			6703
Ser Leu Ser Pro Val Trp Phe Ala Cys Leu Lys Leu Leu Leu Glu Lys			
1975	1980	1985	
cua ggg uac aca cac aag gaa aca aac uac aua gau uac cuc ugc aac			6751
Leu Gly Tyr Thr His Lys Glu Thr Asn Tyr Ile Asp Tyr Leu Cys Asn			
1990	1995	2000	
ucc cac cac cug uac aga gac aaa cac uac uuu gug cga ggu 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 ucu ggc acc agc auc uuu aac uca 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 aca cuc aug cug aas gug uac aag ggc auu gac uug			6895
Ile Ile Ile Arg Thr Leu Met Leu Lys Val Tyr Lys Gly Ile Asp Leu			
2040	2045	2050	
gac caa uuc agg auu auu gcc uau ggu gau gau gug auu gcu ucc uac			6943
Asp Gln Phe Arg Ile Ile Ala Tyr Gly Asp Asp Val Ile Ala Ser Tyr			
2055	2060	2065	
cag ugg ccc auu gau gcu ucc cug cua gcu gaa gca gga aaa gau uau			6991
Pro Trp Pro Ile Asp Ala Ser Leu Leu Ala Glu Ala Gly Lys Asp Tyr			
2070	2075	2080	
ggu uug auc aug aca cca gca gau aaa gga gag ugc uuc auu gaa guc			7039
Gly Leu Ile Met Thr Pro Ala Asp Lys Gly Glu Cys Phe Asn Glu Val			
2085	2090	2095	
aac ugg acg aau guc acc uuc cug aaa agg uac uuu aga gaa gau gag			7087
Asn Trp Thr Asn Val Thr Phe Leu Lys Arg Tyr Phe Arg Ala Asp Glu			
2100	2105	2110	2115
caa uac cca uuc cug guc cac ccu guu aug ccc aug aaa gac auc cau			7135
Gln Tyr Pro Phe Leu Val His Pro Val Met Pro Met Lys Asp Ile His			
2120	2125	2130	
gaa ucu auu aga ugg acc aas gau cca aag aac acc caa gau cau gug			7183
Glu Ser Ile Arg Trp Thr Lys Asp Pro Lys Asn Thr Gln Asp His Val			
2135	2140	2145	
cgc uug cug ugc cua uug gcu ugg cac aau ggg gag cac gaa uau gag			7231
Arg Ser Leu Cys Leu Leu Ala Trp His Asn Gly Glu His Glu Tyr Glu			
2150	2155	2160	

MD 4480 B1 2017.05.31

46

```

gag uuc auu cgc aaa auc aga aag 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 aec ccu gcc cag gaa gug guu gga cuc cuu uua 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 aaauuggcuua acccuacccg acuaaccgaa 7383
lys

cuagauaacg guggcguagg gguaaaauuu ccgcuuucgg ugcggucgag 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

```

```

uuaaaacagc cugugggguug uucccaacca cagggccccac uggggcgcuag      50
cacacuggua ucacgguaac cuugugcgcc uguuuuauuu uccccucccc      100
acuguaauuu agaagaauga cauaaaagggu caacagauag cucaguacac      150
caacugagcc ccgaccaagc acuuucguua ccccggaacc aguaacaaua      200
ggcugucugc gccgcugaag gugaaaaagu ucuuaacccg gccaaauacu      250
ucgagaaacc uaguaccacc augaaggguug cgcagcgguu cgcucccgac      300
aaccccagug uagaucaggu cgaugagucca ccgcacuccc caccggcgac      350
cguggcgguu gcugcgcuug cggccugccu auggggcaac ccaugggacg      400
cuucaauacu gacauggugc gaagagucua uugagcuauu ugguaguccu      450
ccggcccccug aaugcggcua auccuaacug cggggcaagu gcccaaaaac      500
caguggguug cuugucguua cggguaaacc ugcagcgga aagacuaauu      550
uggguguccg uguuuccuuu uauucuuauu cuggucgcuu auggugacaa      600
uugagagauu guugccauau agcuauugga uuggccauuu gguaguaaac      650
agagcaacca uauucccuuu uguuggauuu auccacuuug auccacuaag      700

```

MD 4480 B1 2017.05.31

47

uuacacacacu cugcuacaca uuauuugcuu aaauacaaga	ag aug gga gca	751
	Met Gly Ala	
	1	
caa gaa ucg acc caa aag acu ggu gca cac gag acc ggu uag ago gcu	799	
Gln Val Ser Thr Gln Lys Thr Gly Ala His Glu Thr Gly Leu Ser Ala		
5 10 15		
aac gga cac ucu acc auu cac uau 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 gau uuc acc cag gau 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 guc aag gau auc 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 ggc gag gag ugc ggg uac agc gac agg gug aga	991	
Leu Asn Ser Pro Ser Ala Glu Glu Cys Gly Tyr Ser Asp Arg Val Arg		
70 75 80		
ucc cua aag yuc ggc aac uca acc auu acc acu caa gaa agu gca aac	1039	
Ser Leu Thr Xaa Gly Asn Ser Thr Ile Thr Thr Gln Glu Ser Ala Asn		
85 90 95		
gua guu guu ggc uau ggc agg ugg cca gag uac uug aac 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 aca ugc agg	1135	
Ala Thr Ala Glu Asp Gln Pro Thr Gln Pro Asp Val Ala Thr Cys Arg		
120 125 130		
uuc uac acg uug gaa ucc guc cag ugg gag aac aau agc 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 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 ggc uac acu aua cau gug	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 ggc 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		
gua cuu gaa gcu gag aug ggg ugu ucc cag acg gac aac gag guu gcu	1375	
Val Pro Glu Ala Glu Met Gly Cys Ser Gln Thr Asp Lys Glu Val Ala		
200 205 210		
ggc aug aac cuc acg aag ggu gaa acg ggc cac aag uuu gaa cca acc	1423	

MD 4480 B1 2017.05.31

48

Ala Met Asn Leu Thr Lys Gly Glu Thr	Ala His Lys Phe Glu Pro Thr	
215	220	225
aaa acc aca ggc ggc cac aca gug caa ucc aua gug ugc aac ggc ggu	1471	
Lys Thr Thr Gly Gly His Thr Val Gln Ser Ile Val Cys Asn Ala Gly		
230	235	240
aug ggc aac ggc gug ggg aac uac aac 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	250	255
aac uug cgc acU aaU aac ugc guc aca aua gug aug ccg uau aua aaU	1567	
Asn Leu Arg Thr Asn Asn Cys Ala Thr Ile Val Met Pro Tyr Ile Asn		
260	265	270
275		
uca gua 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	285	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	300	305
gua ccu gua ccu ggc aca 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	315	320
uur agg cug guc 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	330	335
agc aau cag uuu aag aca ugc gau gau uuu caa ucc ccu ucg guc 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 gag acU ccg cac aug 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	365	370
aac cuc aug gag aau gca gaa guu gau ucg 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
acu ggc gcc aaU cuG caa agc aug gcc gca aaU csc aua gag gug aac	1951	
Thr Ala Ala Asn Leu Gln Ser Met Asp Ala Tyr His Ile Glu Val Asn		
390	395	400
gca gga aaU cac caa ggu gaa aag aua 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	410	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	425	430
435		
uuu uac gcg cac ugg uca ggg agc aau aag cua aca uuc aca uuu ugu	2095	
Tyr Tyr Ala His Trp Ser Gly Ser Ile Lys Leu Thr Phe Thr Phe Cys		

MD 4480 B1 2017.05.31

49

				440					445					450			
ggv uce gcc asg gcc acg ggc aag cua cuc uua gca uac ucc cca ccu	Gly Ser Ala Met Ala Thr Gly Lys Leu Leu Leu Ala Tyr Ser Pro Pro	2143															
	455 460 465																
ggc gcc gau guc ccg gcu agc aga aag cag gca aug mug gga acc cau	Gly Ala Asp Val Pro Ala Ser Arg Lys Gln Ala Met Asn Gly Thr His	2191															
	470 475 480																
auc auc ugg gac uua ggg cug caa ucc agu ugc guu cua ugu auu cca	Ile Ile Trp Asp Leu Gly Leu Gln Ser Ser Cys Val Leu Cys Ile Pro	2239															
	485 490 495																
ugg auc agu cag aca cau ucu cgc cua gug caa cag gsu gag usc acc	Trp Ile Ser Gln Thr His Tyr Arg Leu Val Gln Gln Asp Glu Tyr Thr	2287															
	500 505 510 515																
agc gcc ggc aau guc acc ugc ugg uau cag aca ggu aau gug guc cca	Ser Ala Gly Asn Val Thr Cys Trp Tyr Gln Thr Gly Ile Val Val Pro	2335															
	520 525 530																
ccc gcc aca ccc aac aag ugu guc guc cug ugc uuU gug uce gcg ugu	Pro Gly Thr Pro Asn Lys Cys Val Val Leu Cys Phe Val Ser Ala Cys	2383															
	535 540 545																
aaU gac uuc ucc gag cgc aug cug cgu gac aca cca ucc auc gcc caa	Asn Asp Phe Ser Val Arg Met Leu Arg Asp Thr Pro Phe Ile Gly Gln	2431															
	550 555 560																
aca aca cug cua caa ggu gau aag gac gug gcc guc aac sau gca gua	Thr Thr Leu Leu Gln Gly Asp Thr Asp Val Ala Val Asn Asn Ala Val	2479															
	565 570 575																
gcc agg guc gcU gau aca auu gcc agu ggg ccc agc aac ucc acu agc	Ala Arg Val Ala Asp Thr Ile Ala Ser Gly Pro Ser Asn Ser Thr Ser	2527															
	580 585 590 595																
auu ccu gca cua acc gca guu gag acu ggg cac aca uca cag gua gag	Ile Pro Ala Leu Thr Ala Val Gln Thr Gly His Thr Ser Gln Val Glu	2575															
	600 605 610																
ccu agu gau aca auG caa sca cgg cau gua aag aac uac cau ucg cga	Pro Ser Asp Thr Met Gln Thr Arg His Val Lys Asn Tyr His Ser Arg	2623															
	615 620 625																
ucu gaA uce ace aaa gag aac uuc cuu agc cgg ucg gcc ugu gua uau	Ser Glu Ser Thr Ile Glu Asn Phe Leu Ser Arg Ser Ala Cys Val Tyr	2671															
	630 635 640																
uuu gaA gas uac uuU acc aaa gau caa gac agc gcc aau agg uac aug	Asn Glu Asn Tyr Phe Thr Lys Asp Gln Asp Ser Ala Asn Arg Tyr Met	2719															
	645 650 655																
uca ugg acu aua aaU gcU aga agg aug gug caa ung agg cga aag uuU	Ser Trp Thr Ile Asn Ala Arg Arg Met Val Gln Leu Arg Arg Lys Phe	2767															
	660 665 670 675																

MD 4480 B1 2017.05.31

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	ggc	caa	gac	aug	cug	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	ggg	ggg	cca	uaa	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	aau	goc	ccc	cgg	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	gua	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	ucc	agu	acg	3151
Tyr	Ala	Arg	His	Val	Asn	Lys	Asp	Thr	Pro	Tyr	Gln	Met	Ser	Ser	Thr	
		790					795					800				
uuu	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	ucc	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				
ggg	gcu	guu	uac	gug	ggg	aau	uac	aga	aua	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	aga	gac	3439
Thr	His	Asn	Asp	Trp	Gln	Asn	Cys	Val	Trp	Glu	Asp	Tyr	Asn	Arg	Asp	
	885					890					895					

MD 4480 B1 2017.05.31

51

cuc	cuc	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	
900						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	uuc	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	uuu	cag	ucc	cac	gug	cuu	cuu	guu	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	gaa	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	ggg	auc	guc	acc	aug	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	
980					985					990					995	
gac	guc	aga	gac	cuu	cug	ugg	uuu	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	uuu	guu	gaa	caa	cuu	gga	auu	guu	uuc	ggc	ucc	ggg	uuc	3823
Val	Arg	Asp	Tyr	Val	Gln	Gln	Leu	Gly	Asn	Ala	Phe	Gly	Ser	Gly	Phe	
			1015				1020					1025				
acc	auu	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	cug	gaa	aaa	ucc	cuu	aag	guu	cuu	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	aua	acg	3967
Ile	Ser	Ala	Leu	Val	Val	Val	Val	Arg	Asn	His	Asp	Asp	Leu	Ile	Thr	
1060				1065				1070					1075			
guu	acc	gac	acu	cuu	guu	uuu	auu	ggg	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	uuu	uuu	gga	aua	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	aau	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	aua	gcc	aua	aaa	auu	caa	aag	uuu	auu	gag	4159

MD 4480 B1 2017.05.31

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 auu cug ccg gaa gug aag gaa aaa cac gag uuc	4207
Trp Leu Lys Val Lys Ile Leu Pro Glu Val Lys Glu Lys His Glu Phe	
1140	1145 1150 1155
cuc aac agg cue aag caa uua coa cuc cua gag agc cag auu gca acc	4255
Leu Asn Arg Leu Lys Gln Leu Pro Leu Leu Glu Ser Gln Ile Ala Thr	
	1160 1165 1170
aua gag cag agu gca coa 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 uuc gcc cau uau ugc aga aag uau gcg cca uug uac	4351
Asn Val Gln Tyr Phe Ala His Tyr Cys Arg Lys Tyr Ala Pro Leu Tyr	
	1190 1195 1200
gca 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 Glu Lys Lys Met Ser Asn	
	1205 1210 1215
uac aua cag uuc aag ucc aea ugc cgu auu gag ccu gua agc uua 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 cuc 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 gcg 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 uua uga caa aan ccu gau gga aaa gau 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 gcc 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 aac coa 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 guu ggg ucc auc auu gca ccc acu gug ucu gac agc aga gcg 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 ucu aug uac	4831
Ala Arg Arg Phe His Phe Asp Met Asn Ile Glu Val Ile Ser Met Tyr	

MD 4480 B1 2017.05.31

53

1350	1355	1360	
agu caa aac ggc aag aac aac aug ucc aug uca guu aaa aca 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 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
ggg 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 aug cua guu acu gaa aug uuu agg gag uau aac cau age cac	5023		
Leu Asp Met Leu Val Thr Gln Met Phe Arg Glu Tyr Asn His Arg His			
1415	1420	1425	
agu gug gga gcc acu cau gaa gcu cug uuc caa ggg cca cca guc uac	5071		
Ser Val Gly Ala Thr Leu Gln Ala Leu Phe Gln Gly Pro Pro Val Tyr			
1430	1435	1440	
aga gag auc aaa auc agc guc gcc cca gag aca ccc cca cca cca guc	5119		
Arg Glu Ile Lys Ile Ser Val Ala Pro Glu Thr Pro Pro Pro Pro Ala			
1445	1450	1455	
auu gcu gsu uua cug aaa uca gug gac agu gaa gcc gug agg gaa 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 aau ucu acc cua caa	5215		
Cys Lys Glu Arg Gly Trp Leu Val Pro Glu Ile Asn Ser Thr Leu Gln			
1480	1485	1490	
aaa 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 uuc guu uca guu gcu ggu aua aua cac 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 ggu uuc caa ggc gcc uac aca ggg aug ccc aac cag aac 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 guc cag gcc 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 aug aag aaa agg aac gcc ags aca gua aaa acc gag uac	5455		
Ala Val Ala Met Met Lys Arg Asn Ala Ser Thr Val Lys Thr Glu Tyr			
1560	1565	1570	
ggg gaa uuc acc aug cuu ggc aua uac gac aag ugg gcg gug uua ccg	5503		
Gly Glu Phe Thr Met Leu Gly Ile Tyr Asp Lys Trp Ala Val Leu Pro			
1575	1580	1585	

MD 4480 B1 2017.05.31

54

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	
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 asu	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 aau gaa gcu guc cua	5695
Arg Gly Phe Leu Ala Arg Glu Glu Val Glu Val Asn Glu Ala Val Leu	
1640 1645 1650	
gca aua aau 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 acc gac uac ggg uuu cug aac cug gga ggg acc 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 acc 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 gua 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 ggc 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 acc 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 cga 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 aac 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 B1 2017.05.31

55

caa uaa gca gga caa cua guc acu cug gac auc agu acg gag ccc aug	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 gug uau ggu aca gag ggg cug gaa gcc 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 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 aug gac aac 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 guc gag aag gug gcc aag gga aaa 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 gcc ucu agu cuc aau gac uca gaa 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 ccc 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 guc guu ggg ugu gau cca gau 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 aua guc uuu gac uau uca ggc uau gac guc	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 aau	6751
Leu Gly Tyr Thr Asn Lys Glu Thr Asn Tyr Ile Asp Tyr Leu Cys Asn	
1990 1995 2000	
ucc caa caa 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 agg acu cuc aug cug aag guu uau aaa ggc auu gau uug	6895

MD 4480 B1 2017.05.31

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 uau ggg gau gau gug auu gcc ucc uau 6943
Asp Gln Phe Arg Met Ile Ala Tyr Gly Asp Asp Val Ile Ala Ser Tyr
2055                               2060                               2065

ccg ugg ccu auc gau guu ucg cug uua gcc gaa gca gga aaa gau uau 6991
Pro Trp Pro Ile Asp Ala Ser Leu Leu Ala Gln Ala Gly Lys Asp Tyr
2070                               2075                               2080

ggv uua auc aug acc cca gcc gac aaa ggc gag ugc uuc aac gag gua 7039
Gly Leu Ile Met Thr Pro Ala Asp Lys Gly Gln Cys Phe Asn Gln Val
2085                               2090                               2095

acc ugg aag aau gug 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 Gln
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 aaa guu ccc aag aac aca cag gau cau gug 7183
Gln Ser Ile Arg Trp Thr Lys Asp Pro Lys Asn Thr Gln Asp His Val
2135                               2140                               2145

cgc ucg cug ugc cca uug guu ugg cac aac ggg gag caa gaa uau gag 7231
Arg Ser Leu Cys Leu Leu Ala Trp His Asn Gly Gln Gln Gln Tyr Gln
2150                               2155                               2160

gag uuu auu cgc aag auc aga agc gug ccc guu ggg cgc ugc uug acc 7279
Gln 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 aaauagaaa auaaauaug guuaaaccuu accgcaugaa 7377

ccgaacuuaga aaaaagugcg guagggguaa auuucccgca uucggugcgg 7427

```

```

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

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

<400> 4

```

MD 4480 B1 2017.05.31

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	Glu	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	Glu	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 B1 2017.05.31

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	Xaa	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	Glu	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 B1 2017.05.31

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 Glu 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 Glu 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 Glu 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 B1 2017.05.31

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	Gln 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
1055		1060	1065
Val Val Arg Asn	His Asp Asp Leu	Ile Thr Val Thr	Ala Thr
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
1130		1135	1140

MD 4480 B1 2017.05.31

61

Leu Lys Val Lys Ile Leu Pro Glu Val Lys Glu Lys His Glu Phe	1145	1150	1155
Leu Asn Arg Leu Lys Glu Leu Pro Leu Leu Glu Ser Gln Ile Ala	1160	1165	1170
Thr Ile Glu 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 Glu 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 Glu 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 B1 2017.05.31

62

Arg His Ser Val Gly Ala Thr Leu Glu Ala Leu Phe Gln Gly Pro	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 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 Glu	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 Glu Tyr Gly Glu 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 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 Arg Asn Glu Lys Phe Arg Asp Ile	1625	1630	1635
Arg Gly Phe Leu Ala Arg 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 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 B1 2017.05.31

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 B1 2017.05.31

64

```

Asn Tyr Ile Asp Tyr Leu Cys Asn Ser His His Leu Tyr Arg Asp
    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

Met 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 Thr
    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 Glu
    2150                                2155                2160

Glu Tyr Glu Glu Phe Ile Arg Lys Ile Arg Ser Val Pro Val Gly
    2165                                2170                2175

Arg Cys Leu Thr Leu Pro Ala Phe Ser Thr Leu Arg Arg Lys Trp
    2180                                2185                2190

Leu Asp Ser Phe

```

```

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

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

<400> 5

```

```

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

```

MD 4480 B1 2017.05.31

65

1	5	10	15
Kaa	Leu	Ser	Ala
20	Asn	Gly	Ser
25	Ser	Ile	Ile
30	His	Tyr	Thr
35	Asn	Ile	Asn
40	Ile	His	Tyr
45	Thr	Thr	Asn
50	Ile	His	Tyr
55	Thr	Thr	Asn
60	Ile	His	Tyr
65	Thr	Thr	Asn
70	Ile	His	Tyr
75	Thr	Thr	Asn
80	Ile	His	Tyr
85	Thr	Thr	Asn
90	Ile	His	Tyr
95	Thr	Thr	Asn
100	Ile	His	Tyr
105	Thr	Thr	Asn
110	Ile	His	Tyr
115	Thr	Thr	Asn
120	Ile	His	Tyr
125	Thr	Thr	Asn
130	Ile	His	Tyr
135	Thr	Thr	Asn
140	Ile	His	Tyr
145	Thr	Thr	Asn
150	Ile	His	Tyr
155	Thr	Thr	Asn
160	Ile	His	Tyr
165	Thr	Thr	Asn
170	Ile	His	Tyr
175	Thr	Thr	Asn
180	Ile	His	Tyr
185	Thr	Thr	Asn
190	Ile	His	Tyr
195	Thr	Thr	Asn
200	Ile	His	Tyr
205	Thr	Thr	Asn
210	Ile	His	Tyr
215	Thr	Thr	Asn
220	Ile	His	Tyr
225	Thr	Thr	Asn
230	Ile	His	Tyr
235	Thr	Thr	Asn
240	Ile	His	Tyr
245	Thr	Thr	Asn
250	Ile	His	Tyr
255	Thr	Thr	Asn
260	Ile	His	Tyr
265	Thr	Thr	Asn
270	Ile	His	Tyr
275	Thr	Thr	Asn
280	Ile	His	Tyr
285	Thr	Thr	Asn
290	Ile	His	Tyr
295	Thr	Thr	Asn
300	Ile	His	Tyr
305	Thr	Thr	Asn
310	Ile	His	Tyr
315	Thr	Thr	Asn
320	Ile	His	Tyr
325	Thr	Thr	Asn
330	Ile	His	Tyr
335	Thr	Thr	Asn
340	Ile	His	Tyr
345	Thr	Thr	Asn
350	Ile	His	Tyr
355	Thr	Thr	Asn
360	Ile	His	Tyr
365	Thr	Thr	Asn
370	Ile	His	Tyr
375	Thr	Thr	Asn
380	Ile	His	Tyr
385	Thr	Thr	Asn
390	Ile	His	Tyr
395	Thr	Thr	Asn
400	Ile	His	Tyr
405	Thr	Thr	Asn
410	Ile	His	Tyr
415	Thr	Thr	Asn
420	Ile	His	Tyr
425	Thr	Thr	Asn
430	Ile	His	Tyr
435	Thr	Thr	Asn
440	Ile	His	Tyr
445	Thr	Thr	Asn
450	Ile	His	Tyr
455	Thr	Thr	Asn
460	Ile	His	Tyr
465	Thr	Thr	Asn
470	Ile	His	Tyr
475	Thr	Thr	Asn
480	Ile	His	Tyr
485	Thr	Thr	Asn
490	Ile	His	Tyr
495	Thr	Thr	Asn
500	Ile	His	Tyr
505	Thr	Thr	Asn
510	Ile	His	Tyr
515	Thr	Thr	Asn
520	Ile	His	Tyr
525	Thr	Thr	Asn
530	Ile	His	Tyr
535	Thr	Thr	Asn
540	Ile	His	Tyr
545	Thr	Thr	Asn
550	Ile	His	Tyr
555	Thr	Thr	Asn
560	Ile	His	Tyr
565	Thr	Thr	Asn
570	Ile	His	Tyr
575	Thr	Thr	Asn
580	Ile	His	Tyr
585	Thr	Thr	Asn
590	Ile	His	Tyr
595	Thr	Thr	Asn
600	Ile	His	Tyr
605	Thr	Thr	Asn
610	Ile	His	Tyr
615	Thr	Thr	Asn
620	Ile	His	Tyr
625	Thr	Thr	Asn
630	Ile	His	Tyr
635	Thr	Thr	Asn
640	Ile	His	Tyr
645	Thr	Thr	Asn
650	Ile	His	Tyr
655	Thr	Thr	Asn
660	Ile	His	Tyr
665	Thr	Thr	Asn
670	Ile	His	Tyr
675	Thr	Thr	Asn
680	Ile	His	Tyr
685	Thr	Thr	Asn
690	Ile	His	Tyr
695	Thr	Thr	Asn
700	Ile	His	Tyr
705	Thr	Thr	Asn
710	Ile	His	Tyr
715	Thr	Thr	Asn
720	Ile	His	Tyr
725	Thr	Thr	Asn
730	Ile	His	Tyr
735	Thr	Thr	Asn
740	Ile	His	Tyr
745	Thr	Thr	Asn
750	Ile	His	Tyr
755	Thr	Thr	Asn
760	Ile	His	Tyr
765	Thr	Thr	Asn
770	Ile	His	Tyr
775	Thr	Thr	Asn
780	Ile	His	Tyr
785	Thr	Thr	Asn
790	Ile	His	Tyr
795	Thr	Thr	Asn
800	Ile	His	Tyr
805	Thr	Thr	Asn
810	Ile	His	Tyr
815	Thr	Thr	Asn
820	Ile	His	Tyr
825	Thr	Thr	Asn
830	Ile	His	Tyr
835	Thr	Thr	Asn
840	Ile	His	Tyr
845	Thr	Thr	Asn
850	Ile	His	Tyr
855	Thr	Thr	Asn
860	Ile	His	Tyr
865	Thr	Thr	Asn
870	Ile	His	Tyr
875	Thr	Thr	Asn
880	Ile	His	Tyr
885	Thr	Thr	Asn
890	Ile	His	Tyr
895	Thr	Thr	Asn
900	Ile	His	Tyr
905	Thr	Thr	Asn
910	Ile	His	Tyr
915	Thr	Thr	Asn
920	Ile	His	Tyr
925	Thr	Thr	Asn
930	Ile	His	Tyr
935	Thr	Thr	Asn
940	Ile	His	Tyr
945	Thr	Thr	Asn
950	Ile	His	Tyr
955	Thr	Thr	Asn
960	Ile	His	Tyr
965	Thr	Thr	Asn
970	Ile	His	Tyr
975	Thr	Thr	Asn
980	Ile	His	Tyr
985	Thr	Thr	Asn
990	Ile	His	Tyr
995	Thr	Thr	Asn
1000	Ile	His	Tyr

MD 4480 B1 2017.05.31

66

				290					295				300	
Thr	Asn	Gln	Ala	Ser	Thr	Tyr	Val	Pro	Ile	Thr	Val	Thr	Ile	Ala
				305					310					315
Pro	Met	Cys	Ala	Gln	Tyr	Asn	Gly	Leu	Arg	Leu	Val	Thr	Ser	Gln
				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	Gln	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	Asn	Gly
				395					400					405
Asn	Gln	Gln	Gly	Gln	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	Gln
				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	Glu	Asn	Ala	Val	Ala	Arg	Val	Ala	Asp	Thr

MD 4480 B1 2017.05.31

67

				575					580				585	
Ile	Ala	Ser	Gly	Pro	Ser	Asn	Ser	Glu	Ser	Val	Pro	Ala	Leu	Thr
				590					595					600
Ala	Val	Glu	Thr	Gly	His	Thr	Ser	Gln	Val	Val	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	Tyr	Thr	Asn	Thr	Glu	Thr	Arg	Gln	Asn	Leu	Tyr	Met	Leu
				650					655					660
Pro	Thr	Ile	Asn	Thr	Arg	Trp	Met	Val	Gln	Leu	Arg	Arg	Lys	Phe
				665					670					675
Glu	Met	Phe	Thr	Tyr	Met	Arg	Phe	Asp	Met	Glu	Ile	Thr	Phe	Val
				680					685					690
Ile	Thr	Ser	Arg	Gln	Leu	His	Arg	Thr	Ser	Met	Pro	Gln	Asp	Met
				695					700					705
Pro	Val	Leu	Thr	His	Gln	Ile	Met	Tyr	Val	Pro	Pro	Gly	Gly	Pro
				710					715					720
Val	Pro	Asn	Ser	Val	Asp	Asp	Tyr	Ala	Trp	Gln	Thr	Ser	Thr	Asn
				725					730					735
Pro	Ser	Val	Phe	Trp	Thr	Gln	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	Ser	Ser	His	Phe	Leu	Gln	Tyr	Gly	Val	Tyr	Gly	Tyr	Asn	Thr
				770					775					780
Leu	Asn	Asn	Met	Gly	Lys	Leu	Tyr	Val	Arg	His	Val	Asn	Asn	His
				785					790					795
Thr	Pro	Tyr	Gln	Met	Thr	Ser	Thr	Val	Ser	Val	Tyr	Phe	Lys	Pro
				800					805					810
Lys	His	Val	Arg	Ala	Trp	Val	Pro	Arg	Pro	Pro	Arg	Leu	Cys	Pro
				815					820					825
Tyr	Lys	Asn	Ala	Trp	Asn	Val	Asn	Phe	Glu	Pro	Thr	Asn	Val	Thr
				830					835					840
Asp	Ser	Arg	Ser	Ser	Ile	Thr	Tyr	Ile	Pro	Glu	Thr	Val	Lys	Pro
				845					850					855
Asp	Leu	Ser	Lys	Ala	Gly	Ala	Phe	Gly	His	Gln	Ser	Gly	Ala	Val

MD 4480 B1 2017.05.31

68

	860		865		870
Tyr Val Gly Asn Tyr Arg Val 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 Glu Cys Thr Thr 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 Glu	935		940		945
Glu Ser Glu Tyr Tyr Pro Lys Arg Tyr 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 Glu 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 Ile	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 Glu	1085		1090		1095
Lys Val Ser Gln Tyr Tyr Gly Ile Pro Met Ala Glu Arg Gln Asn	1100		1105		1110
Asn Gly 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
Leu Lys Val Lys Ile Tyr Gln Lys Cys Arg Lys Asn Met Ser Ser					

MD 4480 B1 2017.05.31

69

1145	1150	1155
Ser Thr Asp Tyr Asn Asn Tyr His Ser Trp Lys Ser Gln Ile Ala		
1160	1165	1170
Thr Ile Glu 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 Glu 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 Asn 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
Arg His Ser Val Gly Ala Thr Leu Glu Ala Leu Phe Gln Gly Pro		

MD 4480 B1 2017.05.31

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 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
Val Gly Gly Asn Gly His Gln Gly Phe Ser Ala Ala Leu Leu Lys		

MD 4480 B1 2017.05.31

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 B1 2017.05.31

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>
 <221> Primer Eo7-1F

<400> 6

ttaaaacagc ctgtgggttg 20

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

<220>
<223> Primer Eo7-1R

<400> 7

gaaacacgga caccacaagt ag 22

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

<220>
<223> Primer Eo7-2F

<400> 8

ccatgggagc attcaatact 20

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

<220>
<223> Primer Eo7-2R

<400> 9

gcacacagtcct ttgtgtcga 20

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

<220>
<223> Primer Eo7-3F

<400> 10

cgaatactttt gggtgtccgt gtthc 25

<210> 11

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

<220>
 <223> Primer Eo7-3R

<400> 11

tcdggraagt tccaccacca ccc 23

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

<220>
 <223> Primer Eo7-4F

<400> 12

cgacagggtg 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

gcctcyaart tycaycargg 20

<210> 15
 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secvența artificială

<220>
 <223> Primer Eo7-5B

<400> 15

cacatkggkg caatsgtgac 20

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

<220>
 <223> Primer Eo7-6F

<400> 15

gtggatcaac ttgcgcacta 20

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

<220>
 <223> Primer Eo7-6R

<400> 17

aaattgtggc atagccgsag 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

<213> Secvența artificială

<220>

<221> incert

<222> 4

<223> Primer Eo7-7R

<400> 19

cttnatrccty cctgaccagt gtg 23

<210> 20

<211> 20

<212> ADN

<213> Secvența artificială

<220>

<223> Primer Eo7-8F

<400> 20

agcatgggc gcatatcaca 20

<210> 21

<211> 20

<212> ADN

<213> Secvența artificială

<220>

<223> Primer Eo7-8R

<400> 21

gatatggggtt 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

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

<220>
 <223> Primer Eo7-10F

<400> 23

caagtgtgtc gtctgtgtgt 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

accaaagatc aagacagcgc 20

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

<220>
 <223> Primer Eo7-11R

<400> 26

ctggcaccac cactctgata 20

<210> 27

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

<220>
 <223> Primer Eo7-12F

<400> 27

accagtcocgg tgctgtttac 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 tctggggcaga cta 23

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

<220>
 <223> Primer Eo7-13R

<400> 30

acctgytcna tkgtttcacc ytcyarc 27

<210> 31
 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secvența artificială

<220>
 <223> Primer Eo7~14F

<400> 31

ttaccacagtc acottcgagg 20

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

<220>
 <223> Primer Eo7~14R

<400> 32

tggttttttctt tcacttcagg 20

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

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

<400> 33

gtttagargat gatgcgatgg arcagg 27

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

<220>
 <223> Primer Eo7~15R

<400> 34

tcaatcaggg rtttgawctt gaa 23

<210> 35

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

<220>
 <223> Primer Eo7-16F

<400> 35

cctytrttagg ovgygargc 20

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

<220>
 <223> Primer Eo7-17F

<400> 36

ttcaagwacc aayrcogtat tga 23

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

<220>
 <223> Primer Eo7-16R

<400> 37

seytgeatgg cctthccaca cac 23

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

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

<400> 38

ctdgtgtgtg graaggcyat nca 23

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

<220>
<223> Primer Eo7-18R

<400> 39

tatgctccyt gaaacctgc aas 23

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

<220>
<223> Primer Eo7-19F

<400> 40

caagccataa ccacgtttgt 20

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

<220>
<223> Primer Eo7-19R

<400> 41

accgtagtc agtcacctg 20

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

<220>
<223> Primer Eo7-20F

<400> 42

tttgccaggmt tycarggwgc ata 23

<210> 43

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

<220>
 <223> Primer Eo7-20K

<400> 43

gcycwtgtgg graagttrta cat 23

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

<220>
 <223> Primer Eo7-21F

<400> 44

gtgttggatg cceaggseet 20

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

<220>
 <223> Primer Eo7-21R

<400> 45

atggggctcgg atctgatgtc 20

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

<220>
 <223> Primer Eo7-22F

<400> 46

ttccccacws grgcaggcca rtgygg 26

<210> 47
 <211> 23

<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 aysrvttttg gag 23

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

<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

cctggagcaa tgtgaccttt 20

<210> 53

<211> 20

<212> ADN

<213> Secvența artificială

<220>

<223> Primer Eo7-25R

<400> 53

ccctaccgca 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 B1 2017.05.31

85

<220>

<223> Primer Eo7-26R

<400> 55

ccgcacggc* tgcggagcat 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: ☒ da
(71) Solicitant: DITESAN LTD., LV		
(54) Titlul: Virus ARN oncolitic stabil genetic, metodă de producere și de utilizare a acestuia		
II. Clasificarea obiectului invenției:		
(51) Int.Cl: A61K 35/76 (2006.01) C12N 7/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)		
III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)		
MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta): Int.Cl: A61K 35/76 (2006.01) C12N 7/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01) ECHO 7, virus ARN, enterovirus "Worldwide" (Espacenet): Int.Cl: A61K 35/76 (2006.01) C12N 7/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01) ECHO 7, RNA virus, enterovirus EA, CIS (Eapatis): Int.Cl: A61K 35/76 (2006.01) C12N 7/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01) ECHO 7, РНК вирус, энтеровирус SU (nonpublic): Int.Cl: A61K 35/76 (2006.01) C12N 7/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01) ECHO 7, РНК вирус, энтеровирус		
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:**

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

Data finalizării documentării	2017.01.25
Examinator	GROSU Petru