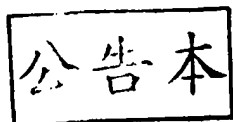


(此處由本局於收
文時黏貼條碼)

845079



發明專利說明書

(本申請書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：93122607

※申請日期：93 年 07 月 28 日

※IPC 分類：A61K 39/12 (2006.01)

一、發明名稱：

(中) 安全之突變病毒疫苗

(英) Safe mutant viral vaccines

二、申請人：(共 4 人)

1. 姓 名：(中) 萬小坤

(英) WAN, WELCH SIAO-KUN

代表人：(中)

(英)

地 址：(中) 美國密西根州卡拉馬如南六街九〇八七號

(英) 9087 South 6th Street, Kalamazoo, MI 49009, U.S.A.

國籍：(中英) 美國 U.S.A.

2. 姓 名：(中) 傑 卡維特

(英) CALVERT, JAY GREGORY

代表人：(中)

(英)

地 址：(中) 美國密西根州奧特西哥二十二街三四〇〇號

(英) 03400 22nd Street, Otsego, MI 49078, U.S.A.

國籍：(中英) 美國 U.S.A.

3. 姓 名：(中) 麥可 歐哈拉

(英) O'HARA, MICHAEL KENNETH

代表人：(中)

(英)

地 址：(中) 美國密西根州卡拉馬如奧許特冥道一二一八號

(英) 1218 Oshtemo Trace, Kalamazoo, MI 49009, U.S.A.

國籍：(中英) 美國 U.S.A.

4. 姓 名：(中) 曹雪梅

(英) CAO, XUEMEI

代表人：(中)

(英)

地 址：(中) 美國麻州史奇泰特史達克布里奇路九十七號

(英) 97 Stockbridge Road, Scituate, MA 02066, U.S.A.
國籍：(中英) 美國 U.S.A.

三、發明人：(共 4 人)

1. 姓名：(中) 萬小坤
(英) WAN, WELCH SIAO-KUN
國籍：(中) 美國
(英) U.S.A.
2. 姓名：(中) 傑 卡維特
(英) CALVERT, JAY GREGORY
國籍：(中) 美國
(英) U.S.A.
3. 姓名：(中) 麥可 歐哈拉
(英) O'HARA, MICHAEL KENNETH
國籍：(中) 美國
(英) U.S.A.
4. 姓名：(中) 曹雪梅
(英) CAO, XUEMEI
國籍：(中) 美國
(英) U.S.A.

四、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家(地區)申請專利 ☐ 主張國際優先權：

【格式請依：受理國家(地區)；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 美國 ; 2003/07/29 ; 60/490,834 ☒ 有主張優先權

■主張專利法第三十條生物材料：

■所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

(英) 97 Stockbridge Road, Scituate, MA 02066, U.S.A.
國籍：(中英) 美國 U.S.A.

三、發明人：(共 4 人)

1. 姓名：(中) 萬小坤
(英) WAN, WELCH SIAO-KUN
國籍：(中) 美國
(英) U.S.A.
2. 姓名：(中) 傑 卡維特
(英) CALVERT, JAY GREGORY
國籍：(中) 美國
(英) U.S.A.
3. 姓名：(中) 麥可 歐哈拉
(英) O'HARA, MICHAEL KENNETH
國籍：(中) 美國
(英) U.S.A.
4. 姓名：(中) 曹雪梅
(英) CAO, XUEMEI
國籍：(中) 美國
(英) U.S.A.

四、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家(地區)申請專利 ☐ 主張國際優先權：

【格式請依：受理國家(地區)；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 美國 ; 2003/07/29 ; 60/490,834 ☒ 有主張優先權

■主張專利法第三十條生物材料：

■所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

(1)

九、發明說明

【發明所屬之技術領域】

本發明一般而言係關於適用於投用至動物對抗病毒感染之疫苗。更明確的說，本發明係關於安全的疫苗以及製備該疫苗之方法。本發明之疫苗含有相同家族或編碼該病毒核酸分子之至少之二種活性突變病毒，其中各二種病毒或編碼核酸含有令人滿意的表型突變以及病毒之突變位於相同的基因體位點因此突變病毒不能相互重組以去除該突變。

【先前技術】

黃病毒科之病毒家族是由瘟病毒屬、黃病毒屬以及肝病毒屬組成。瘟病毒屬包括：第 1 型牛病毒性下痢病毒（BVDV-1）、第 2 型牛病毒性下痢病毒、豬瘟病毒、以及邊界病病毒。病毒家族之病毒粒子封包正股的 RNA 基因體，約 9.5 至 12.3 仟鹼基。基因體的 RNA 含有鄰近的長開放編閱架構（ORF），其可轉譯多蛋白，經細胞的以及病毒的蛋白酶加工產生成熟的病毒蛋白質。瘟病毒屬成員之 ORF 編碼約 3900 個胺基酸之多蛋白，共轉譯以及轉譯後加工形成下列成熟的病毒的蛋白質（從 5'至 3'）：N^{Pro}、C、E^{mS}、E1、E2、NS2-3、NS4A、NS4B、NS5A、以及 NS5B。

基於其對組織培養細胞之效應，瘟病毒屬成員可分成二種生物型：細胞病變（細胞病理或 cp）型以及非細胞

(2)

病變（非細胞病理或 ncp）型。染色體分析揭露細胞序列插入（有時伴隨著複製的病毒序列、基因體的重排、及/或刪除之病毒序列）cp 瘟病毒屬基因組，而非 ncp 瘟病毒屬對應的 RNA。此顯示 cp 瘟病毒屬是經 RNA 重組進化自 ncp 瘟病毒屬。

BVDV 是廣泛分佈於牛隻的病源菌。BVDV-1 通常在具有免疫能力的動物中僅產生輕微的下痢，而 BVDV-2 可產生血小板減少症、出血以及急性的致命疾病。BVDV 能穿過妊娠牛隻胎盤以及可導致分娩出持續感染（PI）的小牛（（Malmquist, J. Am. Vet. Med. Assoc. 152:763-768（1968）；Ross, et al., J. Am. Vet. Med. Assoc. 188:618-619（1986））。此類病毒感染的小牛對此病毒具免疫耐受性以及在其有生之年血液中持續的帶有病毒。他們是爆發黏膜疾病的來源（Liess, et al., Dtsch. Tieraerztl. Wschr. 81:481-487（1974）以及有感染微生物造成之疾病例如肺炎或腸內的疾病之高度傾向（Barber, et al., Vet. Rec. 117:459-464（1985））。任一基因型之病毒可為二種生物型中的一種，即 cp 或 ncp 型。cp 表型與 NS3 之相關，由於細胞感染 cp 或 ncp BVDV 均表現 NS2-3，故感染 cp BVDV 之後僅可偵測到 NS3。NS3 位於 NS2-3 之 C-端。NS3 之表現為 cp BVDV 中基因體改變所觀察到之結果。

目前可提供的病毒的疫苗包含：殺死的或衰減的活病毒疫苗、活載體疫苗、次單元疫苗、以及 DNA 或 RNA 疫

(3)

苗。參閱 Roth et al., "New Technology For Improved Vaccine Safety And Efficacy", *Veterinary Clinics North America:Food Animal Practice* 17 (3) :585-597 (2001)。經 UV 照射、化學處理、或在體外多次繁殖可產生衰減之病毒。若未經基因體的序列分析，則此類方法誘發的突變，其數目、位置以及本質是未知的。經特定的遺傳改變，例如專一性的刪除習知賦予毒力的病毒序列、或在病毒基因體插入序列亦可達成衰減。使用衰減活病毒的疫苗要注意到衰減突變病毒有可能在活體內進行重組，去除衰減突變從而恢復毒力。例如，在致病毒力（野生型）品系存在下，刪除病毒基因體之衰減病毒有可能與毒性菌株重組，恢復刪除之序列。參閱例如以上的 Roth et al.。亦觀察到在細胞培養中具有細胞插入體之細胞病理性瘟病毒屬經由 RNA 重組刪除細胞的序列可轉變成非細胞病理病毒。參閱例如 Baroth et al., "Insertion of cellular NEDD8 coding sequences in a pestivirus", *Virology*.278 (2) :456-66, (2000)、以及 Becher et al., "RNA recombination between persisting pestivirus and a vaccine strain:generation of cytopathogenic virus and induction of lethal disease", *Journal of Virology* 75 (14) :6256-64 (2001)。當疫苗組成物須要包含同種、屬或科之二種衰減突變病毒時，此二種病毒可在接種的動物內進行重組從而排除此衰減突變。參閱例如 Glazenburg et al., "Genetic recombination of pseudorabies virus:evidence that

(4)

homologous recombination between insert sequences is less frequent than between autologous sequences", Archives of Virology, 140 (4) :671-85 (1995) 。

因此仍需要發展安全的以及有效的疫苗保護動物對抗病毒感染。

【發明內容】

本發明概要

本發明提供安全的疫苗，其係含有相同家族或編碼該病毒核酸分子之至少之二種活性突變病毒，其中各二種病毒或編碼核酸含有令人滿意的表型突變以及病毒之突變位於相同的基因體位點因此突變病毒不能相互再結合以去除該突變。

本發明亦提供製備安全的病毒疫苗之方法，其係經選擇或構築兩種或多種同科、屬或種之活性突變病毒，其中各病毒含有賦予令人滿意表型的突變，以及病毒之突變位於相同的基因體位點因此突變病毒不能進行同源重組以去除該突變。

本發明進一步的經由對動物投用本發明之疫苗組成物，提供保護動物對抗病毒感染之方法。

發明詳細描述

目前僅確認同科之依據本發明活性突變病毒，在病毒相同基因體的位點含有突變，不能相互重組去除此突變。

(5)

據此，具體實施例之一中，本發明提供安全的疫苗組成物，其中內含至少二種（即兩種或多種）同科或編碼該病毒核酸分子之活性突變病毒，其中病毒之突變位於相同的基因體位點因此突變病毒不能相互重組以去除該突變。

在另一具體實施例中，本發明提供製備上述安全的病毒疫苗之方法。特定言之，安全疫苗的製備是經選擇或構築兩種或多種同科、屬或種之活性突變病毒，其中各病毒含有賦予令人滿意表型的突變（例如衰減之毒力、改變細胞的趨性或生物型、改變物種之趨性、或表現外來基因卡式盒），以及病毒之突變位於相同的基因體位點因此突變病毒不能相互進行同源重組以去除該突變。

本文術語之"疫苗"或"疫苗組成物"意指內含活性突變病毒之組成物，在注射到動物後，可對病理版本之病毒誘發完全的或局部的免疫、或緩和經病理版本之病毒引起的疾病之症狀。疫苗組成物對抗病毒的保護效應通常是經過誘發患者免疫反應，細胞調節的或體液免疫反應或兩者的組合加以達成。一般而言，破壞或降低病毒感染的發生率、改善症狀、或從感染的病患加速的除去病毒可表示疫苗組成的保護效應。

"動物"包含鳥類，例如：雞、火雞、家禽水鳥、以及任何哺乳動物，例如：牛、羊、豬、山羊、狗、貓、以及馬。

本文術語之"病毒"、"病毒的分離株"或"病毒的品系"意指含有病毒的基因體 DNA 或 RNA、相關的蛋白質、以

(6)

及其它化學組份（例如脂質）的病毒顆粒或病毒粒子。

"病毒編碼之核酸分子"或"病毒之核酸分子"意指病毒基因體的核酸分子，可為 RNA 或 DNA 的形式。

"突變"包含刪除、插入或取代一個或多個核苷酸、或其組合。依據本發明，較佳之突變可賦予令人滿意的表型，例如：衰減之毒力、改變細胞的趨性或生物型、改變物種趨性、或表現外來基因卡式盒。尤佳的突變是衰減毒力之突變。

"衰減"意指病毒失去一些或所有增生及/或感染病毒後導至疾病之能力。例如，衰減病毒當存在於動物中是不能複製之病毒或者只能複製數次，或限制細胞或者組織趨性，而野生型病理版本之衰減病毒則可複製。

衰減病毒在涉及病毒致病性之基因內可帶有一個或多個突變。該突變亦稱為"衰減突變"。衰減病毒可在體外經 UV 照射、化學處理、或野生型病理病毒的連續繁殖，製作自野生型、病理的病毒。此外，經專一性刪除習知的賦予毒力之病毒序列、插入序列至病毒基因體、或在病毒基因體內製作一個或多個點突變，可從野生型、病理的病毒製作衰減病毒。衰減病毒可為分離自動物的病毒純化株，該純化株是經由人工之外的方法，例如發生在宿主動物內之事件，例如重組，源自野生型、病理版本之病毒。

存在兩種或多種活性突變病毒之本發明疫苗組成物含有位於相同基因體位點的突變。"相同基因體的位點"意指當對齊病毒基因體的核苷酸序列時，病毒基因體之突變相

(7)

互重疊，因此病毒基因體之間沒有機會進行同源重組作用去除突變。換言之，當對齊病毒之基因體的核苷酸序列，至少一個校整病毒基因體的校整序列鄰近部分是突變序列。熟悉此技藝的專業人士可使用許多計算機程式比較和對齊核酸序列。序校整列是爲了最佳的比較目的（例如，在核酸序列內可引入間隙最佳的序列對比第二個核酸序列）。例如描述於 Altschul, et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403-410 之 NBLAST 以及 XBLAST 程式，描述於 Altschul et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 之間隙的 BLAST 程式，以及描述於上述 Altschul et al., 1997 之 PSI-Blast 程式。當利用 BLAST、間隙的 BLAST、及 PSI-BLAST 程式時，各程式（例如 XBLAST 及 NBLAST）可用預設之參數，參見 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>。

一般而言，本發明之概念，即在相同疫苗組成物內包括在相同基因體的位點具有突變之兩種或多種相同家族的活性突變病毒，該突變病毒係來自病毒基因體具體充分的序列相似性允許同源重組作用之任何病毒家族。據顯示短至 15 個核苷酸之核苷酸相似性可導致有效率的同源重組作用（Nagy and Bujarski, J. Virol. 69:131-140, 1995）。

本發明使用黃病毒科之病毒。黃病毒科之病毒是由瘟病毒屬、黃病毒屬以及肝病毒屬組成。黃病毒科病毒之病毒粒子封包正股的 RNA 基因組，約 9.5 至 12.3 仟鹼基。基因體的 RNA 含有鄰近的長開放編閱架構，其可轉譯多蛋白，經細胞以及病毒的蛋白酶加工產生成熟的病毒蛋白

(8)

質。

較佳者，本發明疫苗組成物之突變病毒來自同屬，相同或不同之種。

在較佳的具體實施例內，本發明之疫苗組成物含有瘟病毒屬之兩種或多種活性突變病毒。瘟病毒屬包括：第 1 型牛病毒性下痢病毒（BVDV-1）、第 2 型牛病毒性下痢病毒（BVDV-2）、豬瘟病毒、以及邊界病病毒。其 ORF 編碼約 3900 個胺基酸之多蛋白，共轉譯以及轉譯後加工形象下列成熟的病毒的蛋白質（從 5' 至 3'）：N^{Pro}、C、E^{mS}、E1、E2、NS2-3、NS4A、NS4B、NS5A、以及 NS5B。

通常 BVDV 具有 RNA 形式的染色體。RNA 可逆轉錄成 DNA 應用於選殖。因此，本文之核酸以及 BVD 病毒序列，包含病毒的 RNA 序列及源自病毒的 RNA 序列之 DNA 序列。為了便利起見，描述在以下序列表之 BVDV 基因體的序列，僅用 DNA 序列表現。對熟悉此技藝的專業人士而言，各對應的 RNA 序列是明顯的。

在更佳的具體實施例之內，本發明之疫苗組成物含有細胞病理的 BVDV-1 以及細胞病理的 BVDV-2，其中與兩個細胞病理的生物型相關的病毒突變，位於基因體的相同位點，因此二突變病毒不能重組去除該突變。

BVDV-1 以及 BVDV-2 代表二種 BVDV 緊密的相關的基因型。二種病毒在基因組上分享約 70% 相同之核苷酸序列，以及在 NS2-3 區域內稍微較高的相似性百分比。據相

(9)

信 BVDV-1 以及 BVDV-2 病毒基因體間之相似性百分比，至少在 NS2-3 區域之內，是足以進行同源重組作用。

第-1 型 BVDV 通常在動物中只產生溫和的下痢，而第-2 型 BVDV 是高致病性的病毒，能產生血小板減少症、出血以及急性的致命疾病（Corapi et al., J. Virol. 63:3934-3943; Bolin et al., Am. J. Vet. Res. 53:2157-2163; Pellerin et al., Virology 203:260-268, 1994; Ridpath et al., Virology 205:66-74, 1994; Carman et al., J. Vet. Diagn. Invest. 10:27-35, 1998）。使用一組單株抗體（Mabs）與動物產生的病毒專一性抗血清經交互中和反應測定顯示兩型病毒有顯著的抗原性（Corapi et al., Am. J. Vet. Res. 51:1388-1394, 1990）。任一基因型之病毒可為二種生物型中的一種，即細胞病變（細胞病理的或 cp）或非細胞病變（非細胞病理或 ncp）型。在培養的細胞中，Cp 病毒可誘發細胞病變效應（例如細胞溶解），而非細胞病理病毒則否。

需要製備提供保護對抗 BVDV-1 以及 BVDV-2 的疫苗。然而，因為二種病毒間高度之序列相似性，疫苗組成物包括之活性細胞病理的 BVDV-1 與活性細胞病理的 BVDV-2 可能在接種的動物內相互重組產生非細胞病理病毒。文件已記載 BVDV-1 與 BVDV-2 間之重組。參閱例如 Ridpath et al., Virology 212:259-262（1995）。在妊娠牛隻內發展免疫活性之前的感染 ncp 病毒之胎兒，在導致胎兒妊娠期間產生病毒血以及分娩以後小牛仍保持持續性

(10)

病毒血。該小牛可因重複感染 cp BVDV 之黏膜病而死亡。據此，本發明提供之疫苗組成物，含有在相同基因體位點具有突變的活性 cp BVDV-1 以及活性 cp BVDV-2，是可尤其令人滿意的保護動物對抗 BVDV-1 以及 BVDV-2。

具體實施例之一中，本發明之疫苗組成物可使用得自動物之 BVDV cp 分離株。熟悉此技藝的專業人士已知 BVDV-1 以及 BVDV-2 之 Cp 分離株，例如：BVDV-1 NADL（在 CC# VR1422 或 VR-534）、BVDV-2 53637 菌株（寄放在 ATCC 編號 PTA-4859）、以及第 2 型野外分離株，例如描述於 Ridpath and Neill, J. Virol 74:8771-8774, (2000)。目前報導之 Cp 分離株一般含有一個異性的序列插入體，尤其是例如遍在蛋白編碼序列（基因資料庫寄存編號 M96687 或 De Moerlooze et al., J. Gen. Virol. 74:1433-1438, (1993)）、牛 NEDD8 編碼序列（以上之 Baroth et al., oth et al.）、或歐洲牛 DNAJ1 編碼序列（如描述於以下之實施例）。

在另一具體實施例中，BVDV 基因組特定之改變產生 cp BVDV，例如經刪除專一性病毒的序列、插入序列至專一性病毒的基因體的位點、或製作一個或多個取代、或其組合。

經插入異性的（即外來的病毒）序列到專一性基因體的位點可產生 cp BVDV，插入序列之本質，一般而言對本發明並不重要。此外，只要插入可導致衰減表型，插入並非限制於任何特定的位點。在 cp 分離株內異性的序列是

(11)

經常發現在 NS2-3 區域，假定的 NS2-3 切割位點周圍，相當於例如 BVDV-1 NADL 菌株之胺基酸殘基 #1679 至 #1680 之 NS2-3 區域（編號是基於發表的基因體的序列基因資料庫，寄存編號 M31182，序列確認號碼：4），尤其是較佳的插入位置。

經特定基因體的改變，模仿在得自動物分離株 cp BVDV-2 內確認之突變可產生 cp BVDV-1，此類病毒在相同基因體的位點內有與 cp 生物型相關的突變。同樣地，經特定基因體的改變、模仿在得自動物分離株 cp BVDV-1 內確認之突變 1 之方法可產生 cp BVDV-2。

在較佳的具體實施例之內，本發明之疫苗組成物含有 NADL（cp BVDV-1 分離株），以及 BVDV-2 53637（cp BVDV-2 分離株），此二種 cp 分離株各含有在相同基因體的位點導致細胞病理的生物型之突變。BVDV-1 NADL 菌株之基因體序列如序列確認號碼：4，以及 BVDV-2 53637 菌株是寄存於 ATCC，編號 PTA-4859。此二分離株在 NS2-3 區域之內均含有插入體。衰減之 cp BVDV-1 含有歐洲牛 DNAJ1 編碼序列核苷酸位置 # 4993（NADL 序列編號）3'-之胸苷的插入體，其為胺基酸位置 1536 編碼甘胺酸殘基密碼子之第三個核苷酸。衰減之 cp BVDV-2 在相同基因體的位點含有歐洲牛 DNAJ1 編碼序列之插入體。

依據本發明，疫苗組成物使用之 cp BVDV 分離株，已被衰減，因此是非病理株。衰減方法是熟悉此技藝的專

(12)

業人士所習知以及亦描述於下。

在另一具體實施例之內，本發明之疫苗組成物含有衰減 BVDV-1 以及衰減 BVDV-2，其中兩個病毒的衰減突變，位於基因體的相同位點，因此不能重組去除該突變。

在體外經 UV 照射、化學處理、或病理的版本之病毒高度在細胞中傳代可產生衰減之 BVDV。可進行序列分析測定經此類方法產生之突變的本質以及於基因體的位置。突變可為刪除、插入或取代一個或多個核苷酸的形式，或其組合。此外，BVDV 基因組特定之改變產生衰減之 BVDV，例如經刪除專一性病毒的序列、插入序列至專一性病毒的基因體的位點、或製作一個或多個取代、或其組合。

如上述，應用於本發明疫苗組成物之活性突變病毒可來自同科、屬或種，而其病毒基因體有充分的序列相似性進行同源重組作用。適於應用於本發明之疫苗組成物的額外病毒組合之實施例，包括（但非限於）：不同類型脊髓灰質炎病毒之組合、傳染性支氣管炎病毒多重活性突變株之組合、新城疫病毒多重活性突變株之組合、犬科動物腺病毒-1 以及犬科動物腺病毒-2 之組合、馬科動物皰疹病毒-1 以及馬科動物皰疹病毒-4 之組合、流感病毒多重活性突變株之組合、貓杯狀病毒多重活性減毒株之組合、輪狀病毒多重血清型之組合、鼻病毒多重血清型之組合、口蹄疫病毒多重血清型之組合、豬生殖與呼吸綜合症病毒歐洲及北美洲基因型之組合、傳染性華氏囊病病毒標準以及

(13)

變異品系之組合。

依據本發明，雖然疫苗中最好是使用病毒的顆粒，但疫苗中也可直接使用編碼同科、屬或種突變病毒之核酸分子。DNA 或 RNA 分子可為"裸露的"形式或者可合併增進細胞攝取之藥劑（例如脂球體或陽離子性脂質）。使用核酸（DNA 或 mRNA）之疫苗以及疫苗接種方法已描述於技藝，例如：美國專利第 5,703,055 號、美國專利第 5,580,859 號、美國專利第 5,589,466 號、國際性的專利公告 WO 98/35562、以及 Ramsay et al., 1997, Immunol. Cell Biol. 75:360-363、Davis, 1997, Cur. Opinion Biotech. 8:635-640、Manickan et al., 1997, Critical Rev. Immunol. 17:139-154、Robinson, 1997, Vaccine 15 (8):785-787、Robinson et al., 1996, AIDS Res. Hum. Retr. 12 (5):455-457、Lai and Bennett, 1998, Critical Rev. Immunol. 18:449-484、以及 Vogel and Sarver, 1995, Clin. Microbiol. Rev. 8 (3):406-410，全文在此併入參考文獻。

除了兩種或多種同科、屬或種之活性突變病毒以外，疫苗組成物可包含其它抗原性的成分。依據本發明使用之其它適當的抗原性的成份包括（但非限於）：從病理的細菌製備的抗原，例如：豬肺炎黴漿菌、睡眠嗜血菌、副豬嗜血桿菌、支氣管毒博特氏菌、炭疽桿菌、豬放線桿菌胸膜肺炎、出血敗血性巴氏桿菌、溶血麥氏菌、牛黴漿菌、魚黴漿菌、雞敗血性黴漿菌、牛型分枝桿菌、副結核分支

(14)

桿菌、梭狀芽胞桿菌屬、乳房鏈球菌、豬鏈球菌、金黃葡萄球菌、豬丹毒丹毒絲菌、彎曲桿菌、壞死梭桿菌、大腸桿菌、細胞內羅森菌、單核細胞增生李斯特氏菌、立氏立克次體、疏螺旋體、埃利希氏體屬、衣原體、布魯菌屬、弧菌屬、沙門氏桿菌血清變型、螺旋體；病原性真菌，例如：念珠菌；原生蟲例如小粒隱孢子蟲、犬新孢子蟲、鼠弓形蟲、艾美球蟲屬、焦蟲、梨形蟲屬；蠕蟲例如：奧斯特線蟲屬、庫伯線蟲屬、血矛線蟲屬、片形屬；全部或局部去活化的細胞製劑形式、或經遺傳工程技藝或化學合成得到抗原性分子的形式。附加的抗原包含病理的病毒，例如：馬立克病病毒、感染性滑液囊疾病病毒、新堡疾病病毒、雞貧血病毒、禽痘病毒、禽白血病毒、傳染性喉頭氣管炎病毒、網狀內皮病毒、犬細小病毒症、犬瘟熱病毒、犬科動物 皰疹病毒、犬冠狀病毒、犬科動物第 5 型副流行性感冒病毒、貓白細胞減少症病毒、貓皰疹病毒、貓杯狀病毒、貓科的；貓免疫不全病毒、貓傳染性腹膜炎病毒、馬皰疹病毒、馬動脈炎病毒、馬感染性的貧血病毒、東部馬腦炎病毒、西部馬腦炎病毒、委內瑞拉馬腦炎病毒、西尼羅河病毒、傳染性腸胃炎病毒、牛冠狀病毒、第 1,3,6 型牛皰疹病毒、牛副流行性感冒病毒、牛呼吸道合胞病毒、牛白血病毒、牛瘟病毒、口蹄疫病毒、狂犬病毒、非洲豬瘟病毒、豬小 DNA 病毒、PRRS 病毒、豬環狀病毒、流感病毒、豬水泡病病毒、Techen 發燒病毒、偽狂犬病病毒、經修飾之活（衰減）病毒製劑的形式、全部

(15)

或局部去活化的病毒製劑、或經遺傳工程技藝或化學合成得到的抗原性分子的形式。當使用額外的衰減活病毒時，該較佳的額外病毒應是來自與說明如上的二種主要衰減病毒不同之家族。

在較佳的具體實施例中，本發明提供疫之苗組成物含有源自 BVDV-1 NADL 品系之衰減 cp BVDV-1；源自 BVDV-2 53637 品系之衰減 cp BVDV-2，其中二種 cp 分離株各含有與 cp 生物型相關在相同基因體位點的突變，以及至少一個（即一個或多個）去活化的或經修飾之活性形式以下的抗原性的成分，活性形式包括：牛皰疹病毒-1、牛呼吸道合包病毒、副流行性感冒病毒-3、胎兒彎麴菌屬、犬鉤端螺旋體、流感傷寒型鉤端螺旋體、腎臟鉤端螺旋體、黃疸出血螺旋體、波摩那型鉤端螺旋體、或溶血麥氏菌。

此外，本發明產疫苗組成物能包含一種或多種獸醫可接受的載體。本文之"獸醫可接受的載體"包括任何以及所有的溶劑、分散培養液、塗料、佐劑、安定劑、稀釋劑、防腐劑、抗菌及抗真菌劑、等張劑、吸收延緩劑等。稀釋劑包含水、生理食鹽水、葡聚糖、乙醇、甘油等。等張劑包含氯化鈉、葡聚糖、甘露糖醇、山梨糖醇、及乳糖等。穩定劑包含白蛋白等。疫苗組成物能進一步的包含一種或多種其它免疫調節劑，例如：介白素、干擾素、或其它細胞激動素。

適用於疫苗組成物之佐劑包括（但非限於）：R1B1

(16)

佐劑系統 (Ribi Inc.)、明礬、氫氧化鋁凝膠、水包油乳狀液、油包水乳狀液，例如：Freund's 完全的以及不完全的佐劑、嵌段共聚物 (CytRx, Atlanta GA)、SAF-M (Chiron, Emeryville CA)、AMPHIGEN®佐劑、皂素、Quil A、膽固醇、QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge MA)、或其它皂素分層、單磷醯基脂肪 A、阿夫立定脂質-胺佐劑、來自大腸桿菌之熱不穩定的腸毒素 (重組型或其他)、霍亂毒素、或胞壁醯二肽，等等。

一般疫苗中活性突變病毒之存在量每劑量約 1×10^6 以及約 1×10^8 病毒顆粒，獸醫學上可接受的載體之體積約 0.5 至約 5 毫升。疫苗組成中有效的提供保護效應的病毒精確量可由熟練的獸醫師測定。當疫苗中使用病毒之 DNA 或 RNA 分子時，核酸用量一般而言是介於約 0.1 微克/毫升至約 5.0 毫克/毫升。

取決於治療路徑，本發明疫苗組成物可用各種不同的形式製造。例如，疫苗組成物可以製造成適用於注射的無菌水溶液或分散液的形式，或使用冷凍乾燥技藝製造成冷凍乾燥的形式。冷凍乾燥的組成物一般是維持在約 4°C ，以及可重新調配於安定溶液，例如生理食鹽水或以及 HEPES，含或不含佐劑。

本發明之疫苗組成物可投用至動物以治療或預防經疫苗組成物病理的版本之病毒引起的疾病。因此，本發明亦提供接種動物對抗經病毒引起的疾病之方法。

在實行本發明方法時，將本發明疫苗組成投用至動物

(17)

較佳者係經由不經腸道的路徑，雖然其它路徑亦可利用，例如：經口的、鼻腔內的、肌肉內的、淋巴結內的、皮膚內的、腹腔內的、皮下的、直腸的或陰道的投用路徑、或路徑之組合。亦可能須要追加療程，此劑量療程可調整至供應最佳的疫苗接種。

【實施方式】

本發明進一步的用下列實施例說明（但非限制）。

實施例 I

測定在 BVDV2 菌株 53637 之內細胞插入物之位置。

測定 BVDV2-53637 之 NS2-3 區域部分之序列，以認明以及定位在此區域之內任何細胞插入之位置。從病毒的 RNA 放大 670 個鹽基之 RT-PCR 產物，其係使用正向引子 53637U1（5'-CGTCCACAGATGGTTTGGT-3'；序列確認號碼：1）以及逆轉引子 53637L（5'-

GGCTATGTATTGGACGTAACCC-3'；序列確認號碼：2）

。純化 RT-PCR 產物以及進行序列分析（序列確認號碼：3）。當與 BVDV1-NADL（基因資料庫寄存編號 M31182，序列確認號碼：4）校整時，觀察到引人注目的相似性（圖 1）。兩病毒均含有源自歐洲牛 DNAJ1 基因之同框架上插入序列。以 NADL 為例，插入體之長度是 90 個胺基酸（270 個核苷酸）以及在 NADL 多蛋白之內是位於甘胺酸-1536 與脯胺酸-1627 之間。此座標相當於非細胞病

五、中文發明摘要

發明之名稱：安全之突變病毒疫苗

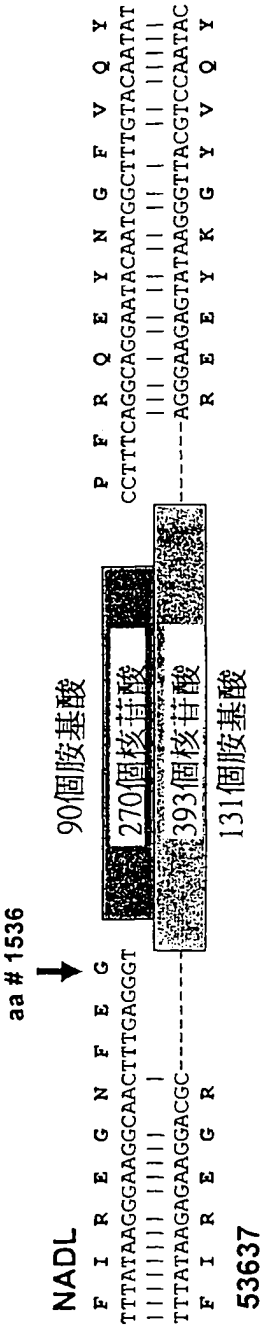
本發明提供安全的疫苗以及製備該疫苗之方法。本發明之疫苗含有相同家族或編碼該病毒核酸分子之至少之二種活性突變病毒，其中各二種病毒或編碼核酸含有令人滿意的表型突變以及病毒之突變位於相同的基因體位點因此突變病毒不能相互重組以去除該突變。

六、英文發明摘要

發明之名稱：SAFE MUTANT VIRAL VACCINES

The present invention provides safe vaccines and methods of preparing such vaccines. The vaccines of the present invention contain at least two live mutant viruses of the same family or nucleic acid molecules encoding such viruses, wherein each of the two viruses or the encoding nucleic acids contains a mutation that confers a desirable phenotype and the mutations in the viruses reside in the same genomic site such that the mutant viruses cannot recombine with each other to eliminate the mutations.

圖1



七、指定代表圖：

(一)、本案指定代表圖為：第 (1) 圖

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：無

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：無

99年7月26日修18號換頁

理的 BVDV1 品系例如 SD-1 (基因資料庫寄存編號 AAA42860, 序列確認號碼: 6) 之甘胺酸-1536 以及脯胺酸-1537, 顯示在 NADL 內基因組改變是簡單插入而在病毒的序列之無刪除或複製。與 BVDV1-NADL 相似, 在 BVDV2-53637 之內有歐洲牛 DNAJ1 基因之插入部分。細胞的插入體是較長 (131 個胺基酸, 393 個核苷酸), 相對於在 BVDV1-NADL 內之插入體向兩旁延伸。二種病毒在 NS2-3 區域內細胞插入體之位置是相同的。與 BVDV1-NADL 不同, BVDV2-53637 插入體是伴隨著刪除鄰接病毒序列的 5 個胺基酸 (15 個核苷酸)。鄰接插入體 5'端少了三個胺基酸殘基, 而插入體 3'端少了二個胺基酸殘基。因為二種疫苗病毒之細胞插入體是在相同之染色體位置, 所以不能進行同源重組作用刪除插入體以產生非細胞病理的嵌合的病毒。

實施例 II

在共分盤之 BVDV1-NADL/BVDV2-53637 培養中嘗試偵測非細胞病理的 BVDV 病毒。

為了測定二種疫苗病毒是否是重組產生可偵測的含量之非細胞病理的 BVDV, 該等病毒是被共同培養在具感受性的細胞以及使用敏感性半套疊式的 RT-PCR 分析從含有細胞插入體過量之較長的細胞病理產物中偵測可能的非細胞病理的病毒。為了在體外增加型間重組之或然率, 各病毒在 2-4 倍多重感染下同時接種到 6 個充滿的 BK-6 細胞

99年7月26日修正19頁

之測試盤（每個實驗 12 重複）。共同培養 2-3 天之後，將細胞冷凍以及解凍兩次，以及經低速度離心移除細胞碎片。然後使用產生的上清液作為下一次接種之接種物。在七個研究中總共進行七次連續繁殖。繁殖過程中 BVDV1-NADL 長的比 BVDV2-53637 快，但在七次連續繁殖後仍可用套疊式的 RT-PCR 偵測到第 2 型病毒。使用敏感性半套疊式的 RT-PCR 分析試圖偵測任何非細胞病理的病毒。

第一次的 RT-PCR，使用正向引子 53637U1（序列確認號碼：1）或 NADL4744（5'-

CGTGGCTTCTTGGTACGGG-3'，序列確認號碼：7）與逆

向引子 53637L（序列確認號碼：2）或 NADL5305（5'-

AGCGGTATATTGTACAAAGCCA-3'，序列確認號碼：8）

。使用所有正向引子以及逆向引子之四種組合物偵測 BVDV1、BVDV2、以及型間之重組體。細胞病理的 BVDV1-NADL 其 RT-PCR 產物預期之尺寸是 562 鹼基對，以及細胞病理的 BVDV2-53637 預期之尺寸是 670 鹼基對。若可偵測非細胞病理病毒的話，預期產生之第一次產物為 292 鹼基對（BVDV1-NADL）或 277 鹼基對（BVDV2-53637）。取決於重組位點之位置，型間重組體應與母體大小相似，或為中間之長度。第一次 RT-PCR 後非細胞病理的 BVDV 則無法偵測。

為了在存在大過量的細胞病理的 BVDV 之內增加偵測非細胞病理的 BVDV 敏感性，在嵌套式 PCR 之前使用限制酶水解步驟以消除源自細胞病理的病毒較大的 NS2-3 模

99年7月26日修正(20)替換頁

版。選擇 *Msp*I 以及 *Dra*I 之組合是基於觀察到彼可切開歐洲牛 DNAJ1 插入體，但不可切開鄰接的病毒序列。第二次（半-套疊式的）PCR，使用正向引子 53637U2（5'-TGCACGATCTGTGAAGGGAAAGAA-3'，序列確認號碼：9）或 NADL4844（5'-TGCACTGTATGTGAGGGCCGAGAG-3'，序列確認號碼：10）與二種逆向引子 53637L 或 NADL5305。使用適當的引子組合試圖偵測型間之重組體與 BVDV1 以及 BVDV2。細胞病理 BVDV1-NADL 的 RT-PCR 產物預期之尺寸是 462 鹼基對以及細胞病理的 BVDV2-53637 是 570 鹼基對（由於不完全之切割細胞病理的 BVDV RT-PCR 產物所以含量低）。若可偵測非細胞病理病毒的話，預期產生之第二次產物為 192 鹼基對（BVDV1-NADL）或 177 鹼基對（BVDV2-53637）。取決於重組位點之位置，型間重組體應與母體大小相似，或為中間之長度。第二次 PCR 後非細胞病理的 BVDV 則無法偵測。在少數個別地反應中，可看見各種不同尺寸的異常條帶。所有 100 以及 300 鹼基間之條帶可考慮為潛在的非細胞病理的產物以及進一步的進行 DNA 序列分析。在每個案例中，異常的環帶是 PCR 時錯誤的引子黏接之結果。在任何研究均無非細胞病變病毒之證據。

【圖式簡單說明】

圖 1：BVDV-1 菌株 NADL 以及 BVDV-2 菌株 53637，NS2-3 區域之細胞的插入序列以及鄰接的病毒序列之序

99年7月26日修正本

序 列 表

雙 面

<110> 萬小坤 (Welch, Siao-Kun Wan)
傑 卡維特 (Calvert, Jay Gregory)
麥可 歐哈拉 (O'Hara, Michael K)
曹雪梅 (Cao, Xuemei K)

<120> 安全之突變病毒疫苗

<140> TW 093122607

<141> 2004-07-28

<150> US 60/490,834

<151> 2003-07-29

<160> 18

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 19

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成之寡核苷酸正向引子 53637U1

<400> 1

cgccccacaga tggtttgggt

19

<210> 2

<211> 22

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成之反向引子 53637L

<400> 2

ggctatgtat tggacgtaac cc

22

<210> 3

<211> 670

<212> DNA

<213> 瘟病毒屬牛病毒性下痢病毒 2

<220>

<221> misc_特徵

<223> 第2型牛病毒性下痢病毒株53637

<400> 3

cgccccacaga tggtttgggtg aggaggaaat atatggggca cccaagggtga tcaccatcat

60

aaaagctagt accctaagta aaaacaggca ctgcataatc lgcacgatct gtgaaggga

120

agaatggaac ggagccaact gcccagaagt tggagacaa ggaagccca taacatgttg

180

aatgacacac gcagacttgg aggagaaaca ttacaaaaag atatttataa gagaaggacg

240

ccaagaagca atgaatacga tgaigtgcag ccgatgccag ggaagcata ggaggtttga

300

aacggaccgg gaacctaaaga gtgccagata ctgtgctgag tgaataggc tgcattctgc

360

tgaggaaagt gacttttggg cagagtcaag catgttgggc ctcaaaatca cctactttgc

420

gctgatggat ggaaagggt atgataatcac agagtgggct ggatgccagc gtgtgggaat

480

ctccccagat acccacagag tcccttgta catctcattt gggtcacgga tgccaggcac 540
cagtgggcgg cagagagcta ctccagatgc ccttcctgct gaccttcagg atttcttgag 600
ccggatcttt caagtacccc caggccagat gtccagggaa gagtataagg gttacgtcca 660
atacatagcc 670

<210> 4
<211> 12573
<212> DNA
<213> 瘟病毒屬牛病毒性下痢病毒 1

<220>
<221> misc_ 特徵
<223> 第1型牛病毒性下痢病毒株NADL

<400> 4
gtatacgaga attagaaaag gcactcgtat acgtattggg caattaaaaa taataattag 60
gcctagggaa caaatccctc tcagcgaagg ccgaaaagag gctagccatg cccttagtag 120
gactagcata atgagggggg tagcaacagt ggtgagttcg ttggatggct taagccctga 180
gtacagggtg gtctgcagtg gttcgacgcc ttggaataaa ggtctcgaga tgccacgtgg 240
acgagggcat gcccaaagca catcttaacc tgagcggggg tcgcccaggt aaaagcagtt 300
ttaaccgact gttacgaata cagcctgata ggggtctgca gaggcccact gtattgctac 360
taaaaaatctc tgcgtgacat ggcacatgga gttgacaca aatgaacttt tatacaaaac 420
atacaaacaa aaacccgtcg gggtaggaga acctgtttat gatcaggcag gtgatccctt 480
atttggtgaa aggggagcag tccacctca atcgacgcta aagctccac acaagagagg 540
ggaacgcgat gtccaacca acttggcac cttacaaaa agaggtgact gcaggtcggg 600
taatagcaga ggacctgta gcgggatcta cctgaagcca gggccactat tttaccagga 660
ctataaaggt cccgtctatc acagggcccc gctggagctc tttagaggagg gatccatgtg 720
tgaaacgact aaacggatag ggagagtaac tggaagtac ggaagctgt accacattta 780
tgtgtgtata gatggatgta taataataaa aagtgccacg agaagtlacc aaagggtgtt 840
caggtaggtc cataataggc ttgactgccc tctatgggtc acaacttgct cagacacgaa 900
agaagaggga gcaacaaaa agaaaacaca gaaacccgac agactagaaa gggggaaaaat 960
gaaaatagt cccaaagaat ctgaaaaaga cagcaaaact aaacctccg atgctacaat 1020
agtggtagaa ggagtcaaat accaggtgag gaagaaggga aaaaccaaga gtaaaaacac 1080
tcaggacggc ttgtaccata acaaaaaaa acctcaggaa tcacgcaaga aactggaaaa 1140
agcattgttg gcgtgggcaa taatagctat agttttgtt caagttacaa tgggagaaaa 1200
cataacacag tggaaacctac aagataatgg gacggaagg atacaacggg caatgttcca 1260
aaggggtgtg aatagaagtt tacatggaat ctggccagag aaaatctgta ctggcgtccc 1320
ttccatcta gccaccgata tagaactaaa aacaattcat ggtaigtatg atgcaagtga 1380
gaagaccaac tacacgtgtt gcagactica acgcaatgag tggacaagc atggttggtg 1440
caactggtac aatattgaac cctggattct agtcatgaat agaaccaag ccaatctcac 1500
tgagggacaa ccaccaagg agtgcgcagt cactttagg tatgatagg ctagtgactt 1560
aaacgtggtg acacaagcta gagatagccc cacacctta acaggttgca agaaaggaaa 1620
gaacttctcc ttgtcaggca tatgatgac gggccctgc aactttgaaa tagctgcaag 1680

tgatgtatta ttcaaagaac atgaacgcat tagtatgttc caggatacca ctcctttacct	1740
tgttgacggg ttgaccaact ccttagaagg tgccagacaa ggaaccgcta aactgacaac	1800
ctggtttaggc aagcagctcg ggatactagg aaaaaagttg gaaaacaaga gtaagacgtg	1860
gtttggagca tacgctgctt ccccttactg tgatgtcgat cgcaaaattg gctacatatg	1920
gtatacaaaa aattgcaccc ctgcctgctt acccaagaac acaaaaattg tggcccttg	1980
gaaatttggc accaatgcag aggacggcaa gatattacat gagatggggg gtcacttgtc	2040
ggaggfacta ctactttctt tagtgggtct gtcgacttc gcaccgaaa cagctagtgt	2100
aattgtacct atcctacatt ttccatccc acaaaagcac gttagatga tggatttga	2160
taagaccag ttgaacctca cagtggagct gacaacagct gaagtaatac cagggtcgg	2220
ctggaatcta ggcaaatatg tatgtataag accaaattgg tggccttatg agacaactgt	2280
agtgttggca tttgaagagg tgagccaggt ggtgaagta gtgttgagg cactcagaga	2340
tttaacacgc atttgaacg ctgcaacaac tactgctttt ttagtatgcc ttgttaagat	2400
agtcaggggc cagatggtac agggcattct gtggctacta ttgataacag ggttacaagg	2460
gcacttggat tgcaaacctg aattctcgta tgccatagca aaggacgaaa gaattggtca	2520
actgggggct gaaggcctta ccaccacttg gaaggaatac tcacctggaa tgaagctgga	2580
agacacaatg gtcatlgctt ggtgcgaaga tgggaagta atgtacctcc aaagatgcac	2640
gagagaaacc agatatctcg caatcttgca tacaagagcc ttgccgacca gtgtggtatt	2700
caaaaaactc tttgatgggc gaaagcaaga ggatgtatg gaaatgaacg acaactttga	2760
atttggactc tgcccatgtg atgccaaacc catagtaaga gggaagtca atacaacgt	2820
gtcgaacgga ccggccttcc agatgggatg ccccatagga tggacaggga ctgtaagctg	2880
tacgtcattc aatatggaca ccttagccac aactgtggtc cggacatata gaaggcttaa	2940
accattccct cataggcaag gctgtatcac ccaaaagaat ctgggggagg atctccataa	3000
ctgcatcctt ggaggaaatt ggacttgtgt gcctggagac caactactat acaaagggg	3060
ctctattgaa tcttgcaagt ggttggtcta tcaattttaa gagagtagg gactaccaca	3120
ctaccccatg ggcaagtga aattggagaa cgagactggt tacaggctag tagacagtac	3180
cctttgcaat agagaagggtg tggccatagt accacaaggg acattaaagt gcaagatagg	3240
aaaaacaact gtacagggtc tagctatgga taccaaacct ggacctatgc cttgcagacc	3300
atatgaaatc atatcaagtg aggggcctgt agaaaagaca gcgtgtactt tcaactacac	3360
taagacatta aaaaataagt attttgagcc cagagacagc tactttcagc aatacatgct	3420
aaaaggagag tatcaatact ggtttgacct ggaggtgact gaccatcacc gggattactt	3480
cgctgagtc atattagtgg tggtagtagc cctcttgggt ggcagatatg tactttggtt	3540
actgggtaca tacatggctt tatcagaaca gaaggcctta gggattcagt atggatcagg	3600
ggaagtgggt atgatgggca acttgctaac ccataacaat attgaagtgg tgacatactt	3660
citgctgctg tacttactgc tgagggagga gagcgtaaag aagtgggtct tactcttata	3720
ccacatctta gtgttacacc caatcaaatc tglattgtg atcctactga tgattgggga	3780
tgttgtaaag gccgattcag gggccaaga gtacttgggg aaaatagacc tctgttttac	3840
aacagtagta ctaatcgta taggtttaat catagctagg cgtgacccaa ctatagtgcc	3900

actggtaaca ataatggcag cactgagggc cactgaactg acccaccagc ctggagtga	3960
catcgctgtg gcggcatga ctataaccct actgatggtt agctatgtga cagattatit	4020
tagatataaa aaatggttac agtgcattct cagcctggta tctgcggtgt tcttgataag	4080
aagcctaata lacctaggta gaatcgagat gccagaggta actatcccaa actggagacc	4140
actaacttta atactattat atttgatctc aacaacaatt gtaacgaggt ggaaggttga	4200
cgtggctggc ctattgttgc aatgtgtgcc tatcttattg ctggtcacaa ccttgtgggc	4260
cgacttctta accctaatac tgatcctgcc tacctatgaa ttggttaaat tatactatct	4320
gaaaactgtt aggactgata cagaagaag ttggctaggg gggatagact atacaagagt	4380
tgactccatc tacgacgttg atgagagtgg agagggcgtat tatctttttc catcaaggca	4440
gaaagcacag gggaattttt ctatactctt gccccttata aaagcaacac tgataagtgt	4500
cgtcagcagt aaatggcagc taatatatcat gagttaacta actttggact ttatgtacta	4560
catgcacagg aaagtatatag aagagatctc aggaggtacc aacataatat ccaggttagt	4620
ggcagcactc atagagctga actgggtccat ggaagaagag gagagcaaag gcttaaagaa	4680
gttttatcta ttgtctggaa gggtgagaaa cctaataata aaacataagg taaggaaatga	4740
gaccgtggct tcttggtagc gggaggagga agtctacggt atgccaaaga tcatgactat	4800
aatcaaggcc agtacactga gtaagagcag gcactgcata atatgcactg tatgtgaggg	4860
ccgagagtgg aaagggtggca cctgcccata atgtggacgc catgggaagc cgataacgtg	4920
tgggatgtcg ctacgagatt ttgaagaaag acactataaa agaattttta taagggaagg	4980
caactttgag ggtatgtgca gccgatgccg gggaaagcat aggaggtttg aaatggaccg	5040
ggaacctaaag agtgccagat actgtgtctga gtgtaatagg ctgcatcctg ctgaggaagg	5100
tgacttttgg gcagagtcga gcatgttggg cctcaaaaac acctactttg cgctgatgga	5160
tggaaagggt tatgatataca cagagtgggc tggatgccag cgtgtgggaa tctccccaga	5220
tacccacaga gtcccttgtc acatctcatt tgggtcacgg atgccittca ggcaggaata	5280
caatggcttt gtacaatata ccgctagggg gcaactatit ctgagaaact tgcctgtact	5340
ggcaactaaa gtaaaaatgc tcatgttagg caaccttgga gaagaaattg gtaatctgga	5400
acatcttggg tggatcctaa gggggcctgc cgtgtgtaag aagatcacag agcacgaaaa	5460
atgccacatt aatatactgg ataaactaac cgcatitttc gggatcatgc caagggggac	5520
tacaccacaga gccccgtga gggtccctac gagcttacta aaagttagga ggggtctgga	5580
gactgcctgg gcttacacac accaaggcgg gataagtcca gtcgacatg taaccgccgg	5640
aaaagatcta ctggctctgt acagcatggg acgaactaga gtggtttggc aaagcaacaa	5700
caggttgacc gatgagacag agtatggcgt caagactgac tcagggtgcc cagacggtgc	5760
cagatgital gtgttaaatc cagaggccgt taacatatca ggatccaaag gggcagtcgt	5820
tcacctccaa aagacagggt gagaattcac gtgtgtcacc gcatcaggca caccggcttt	5880
cttcgacctt aaaaacttga aaggatggtc aggccttgcct atatttgaag cctccagcgg	5940
gagggtgggt ggacagagta aagtgggaa gaatgaagag tctaaacctt caaaaataat	6000
gagtggaaac cagaccgtct caaaaaacag agcagacctg accgagatgg tcaagaagat	6060
aaccagcatg aacaggggag acttcaagca gattactttg gcaacagggg caggcaaaac	6120
cacagaactc ccaaaagcag ttatagagga gataggaaga cacaagagag tattagtctt	6180

tataccattt agggcagcgg cagagtcagt ctaccagiat atgagattga aacacccaag	6240
catctctttt aacctaaagg taggggacat gaaagagggg gacatggcaa ccgggataac	6300
ctatgcatca tacgggtact tctgccaat gccitcaacca aagctcagag ctgctatggt	6360
agaatactca tacataattct tagatgaata ccattgtgcc actcctgaac aactggcaat	6420
tatcgggaag atccacagat tticagagag tataagggtt gtcgccaiga ctgccacgcc	6480
agcagggctg gtagaccaca caggtcaaaa gcaccaata gaggaattca tagccccga	6540
ggtaattaaa ggggaggatc ttggtagica gticcttgat atagcagggt taaaaatacc	6600
agtggatgag atgaaaggca atatgttgggt ttttgiacca acgagaaaaca tggcagtaga	6660
ggtagcaaaag aagctaaaaag ctaagggtca taactctgga tactattaca gtggagagga	6720
tccagccaat ctgagagttg tgacatcaca atccccctat gtaatcgtgg ctacaaatgc	6780
tattgaatca ggagtgacac taccagattt ggacacgggt atagacacgg ggttgaaatg	6840
tgaaaagagg gtaggggtat catcaaagat acccttcata gtaacaggcc ttaagaggat	6900
ggccgtgact gtaggtgagc aggcgcagcg taggggcaga gtaggtagag tgaaacccgg	6960
gaggtattat aggagccagg aaacagcaac agggitcaaa gactaccact atgacctctt	7020
gcaggcacaag agatcaggga ttgaggatgg aatcaacgtg acgaaatcct ttagggagat	7080
gaattacgat tggagcctat acgaggagga cagcctacta ataaccagc tggaataact	7140
aaataatcta ctcatctcag aagacttgcc agccgtgtt aagaacataa tggccaggac	7200
tgatcaccca gagccaatcc aacttgcata caacagctat gaagtcagg tcccggctct	7260
attcccaaaa ataaggaatg gagaagtcac agacacctac gaaaattact cgtttctaaa	7320
tgcagaaaag tttaggggagg atgtgcccgt gtatatctac gctactgaag atgaggatct	7380
ggcagttgac ctcttagggc tagactggcc tgatccctgg aaccagcagg tagtggagac	7440
tggtaaaagca ctgaagcaag tgaccgggtt gtccctggct gaaaatgccc tactagtggc	7500
tttatttggg tatgtgggtt accaggtctt ctcaaagagg catgtcccaa tgataacaga	7560
catatatacc atcaggaggc agagactaga agacaccacc cacctccagt atgcacccaa	7620
cgccataaaa accgatggga cagagactga actgaaagaa ctggcgctcg gtagctgga	7680
aaaaatcatg ggagccattt cagattatgc agctggggga ctggagtgtt ttaaatccca	7740
agcagaaaag ataaaaacag ctctttgtt taaagaaaac gcagaagccg caaaagggtt	7800
tgtccaaaaa ttcatlgact catlaatiga aaataaagaa gaaataatca gatatggtt	7860
gtggggaaca cacacagcac tatacaaaag catagctgca agactggggc atgaacacgc	7920
gtttgccaca ctagtgttaa agtggctagc ttttggaggg gaatcagtgt cagaccacgt	7980
caagcaggcg gcagttgatt tagtggctta ttatgtgat aataagcctt ccttcccagg	8040
tgactccgag acacagcaag aaggaggcg attcgtcgca agcctgtica tctccgact	8100
ggcaacctac acatacaaaa ctiggaatta ccacaatctc tctaaagttg tggaaaccagc	8160
cctggcttac ctcccctatg ctaccagcgc attaaaaatg ttcaccccaa cgcggctgga	8220
gagcgtggtg atactgagca ccacgatata taaaacatac ctctctataa ggaaggggaa	8280
gagtgatgga ttgtgggtta cggggataag tgcagccatg gaaatcctgt caaaaaccc	8340
agtalcggtt ggtataatct tgatgttggg gtaggggca atcgtctgcg acaacgctat	8400

tgagtccagt gaacagaaaa ggaccctact tatgaagggtg ttgtlaaaga acttcttggg	8460
tcaggctgca acagatgagc tgglaaaaga aaaccagaa aaaattataa tggccitatt	8520
tgaagcagtc cagacaattg gtaacccctt gagactaata taccacctgt atggggttta	8580
ctacaaaggt tgggaggcca aggaactatc tgagaggaca gcaggcagaa acttattcac	8640
attgataatg ttggaagcct tcgagttatt agggatggac tcacaaggga aaataaggaa	8700
ccgtgccgga aattacattt tggatttgat atacggccta cacaagcaaa tcaacagagg	8760
gctgaagaaa atgggtactgg ggtgggcccc tgcacccttt agttgtgact ggacccttag	8820
tgacgagagg atcagattgc caacagacaa ctatttgagg gtagaaacca ggtgcccatg	8880
tggctatgag atgaaagcct tcaaaaatgt aggtggcaaa ctaccacaaag tggaggagag	8940
cgggcccitc ctatgtagaa acagacctgg taggggacca gtcaactaca ggtcaccaa	9000
gtattacgat gacaacctca gagagataaa accagtagca aagttagaag gacaggtaga	9060
gcactactac aaaggggtca cagcaaaaat tgactacagt aaaggaaaaa tgctcttggc	9120
cactgacaag tgggagggtg aacatgggtg cataaccagg ttagctaaga gatatactgg	9180
ggtcgggttc aatgggtgat acttaggtga cgagcccaat caccgtgctc tagtggagag	9240
ggactgtgca actataacca aaaacacagt acagtttcta aaaaatgaaga aggggtgtgc	9300
gttcacctat gacctgacca tctccaatct gaccaggctc atcgaaactag tacacaggaa	9360
caatcttgaa gagaaggaaa taccaccgc tacggtcacc acatggctag ctacacctt	9420
cgigaatgaa gacgtaggga ctataaaacc agtactagga gagagagtaa tccccgacc	9480
tgtattgat atcaatttac aaccagaggt gcaagtggac acgtcagagg ttgggatcac	9540
aaataattga agggaaaccc tgaigacaac gggagtgaac cctgtcttgg aaaaagtaga	9600
gcctgacgcc agcgacaacc aaaactcgtt gaagatcggg ttggatgagg gtaattaccc	9660
agggcctgga atacagacac atacactaac agaagaata cacaacaggg atgcgaggcc	9720
cttcatcatg atcctgggct caaggaattc catatcaaat agggcaaaga ctgctagaaa	9780
tataaatctg tacacaggaa atgacccag ggaatacga gacttgatgg ctgcaggcgc	9840
catgttagta gtgacatga gggatgtcga ccctgagctg tctgaaatgg tctatttcaa	9900
ggggactttt ttagataggg aggccctgga ggctctaagt ctggggcaac ctaaaccgaa	9960
gcaggttacc aagggaagctg ttaggaattt galagaacag aaaaaagatg tggagatccc	10020
taactgggtt gcatcagatg acccagtatt tctggaagtg gccttaaaaa atgataagta	10080
ctacttagta ggagatgttg gagagctaaa agatcaagct aaagcacttg gggccacgga	10140
tcagacaaga attataaagg aggtaggctc aaggacgtat gccatgaagc tatctagctg	10200
gttcctcaag gcatcaaaca aacagatgag tttaactcca ctgtttgagg aattgttgct	10260
acgggtgccc cctgcaacta agagcaataa ggggcacatg gcatcagctt accaattggc	10320
acagggtaac tgggagcccc tcggttgcgg ggtgcaccta ggtacaatac cagccagaag	10380
ggtgaagata caccatattg aagcttacct gaagttagaa gatttcatag aagaagaaga	10440
gaagaaacct agggttaagg atacagtaat aagagagcac aacaaatgga tacttaaaaa	10500
aataaggttt caaggaaacc tcaacaccaa gaaaatgtc aaccaggga aactatctga	10560
acagttggac agggaggggc gcaagaggaa catctacaac caccagattg gtactataat	10620
gtcaagtgca ggcataaggc tggagaaatt gccaatagtg agggcccaaa ccgacaccaa	10680

```

aacctttcat gaggcaataa gagataagat agacaagagt gaaaaccggc aaaatccaga 10740
attgcacaac aaattgttgg agattttcca cacgatagcc caaccacccc tgaaacacac 10800
ctacgggtgag gtgacgttgg agcaacttga ggcgggggta aatagaaagg gggcagcagg 10860
cttccitggag aagaagaaca tccgagaagt attggattca gaaaagcacc tggtagaaca 10920
attggtcagg gatctgaagg ccgggagaaa gataaaatat tatgaaactg caataccaaa 10980
aaatgagaag agagaigtca gtgatgactg gcaggcaggg gacctgttgg ttgagaagag 11040
gccaagagtt atccaatacc ctgaagccaa gacaaggcta gccatcacta aggtcatgta 11100
taactgggtg aaacagcagc ccgttgtgat tccaggatat gaaggaaaga ccccttgtt 11160
caacatcttt gataaagtga gaaaggaatg ggactcgttc aatgagccag tggccgtaag 11220
ttttgacacc aaagccttgg acactcaagt gactagtaag gatctgcaac ttattggaga 11280
aatccagaaa tattactata agaaggagtgc gcacaagttc attgacacca tcaccgacca 11340
catgacagaa gtaccagtta taacagcaga tggigaagta tatataagaa atgggcagag 11400
agggagcggc cagccagaca caagtgcctg caacagcatg ttaaatgtcc tgacaatgat 11460
gtacggcttc tgcgaaagca caggggtacc gtacaagagt ttcaacaggg tggcaaggat 11520
ccacgtctgt ggggatgatg gcttcttaat aactgaaaaa ggggttagggc tgaaatttgc 11580
taacaaaggg atgcagattc ttcatgaagc aggcaaacct cagaagataa cggaagggga 11640
aaagatgaaa gtigccataa gattttagga tatagagttc tgttctcata ccccgatccc 11700
tgttaggttg tccgacaaca ccagtagtca catggccggg agagacaccg ctgtgatact 11760
atcaaagatg gcaacaagat tggattcaag tggagagagg ggtaccacag cataatgaaa 11820
agcggtagcc ttcatgttct tgcgtgatga ttccctggaac ccgcttgta ggaggatttg 11880
ccgttgtgtc ctttcgcaac agccagagac agaccatca aaacatgcca cttattatta 11940
caaaggatgat ccaatagggg cctataaaga tgtaataggt cggaatctaa gtgaactgaa 12000
gagaacaggc tttagaataa tggcaaatct aaacctaaagc ctgtccacgt tgggggtctg 12060
gactaagcac acaagcaaaa gaataattca ggactgtgtt gccattggga aagaagaggg 12120
caactggcta gtttagcccg acaggctgat atccagcaaa actggccact tatacatacc 12180
tgataaaggc tttaacttac aaggaaagca ttatgagcaa ctgcagctaa gaacagagac 12240
aaaccgggtc atgggggttg ggactgagag atacaagtta ggtcccatag tcaatctgct 12300
gctgagaagg ttgaaaattc tgcitcatgac ggccgtcggc gtcagcagct gagacaaaat 12360
gtatatattg taaataaatt aatccatgta catagtgtat ataaatatag ttgggaccgt 12420
ccacctcaag aagacgacac gccaacacg cacagctaaa cagtagtcaa gattatctac 12480
ctcaagataa cactacattt aatgcacaca gcactttagc tgtatgagga tacgcccac 12540
gictatagtt ggactaggga agacctctaa cag 12573

```

<210> 5
 <211> 3988
 <212> PRT
 <213> 瘟病毒屬牛病毒性下痢病毒 1

<220>
 <221> misc_特徴
 <223> 第1型牛病毒性下痢病毒株NADL

<400> 5

Met Glu Leu Ile Thr Asn Glu Leu Leu Tyr Lys Thr Tyr Lys Gln Lys
1 5 10 15

Pro Val Gly Val Glu Glu Pro Val Tyr Asp Gln Ala Gly Asp Pro Leu
20 25 30

Phe Gly Glu Arg Gly Ala Val His Pro Gln Ser Thr Leu Lys Leu Pro
35 40 45

His Lys Arg Gly Glu Arg Asp Val Pro Thr Asn Leu Ala Ser Leu Pro
50 55 60

Lys Arg Gly Asp Cys Arg Ser Gly Asn Ser Arg Gly Pro Val Ser Gly
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Lys Pro Gly Pro Leu Phe Tyr Gln Asp Tyr Lys Gly Pro
85 90 95

Val Tyr His Arg Ala Pro Leu Glu Leu Phe Glu Glu Gly Ser Met Cys
100 105 110

Glu Thr Thr Lys Arg Ile Gly Arg Val Thr Gly Ser Asp Gly Lys Leu
115 120 125

Tyr His Ile Tyr Val Cys Ile Asp Gly Cys Ile Ile Ile Lys Ser Ala
130 135 140

Thr Arg Ser Tyr Gln Arg Val Phe Arg Trp Val His Asn Arg Leu Asp
145 150 155 160

Cys Pro Leu Trp Val Thr Thr Cys Ser Asp Thr Lys Glu Glu Gly Ala
165 170 175

Thr Lys Lys Lys Thr Gln Lys Pro Asp Arg Leu Glu Arg Gly Lys Met
180 185 190

Lys Ile Val Pro Lys Glu Ser Glu Lys Asp Ser Lys Thr Lys Pro Pro
195 200 205

Asp Ala Thr Ile Val Val Glu Gly Val Lys Tyr Gln Val Arg Lys Lys
210 215 220

Gly Lys Thr Lys Ser Lys Asn Thr Gln Asp Gly Leu Tyr His Asn Lys
225 230 235 240

Asn Lys Pro Gln Glu Ser Arg Lys Lys Leu Glu Lys Ala Leu Leu Ala
245 250 255

Trp Ala Ile Ile Ala Ile Val Leu Phe Gln Val Thr Met Gly Glu Asn
260 265 270

Ile Thr Gln Trp Asn Leu Gln Asp Asn Gly Thr Glu Gly Ile Gln Arg
275 280 285

Ala Met Phe Gln Arg Gly Val Asn Arg Ser Leu His Gly Ile Trp Pro
290 295 300

Glu Lys Ile Cys Thr Gly Val Pro Ser His Leu Ala Thr Asp Ile Glu
305 310 315 320

Leu Lys Thr Ile His Gly Met Met Asp Ala Ser Glu Lys Thr Asn Tyr
325 330 335

Thr Cys Cys Arg Leu Gln Arg His Glu Trp Asn Lys His Gly Trp Cys
340 345 350

Asn Trp Tyr Asn Ile Glu Pro Trp Ile Leu Val Met Asn Arg Thr Gln
355 360 365

Ala Asn Leu Thr Glu Gly Gln Pro Pro Arg Glu Cys Ala Val Thr Cys
370 375 380

Arg Tyr Asp Arg Ala Ser Asp Leu Asn Val Val Thr Gln Ala Arg Asp
385 390 395 400

Ser Pro Thr Pro Leu Thr Gly Cys Lys Lys Gly Lys Asn Phe Ser Phe
405 410 415

Ala Gly Ile Leu Met Arg Gly Pro Cys Asn Phe Glu Ile Ala Ala Ser
420 425 430

Asp Val Leu Phe Lys Glu His Glu Arg Ile Ser Met Phe Gln Asp Thr
435 440 445

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

Gln Gly Thr Ala Lys Leu Thr Thr Trp Leu Gly Lys Gln Leu Gly Ile
465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Glu Asn Lys Ser Lys Thr Trp Phe Gly Ala Tyr
485 490 495

Ala Ala Ser Pro Tyr Cys Asp Val Asp Arg Lys Ile Gly Tyr Ile Trp
500 505 510

Tyr Thr Lys Asn Cys Thr Pro Ala Cys Leu Pro Lys Asn Thr Lys Ile
515 520 525

Val Gly Pro Gly Lys Phe Gly Thr Asn Ala Glu Asp Gly Lys Ile Leu
530 535 540

His Glu Met Gly Gly His Leu Ser Glu Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
545 550 555 560

Val Leu Ser Asp Phe Ala Pro Glu Thr Ala Ser Val Met Tyr Leu Ile
565 570 575

Leu His Phe Ser Ile Pro Gln Ser His Val Asp Val Met Asp Cys Asp
580 585 590

Lys Thr Gln Leu Asn Leu Thr Val Glu Leu Thr Thr Ala Glu Val Ile
 595 600 605
 Pro Gly Ser Val Trp Asn Leu Gly Lys Tyr Val Cys Ile Arg Pro Asn
 610 615 620
 Trp Trp Pro Tyr Glu Thr Thr Val Val Leu Ala Phe Glu Glu Val Ser
 625 630 635 640
 Gln Val Val Lys Leu Val Leu Arg Ala Leu Arg Asp Leu Thr Arg Ile
 645 650 655
 Trp Asn Ala Ala Thr Thr Thr Ala Phe Leu Val Cys Leu Val Lys Ile
 660 665 670
 Val Arg Gly Gln Met Val Gln Gly Ile Leu Trp Leu Leu Leu Ile Thr
 675 680 685
 Gly Val Gln Gly His Leu Asp Cys Lys Pro Glu Phe Ser Tyr Ala Ile
 690 695 700
 Ala Lys Asp Glu Arg Ile Gly Gln Leu Gly Ala Glu Gly Leu Thr Thr
 705 710 715 720
 Thr Trp Lys Glu Tyr Ser Pro Gly Met Lys Leu Glu Asp Thr Met Val
 725 730 735
 Ile Ala Trp Cys Glu Asp Gly Lys Leu Met Tyr Leu Gln Arg Cys Thr
 740 745 750
 Arg Glu Thr Arg Tyr Leu Ala Ile Leu His Thr Arg Ala Leu Pro Thr
 755 760 765
 Ser Val Val Phe Lys Lys Leu Phe Asp Gly Arg Lys Gln Glu Asp Val
 770 775 780
 Val Glu Met Asn Asp Asn Phe Glu Phe Gly Leu Cys Pro Cys Asp Ala
 785 790 795 800
 Lys Pro Ile Val Arg Gly Lys Phe Asn Thr Thr Leu Leu Asn Gly Pro
 805 810 815
 Ala Phe Gln Met Val Cys Pro Ile Gly Trp Thr Gly Thr Val Ser Cys
 820 825 830
 Thr Ser Phe Asn Met Asp Thr Leu Ala Thr Thr Val Val Arg Thr Tyr
 835 840 845
 Arg Arg Ser Lys Pro Phe Pro His Arg Gln Gly Cys Ile Thr Gln Lys
 850 855 860
 Asn Leu Gly Glu Asp Leu His Asn Cys Ile Leu Gly Gly Asn Trp Thr
 865 870 875 880
 Cys Val Pro Gly Asp Gln Leu Leu Tyr Lys Gly Gly Ser Ile Glu Ser
 885 890 895

Cys Lys Trp Cys Gly Tyr Gln Phe Lys Glu Ser Glu Gly Leu Pro His
 900 905 910
 Tyr Pro Ile Gly Lys Cys Lys Leu Glu Asn Glu Thr Gly Tyr Arg Leu
 915 920 925
 Val Asp Ser Thr Ser Cys Asn Arg Glu Gly Val Ala Ile Val Pro Gln
 930 935 940
 Gly Thr Leu Lys Cys Lys Ile Gly Lys Thr Thr Val Gln Val Ile Ala
 945 950 955 960
 Met Asp Thr Lys Leu Gly Pro Met Pro Cys Arg Pro Tyr Glu Ile Ile
 965 970 975
 Ser Ser Glu Gly Pro Val Glu Lys Thr Ala Cys Thr Phe Asn Tyr Thr
 980 985 990
 Lys Thr Leu Lys Asn Lys Tyr Phe Glu Pro Arg Asp Ser Tyr Phe Gln
 995 1000 1005
 Gln Tyr Met Leu Lys Gly Glu Tyr Gln Tyr Trp Phe Asp Leu Glu
 1010 1015 1020
 Val Thr Asp His His Arg Asp Tyr Phe Ala Glu Ser Ile Leu Val
 1025 1030 1035
 Val Val Val Ala Leu Leu Gly Gly Arg Tyr Val Leu Trp Leu Leu
 1040 1045 1050
 Val Thr Tyr Met Val Leu Ser Glu Gln Lys Ala Leu Gly Ile Gln
 1055 1060 1065
 Tyr Gly Ser Gly Glu Val Val Met Met Gly Asn Leu Leu Thr His
 1070 1075 1080
 Asn Asn Ile Glu Val Val Thr Tyr Phe Leu Leu Leu Tyr Leu Leu
 1085 1090 1095
 Leu Arg Glu Glu Ser Val Lys Lys Trp Val Leu Leu Leu Tyr His
 1100 1105 1110
 Ile Leu Val Val His Pro Ile Lys Ser Val Ile Val Ile Leu Leu
 1115 1120 1125
 Met Ile Gly Asp Val Val Lys Ala Asp Ser Gly Gly Gln Glu Tyr
 1130 1135 1140
 Leu Gly Lys Ile Asp Leu Cys Phe Thr Thr Val Val Leu Ile Val
 1145 1150 1155
 Ile Gly Leu Ile Ile Ala Arg Arg Asp Pro Thr Ile Val Pro Leu
 1160 1165 1170
 Val Thr Ile Met Ala Ala Leu Arg Val Thr Glu Leu Thr His Gln

1175	1180	1185
Pro Gly Val Asp Ile Ala Val 1190	Ala Val Met Thr 1195	Ile Thr Leu Leu 1200
Met Val Ser Tyr Val Thr 1205	Asp Tyr Phe Arg Tyr 1210	Lys Lys Trp Leu 1215
Gln Cys Ile Leu Ser Leu Val 1220	Ser Ala Val Phe 1225	Leu Ile Arg Ser 1230
Leu Ile Tyr Leu Gly Arg 1235	Ile Glu Met Pro Glu 1240	Val Thr Ile Pro 1245
Asn Trp Arg Pro Leu Thr 1250	Leu Ile Leu Leu Tyr 1255	Leu Ile Ser Thr 1260
Thr Ile Val Thr Arg Trp 1265	Lys Val Asp Val Ala 1270	Gly Leu Leu Leu 1275
Gln Cys Val Pro Ile Leu 1280	Leu Leu Val Thr Thr 1285	Leu Trp Ala Asp 1290
Phe Leu Thr Leu Ile Leu 1295	Ile Leu Pro Thr Tyr 1300	Glu Leu Val Lys 1305
Leu Tyr Tyr Leu Lys Thr 1310	Val Arg Thr Asp Thr 1315	Glu Arg Ser Trp 1320
Leu Gly Gly Ile Asp Tyr 1325	Thr Arg Val Asp Ser 1330	Ile Tyr Asp Val 1335
Asp Glu Ser Gly Glu Gly 1340	Val Tyr Leu Phe Pro 1345	Ser Arg Gln Lys 1350
Ala Gln Gly Asn Phe Ser 1355	Ile Leu Leu Pro Leu 1360	Ile Lys Ala Thr 1365
Leu Ile Ser Cys Val Ser 1370	Ser Lys Trp Gln Leu 1375	Ile Tyr Met Ser 1380
Tyr Leu Thr Leu Asp Phe 1385	Met Tyr Tyr Met His 1390	Arg Lys Val Ile 1395
Glu Glu Ile Ser Gly Gly 1400	Thr Asn Ile Ile Ser 1405	Arg Leu Val Ala 1410
Ala Leu Ile Glu Leu Asn 1415	Trp Ser Met Glu Glu 1420	Glu Glu Ser Lys 1425
Gly Leu Lys Lys Phe Tyr 1430	Leu Leu Ser Gly Arg 1435	Leu Arg Asn Leu 1440
Ile Ile Lys His Lys Val 1445	Arg Asn Glu Thr Val 1450	Ala Ser Trp Tyr 1455

Gly	Glu	Glu	Glu	Val	Tyr	Gly	Met	Pro	Lys	Ile	Met	Thr	Ile	Ile
1460						1465					1470			
Lys	Ala	Ser	Thr	Leu	Ser	Lys	Ser	Arg	His	Cys	Ile	Ile	Cys	Thr
1475						1480					1485			
Val	Cys	Glu	Gly	Arg	Glu	Trp	Lys	Gly	Gly	Thr	Cys	Pro	Lys	Cys
1490						1495					1500			
Gly	Arg	His	Gly	Lys	Pro	Ile	Thr	Cys	Gly	Met	Ser	Leu	Ala	Asp
1505						1510					1515			
Phe	Glu	Glu	Arg	His	Tyr	Lys	Arg	Ile	Phe	Ile	Arg	Glu	Gly	Asn
1520						1525					1530			
Phe	Glu	Gly	Met	Cys	Ser	Arg	Cys	Gln	Gly	Lys	His	Arg	Arg	Phe
1535						1540					1545			
Glu	Met	Asp	Arg	Glu	Pro	Lys	Ser	Ala	Arg	Tyr	Cys	Ala	Glu	Cys
1550						1555					1560			
Asn	Arg	Leu	His	Pro	Ala	Glu	Glu	Gly	Asp	Phe	Trp	Ala	Glu	Ser
1565						1570					1575			
Ser	Met	Leu	Gly	Leu	Lys	Ile	Thr	Tyr	Phe	Ala	Leu	Met	Asp	Gly
1580						1585					1590			
Lys	Val	Tyr	Asp	Ile	Thr	Glu	Trp	Ala	Gly	Cys	Gln	Arg	Val	Gly
1595						1600					1605			
Ile	Ser	Pro	Asp	Thr	His	Arg	Val	Pro	Cys	His	Ile	Ser	Phe	Gly
1610						1615					1620			
Ser	Arg	Met	Pro	Phe	Arg	Gln	Glu	Tyr	Asn	Gly	Phe	Val	Gln	Tyr
1625						1630					1635			
Thr	Ala	Arg	Gly	Gln	Leu	Phe	Leu	Arg	Asn	Leu	Pro	Val	Leu	Ala
1640						1645					1650			
Thr	Lys	Val	Lys	Met	Leu	Met	Val	Gly	Asn	Leu	Gly	Glu	Glu	Ile
1655						1660					1665			
Gly	Asn	Leu	Glu	His	Leu	Gly	Trp	Ile	Leu	Arg	Gly	Pro	Ala	Val
1670						1675					1680			
Cys	Lys	Lys	Ile	Thr	Glu	His	Glu	Lys	Cys	His	Ile	Asn	Ile	Leu
1685						1690					1695			
Asp	Lys	Leu	Thr	Ala	Phe	Phe	Gly	Ile	Met	Pro	Arg	Gly	Thr	Thr
1700						1705					1710			
Pro	Arg	Ala	Pro	Val	Arg	Phe	Pro	Thr	Ser	Leu	Leu	Lys	Val	Arg
1715						1720					1725			
Arg	Gly	Leu	Glu	Thr	Ala	Trp	Ala	Tyr	Thr	His	Gln	Gly	Gly	Ile
1730						1735					1740			

Ser	Ser	Val	Asp	His	Val	Thr	Ala	Gly	Lys	Asp	Leu	Leu	Val	Cys
1745						1750					1755			
Asp	Ser	Met	Gly	Arg	Thr	Arg	Val	Val	Cys	Gln	Ser	Asn	Asn	Arg
1760						1765					1770			
Leu	Thr	Asp	Glu	Thr	Glu	Tyr	Gly	Val	Lys	Thr	Asp	Ser	Gly	Cys
1775						1780					1785			
Pro	Asp	Gly	Ala	Arg	Cys	Tyr	Val	Leu	Asn	Pro	Glu	Ala	Val	Asn
1790						1795					1800			
Ile	Ser	Gly	Ser	Lys	Gly	Ala	Val	Val	His	Leu	Gln	Lys	Thr	Gly
1805						1810					1815			
Gly	Glu	Phe	Thr	Cys	Val	Thr	Ala	Ser	Gly	Thr	Pro	Ala	Phe	Phe
1820						1825					1830			
Asp	Leu	Lys	Asn	Leu	Lys	Gly	Trp	Ser	Gly	Leu	Pro	Ile	Phe	Glu
1835						1840					1845			
Ala	Ser	Ser	Gly	Arg	Val	Val	Gly	Arg	Val	Lys	Val	Gly	Lys	Asn
1850						1855					1860			
Glu	Glu	Ser	Lys	Pro	Thr	Lys	Ile	Met	Ser	Gly	Ile	Gln	Thr	Val
1865						1870					1875			
Ser	Lys	Asn	Arg	Ala	Asp	Leu	Thr	Glu	Met	Val	Lys	Lys	Ile	Thr
1880						1885					1890			
Ser	Met	Asn	Arg	Gly	Asp	Phe	Lys	Gln	Ile	Thr	Leu	Ala	Thr	Gly
1895						1900					1905			
Ala	Gly	Lys	Thr	Thr	Glu	Leu	Pro	Lys	Ala	Val	Ile	Glu	Glu	Ile
1910						1915					1920			
Gly	Arg	His	Lys	Arg	Val	Leu	Val	Leu	Ile	Pro	Leu	Arg	Ala	Ala
1925						1930					1935			
Ala	Glu	Ser	Val	Tyr	Gln	Tyr	Met	Arg	Leu	Lys	His	Pro	Ser	Ile
1940						1945					1950			
Ser	Phe	Asn	Leu	Arg	Ile	Gly	Asp	Met	Lys	Glu	Gly	Asp	Met	Ala
1955						1960					1965			
Thr	Gly	Ile	Thr	Tyr	Ala	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Phe	Cys	Gln	Met	Pro
1970						1975					1980			
Gln	Pro	Lys	Leu	Arg	Ala	Ala	Met	Val	Glu	Tyr	Ser	Tyr	Ile	Phe
1985						1990					1995			
Leu	Asp	Glu	Tyr	His	Cys	Ala	Thr	Pro	Glu	Gln	Leu	Ala	Ile	Ile
2000						2005					2010			
Gly	Lys	Ile	His	Arg	Phe	Ser	Glu	Ser	Ile	Arg	Val	Val	Ala	Met
2015						2020					2025			

Thr 2030	Ala	Thr	Pro	Ala	Gly	Ser 2035	Val	Thr	Thr	Thr	Gly 2040	Gln	Lys	His
Pro 2045	Ile	Glu	Glu	Phe	Ile	Ala 2050	Pro	Glu	Val	Met	Lys 2055	Gly	Glu	Asp
Leu 2060	Gly	Ser	Gln	Phe	Leu	Asp 2065	Ile	Ala	Gly	Leu	Lys 2070	Ile	Pro	Val
Asp 2075	Glu	Met	Lys	Gly	Asn	Met 2080	Leu	Val	Phe	Val	Pro 2085	Thr	Arg	Asn
Met 2090	Ala	Val	Glu	Val	Ala	Lys 2095	Lys	Leu	Lys	Ala	Lys 2100	Gly	Tyr	Asn
Ser 2105	Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Gly 2110	Glu	Asp	Pro	Ala	Asn 2115	Leu	Arg	Val
Val 2120	Thr	Ser	Gln	Ser	Pro	Tyr 2125	Val	Ile	Val	Ala	Thr 2130	Asn	Ala	Ile
Glu 2135	Ser	Gly	Val	Thr	Leu	Pro 2140	Asp	Leu	Asp	Thr	Val 2145	Ile	Asp	Thr
Gly 2150	Leu	Lys	Cys	Glu	Lys	Arg 2155	Val	Arg	Val	Ser	Ser 2160	Lys	Ile	Pro
Phe 2165	Ile	Val	Thr	Gly	Leu	Lys 2170	Arg	Met	Ala	Val	Thr 2175	Val	Gly	Glu
Gln 2180	Ala	Gln	Arg	Arg	Gly	Arg 2185	Val	Gly	Arg	Val	Lys 2190	Pro	Gly	Arg
Tyr 2195	Tyr	Arg	Ser	Gln	Glu	Thr 2200	Ala	Thr	Gly	Ser	Lys 2205	Asp	Tyr	His
Tyr 2210	Asp	Leu	Leu	Gln	Ala	Gln 2215	Arg	Tyr	Gly	Ile	Glu 2220	Asp	Gly	Ile
Asn 2225	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Arg 2230	Glu	Met	Asn	Tyr	Asp 2235	Trp	Ser	Leu
Tyr 2240	Glu	Glu	Asp	Ser	Leu	Leu 2245	Ile	Thr	Gln	Leu	Glu 2250	Ile	Leu	Asn
Asn 2255	Leu	Leu	Ile	Ser	Glu	Asp 2260	Leu	Pro	Ala	Ala	Val 2265	Lys	Asn	Ile
Met 2270	Ala	Arg	Thr	Asp	His	Pro 2275	Glu	Pro	Ile	Gln	Leu 2280	Ala	Tyr	Asn
Ser 2285	Tyr	Glu	Val	Gln	Val	Pro 2290	Val	Leu	Phe	Pro	Lys 2295	Ile	Arg	Asn
Gly	Glu	Val	Thr	Asp	Thr	Tyr	Glu	Asn	Tyr	Ser	Phe	Leu	Asn	Ala

2300	2305	2310
Arg Lys 2315	Leu Gly Glu Asp Val 2320	Pro Val Tyr Ile Tyr 2325
Ala Thr Glu		
Asp Glu 2330	Asp Leu Ala Val 2335	Leu Leu Gly Leu Asp 2340
Trp Pro Asp		
Pro Gly 2345	Asn Gln Gln Val 2350	Glu Thr Gly Lys Ala 2355
Leu Lys Gln		
Val Thr 2360	Gly Leu Ser Ser 2365	Ala Glu Asn Ala Leu 2370
Val Ala Leu		
Phe Gly 2375	Tyr Val Gly Tyr 2380	Gln Ala Leu Ser Lys 2385
His Val Pro		
Met Ile 2390	Thr Asp Ile Tyr 2395	Ile Glu Asp Gln Arg 2400
Leu Glu Asp		
Thr Thr 2405	His Leu Gln Tyr 2410	Ala Pro Asn Ala Ile 2415
Lys Thr Asp Gly		
Thr Glu 2420	Thr Glu Leu Lys 2425	Glu Leu Ala Ser Gly 2430
Val Glu Lys		
Ile Met 2435	Gly Ala Ile Ser 2440	Asp Tyr Ala Ala Gly 2445
Leu Glu Phe		
Val Lys 2450	Ser Gln Ala Glu 2455	Lys Ile Lys Thr Ala 2460
Leu Phe Lys		
Glu Asn 2465	Ala Glu Ala Ala 2470	Lys Gly Tyr Val Gln 2475
Phe Ile Asp		
Ser Leu 2480	Ile Glu Asn Lys 2485	Glu Glu Ile Ile Arg 2490
Gly Leu Trp		
Gly Thr 2495	His Thr Ala Leu 2500	Tyr Lys Ser Ile Ala 2505
Arg Leu Gly		
His Glu 2510	Thr Ala Phe Ala 2515	Thr Leu Val Leu Lys 2520
Leu Ala Phe		
Gly Gly 2525	Glu Ser Val Ser 2530	Asp His Val Lys Gln 2535
Ala Val Asp		
Leu Val 2540	Val Tyr Tyr Val 2545	Met Asn Lys Pro Ser 2550
Pro Gly Asp		
Ser Glu 2555	Thr Gln Gln Glu 2560	Gly Arg Arg Phe Val 2565
Ser Leu Phe		
Ile Ser 2570	Ala Leu Ala Thr 2575	Tyr Thr Tyr Lys Thr 2580
Asn Tyr His		

Asn Leu Ser Lys Val Val Glu Pro Ala Leu Ala Tyr Leu Pro Tyr
 2585 2590 2595
 Ala Thr Ser Ala Leu Lys Met Phe Thr Pro Thr Arg Leu Glu Ser
 2600 2605 2610
 Val Val Ile Leu Ser Thr Thr Ile Tyr Lys Thr Tyr Leu Ser Ile
 2615 2620 2625
 Arg Lys Gly Lys Ser Asp Gly Leu Leu Gly Thr Gly Ile Ser Ala
 2630 2635 2640
 Ala Met Glu Ile Leu Ser Gln Asn Pro Val Ser Val Gly Ile Ser
 2645 2650 2655
 Val Met Leu Gly Val Gly Ala Ile Ala Ala His Asn Ala Ile Glu
 2660 2665 2670
 Ser Ser Glu Gln Lys Arg Thr Leu Leu Met Lys Val Phe Val Lys
 2675 2680 2685
 Asn Phe Leu Asp Gln Ala Ala Thr Asp Glu Leu Val Lys Glu Asn
 2690 2695 2700
 Pro Glu Lys Ile Ile Met Ala Leu Phe Glu Ala Val Gln Thr Ile
 2705 2710 2715
 Gly Asn Pro Leu Arg Leu Ile Tyr His Leu Tyr Gly Val Tyr Tyr
 2720 2725 2730
 Lys Gly Trp Glu Ala Lys Glu Leu Ser Glu Arg Thr Ala Gly Arg
 2735 2740 2745
 Asn Leu Phe Thr Leu Ile Met Phe Glu Ala Phe Glu Leu Leu Gly
 2750 2755 2760
 Met Asp Ser Gln Gly Lys Ile Arg Asn Leu Ser Gly Asn Tyr Ile
 2765 2770 2775
 Leu Asp Leu Ile Tyr Gly Leu His Lys Gln Ile Asn Arg Gly Leu
 2780 2785 2790
 Lys Lys Met Val Leu Gly Trp Ala Pro Ala Pro Phe Ser Cys Asp
 2795 2800 2805
 Trp Thr Pro Ser Asp Glu Arg Ile Arg Leu Pro Thr Asp Asn Tyr
 2810 2815 2820
 Leu Arg Val Glu Thr Arg Cys Pro Cys Gly Tyr Glu Met Lys Ala
 2825 2830 2835
 Phe Lys Asn Val Gly Gly Lys Leu Thr Lys Val Glu Glu Ser Gly
 2840 2845 2850
 Pro Phe Leu Cys Arg Asn Arg Pro Gly Arg Gly Pro Val Asn Tyr
 2855 2860 2865

Arg Val Thr Lys Tyr Tyr Asp Asp Asn Leu Arg Glu Ile Lys Pro
2870 2875 2880

Val Ala Lys Leu Glu Gly Gln Val Glu His Tyr Tyr Lys Gly Val
2885 2890 2895

Thr Ala Lys Ile Asp Tyr Ser Lys Gly Lys Met Leu Leu Ala Thr
2900 2905 2910

Asp Lys Trp Glu Val Glu His Gly Val Ile Thr Arg Leu Ala Lys
2915 2920 2925

Arg Tyr Thr Gly Val Gly Phe Asn Gly Ala Tyr Leu Gly Asp Glu
2930 2935 2940

Pro Asn His Arg Ala Leu Val Glu Arg Asp Cys Ala Thr Ile Thr
2945 2950 2955

Lys Asn Thr Val Gln Phe Leu Lys Met Lys Lys Gly Cys Ala Phe
2960 2965 2970

Thr Tyr Asp Leu Thr Ile Ser Asn Leu Thr Arg Leu Ile Glu Leu
2975 2980 2985

Val His Arg Asn Asn Leu Glu Glu Lys Glu Ile Pro Thr Ala Thr
2990 2995 3000

Val Thr Thr Trp Leu Ala Tyr Thr Phe Val Asn Glu Asp Val Gly
3005 3010 3015

Thr Ile Lys Pro Val Leu Gly Glu Arg Val Ile Pro Asp Pro Val
3020 3025 3030

Val Asp Ile Asn Leu Gln Pro Glu Val Gln Val Asp Thr Ser Glu
3035 3040 3045

Val Gly Ile Thr Ile Ile Gly Arg Glu Thr Leu Met Thr Thr Gly
3050 3055 3060

Val Thr Pro Val Leu Glu Lys Val Glu Pro Asp Ala Ser Asp Asn
3065 3070 3075

Gln Asn Ser Val Lys Ile Gly Leu Asp Glu Gly Asn Tyr Pro Gly
3080 3085 3090

Pro Gly Ile Gln Thr His Thr Leu Thr Glu Glu Ile His Asn Arg
3095 3100 3105

Asp Ala Arg Pro Phe Ile Met Ile Leu Gly Ser Arg Asn Ser Ile
3110 3115 3120

Ser Asn Arg Ala Lys Thr Ala Arg Asn Ile Asn Leu Tyr Thr Gly
3125 3130 3135

Asn Asp Pro Arg Glu Ile Arg Asp Leu Met Ala Ala Gly Arg Met
3140 3145 3150

Leu Val Val Ala Leu Arg Asp Val Asp Pro Glu Leu Ser Glu Met
 3155 3160 3165
 Val Asp Phe Lys Gly Thr Phe Leu Asp Arg Glu Ala Leu Glu Ala
 3170 3175 3180
 Leu Ser Leu Gly Gln Pro Lys Pro Lys Gln Val Thr Lys Glu Ala
 3185 3190 3195
 Val Arg Asn Leu Ile Glu Gln Lys Lys Asp Val Glu Ile Pro Asn
 3200 3205 3210
 Trp Phe Ala Ser Asp Asp Pro Val Phe Leu Glu Val Ala Leu Lys
 3215 3220 3225
 Asn Asp Lys Tyr Tyr Leu Val Gly Asp Val Gly Glu Leu Lys Asp
 3230 3235 3240
 Gln Ala Lys Ala Leu Gly Ala Thr Asp Gln Thr Arg Ile Ile Lys
 3245 3250 3255
 Glu Val Gly Ser Arg Thr Tyr Ala Met Lys Leu Ser Ser Trp Phe
 3260 3265 3270
 Leu Lys Ala Ser Asn Lys Gln Met Ser Leu Thr Pro Leu Phe Glu
 3275 3280 3285
 Glu Leu Leu Leu Arg Cys Pro Pro Ala Thr Lys Ser Asn Lys Gly
 3290 3295 3300
 His Met Ala Ser Ala Tyr Gln Leu Ala Gln Gly Asn Trp Glu Pro
 3305 3310 3315
 Leu Gly Cys Gly Val His Leu Gly Thr Ile Pro Ala Arg Arg Val
 3320 3325 3330
 Lys Ile His Pro Tyr Glu Ala Tyr Leu Lys Leu Lys Asp Phe Ile
 3335 3340 3345
 Glu Glu Glu Glu Lys Lys Pro Arg Val Lys Asp Thr Val Ile Arg
 3350 3355 3360
 Glu His Asn Lys Trp Ile Leu Lys Lys Ile Arg Phe Gln Gly Asn
 3365 3370 3375
 Leu Asn Thr Lys Lys Met Leu Asn Pro Gly Lys Leu Ser Glu Gln
 3380 3385 3390
 Leu Asp Arg Glu Gly Arg Lys Arg Asn Ile Tyr Asn His Gln Ile
 3395 3400 3405
 Gly Thr Ile Met Ser Ser Ala Gly Ile Arg Leu Glu Lys Leu Pro
 3410 3415 3420
 Ile Val Arg Ala Gln Thr Asp Thr Lys Thr Phe His Glu Ala Ile

3425	3430	3435
Arg Asp Lys Ile Asp Lys Ser Glu Asn Arg Gln Asn Pro Glu Leu 3440 3445 3450		
His Asn Lys Leu Leu Glu Ile Phe His Thr Ile Ala Gln Pro Thr 3455 3460 3465		
Leu Lys His Thr Tyr Gly Glu Val Thr Trp Glu Gln Leu Glu Ala 3470 3475 3480		
Gly Val Asn Arg Lys Gly Ala Ala Gly Phe Leu Glu Lys Lys Asn 3485 3490 3495		
Ile Gly Glu Val Leu Asp Ser Glu Lys His Leu Val Glu Gln Leu 3500 3505 3510		
Val Arg Asp Leu Lys Ala Gly Arg Lys Ile Lys Tyr Tyr Glu Thr 3515 3520 3525		
Ala Ile Pro Lys Asn Glu Lys Arg Asp Val Ser Asp Asp Trp Gln 3530 3535 3540		
Ala Gly Asp Leu Val Val Glu Lys Arg Pro Arg Val Ile Gln Tyr 3545 3550 3555		
Pro Glu Ala Lys Thr Arg Leu Ala Ile Thr Lys Val Met Tyr Asn 3560 3565 3570		
Trp Val Lys Gln Gln Pro Val Val Ile Pro Gly Tyr Glu Gly Lys 3575 3580 3585		
Thr Pro Leu Phe Asn Ile Phe Asp Lys Val Arg Lys Glu Trp Asp 3590 3595 3600		
Ser Phe Asn Glu Pro Val Ala Val Ser Phe Asp Thr Lys Ala Trp 3605 3610 3615		
Asp Thr Gln Val Thr Ser Lys Asp Leu Gln Leu Ile Gly Glu Ile 3620 3625 3630		
Gln Lys Tyr Tyr Tyr Lys Lys Glu Trp His Lys Phe Ile Asp Thr 3635 3640 3645		
Ile Thr Asp His Met Thr Glu Val Pro Val Ile Thr Ala Asp Gly 3650 3655 3660		
Glu Val Tyr Ile Arg Asn Gly Gln Arg Gly Ser Gly Gln Pro Asp 3665 3670 3675		
Thr Ser Ala Gly Asn Ser Met Leu Asn Val Leu Thr Met Met Tyr 3680 3685 3690		
Gly Phe Cys Glu Ser Thr Gly Val Pro Tyr Lys Ser Phe Asn Arg 3695 3700 3705		

Val Ala Arg Ile His Val Cys Gly Asp Asp Gly Phe Leu Ile Thr
3710 3715 3720

Glu Lys Gly Leu Gly Leu Lys Phe Ala Asn Lys Gly Met Gln Ile
3725 3730 3735

Leu His Glu Ala Gly Lys Pro Gln Lys Ile Thr Glu Gly Glu Lys
3740 3745 3750

Met Lys Val Ala Tyr Arg Phe Glu Asp Ile Glu Phe Cys Ser His
3755 3760 3765

Thr Pro Val Pro Val Arg Trp Ser Asp Asn Thr Ser Ser His Met
3770 3775 3780

Ala Gly Arg Asp Thr Ala Val Ile Leu Ser Lys Met Ala Thr Arg
3785 3790 3795

Leu Asp Ser Ser Gly Glu Arg Gly Thr Thr Ala Tyr Glu Lys Ala
3800 3805 3810

Val Ala Phe Ser Phe Leu Leu Met Tyr Ser Trp Asn Pro Leu Val
3815 3820 3825

Arg Arg Ile Cys Leu Leu Val Leu Ser Gln Gln Pro Glu Thr Asp
3830 3835 3840

Pro Ser Lys His Ala Thr Tyr Tyr Tyr Lys Gly Asp Pro Ile Gly
3845 3850 3855

Ala Tyr Lys Asp Val Ile Gly Arg Asn Leu Ser Glu Leu Lys Arg
3860 3865 3870

Thr Gly Phe Glu Lys Leu Ala Asn Leu Asn Leu Ser Leu Ser Thr
3875 3880 3885

Leu Gly Val Trp Thr Lys His Thr Ser Lys Arg Ile Ile Gln Asp
3890 3895 3900

Cys Val Ala Ile Gly Lys Glu Glu Gly Asn Trp Leu Val Lys Pro
3905 3910 3915

Asp Arg Leu Ile Ser Ser Lys Thr Gly His Leu Tyr Ile Pro Asp
3920 3925 3930

Lys Gly Phe Thr Leu Gln Gly Lys His Tyr Glu Gln Leu Gln Leu
3935 3940 3945

Arg Thr Glu Thr Asn Pro Val Met Gly Val Gly Thr Glu Arg Tyr
3950 3955 3960

Lys Leu Gly Pro Ile Val Asn Leu Leu Leu Arg Arg Leu Lys Ile
3965 3970 3975

Leu Leu Met Thr Ala Val Gly Val Ser Ser
3980 3985

<210> 6
 <211> 3898
 <212> PRT
 <213> 瘟病毒属牛病毒性下痢病毒 1

<400> 6

Met Glu Leu Ile Thr Asn Glu Leu Leu Tyr Lys Thr Tyr Lys Gln Lys
 1 5 10 15

Pro Val Gly Val Glu Glu Pro Val Tyr Asp Gln Ala Gly Asn Pro Leu
 20 25 30

Phe Gly Glu Arg Gly Ala Ile His Pro Gln Ser Thr Leu Lys Leu Pro
 35 40 45

His Lys Arg Gly Glu Arg Asn Val Pro Thr Ser Leu Ala Ser Leu Pro
 50 55 60

Lys Arg Gly Asp Cys Arg Ser Gly Asn Ser Lys Gly Pro Val Ser Gly
 65 70 75 80

Ile Tyr Leu Lys Pro Gly Pro Leu Phe Tyr Gln Asp Tyr Lys Gly Pro
 85 90 95

Val Tyr His Arg Ala Pro Leu Glu Leu Phe Glu Glu Gly Ser Met Cys
 100 105 110

Glu Thr Thr Lys Arg Ile Gly Arg Val Thr Gly Ser Asp Gly Lys Leu
 115 120 125

Tyr His Ile Tyr Ile Cys Ile Asp Gly Cys Ile Thr Val Lys Ser Ala
 130 135 140

Thr Arg Ser His Gln Arg Val Leu Arg Trp Val His Asn Arg Leu Asp
 145 150 155 160

Cys Pro Leu Trp Val Thr Ser Cys Ser Asp Thr Lys Glu Glu Gly Ala
 165 170 175

Thr Lys Lys Lys Gln Gln Lys Pro Asp Arg Leu Glu Lys Gly Arg Met
 180 185 190

Lys Ile Val Pro Lys Glu Ser Glu Lys Asp Ser Lys Thr Lys Pro Pro
 195 200 205

Asp Ala Thr Ile Val Val Asp Gly Val Lys Tyr Gln Val Lys Lys Lys
 210 215 220

Gly Lys Val Lys Ser Lys Asn Thr Gln Asp Gly Leu Tyr His Asn Lys
 225 230 235 240

Asn Lys Pro Pro Glu Ser Arg Lys Lys Leu Glu Lys Ala Leu Leu Ala
 245 250 255

Trp Ala Ile Leu Ala Val Val Leu Ile Glu Val Thr Met Gly Glu Asn
 260 265 270

Ile Thr Gln Trp Asn Leu Gln Asp Asn Gly Thr Glu Gly Ile Gln Arg
275 280 285

Ala Met Phe Gln Arg Gly Val Asn Arg Ser Leu His Gly Ile Trp Pro
290 295 300

Glu Lys Ile Cys Thr Gly Val Pro Ser His Leu Ala Thr Asp Val Glu
305 310 315 320

Leu Lys Thr Ile His Gly Met Met Asp Ala Ser Glu Lys Thr Asn Tyr
325 330 335

Thr Cys Cys Arg Leu Gln Arg His Glu Trp Asn Lys His Gly Trp Cys
340 345 350

Asn Trp Tyr Asn Ile Glu Pro Trp Ile Leu Ile Met Asn Arg Thr Gln
355 360 365

Ala Asn Leu Thr Glu Gly Gln Pro Pro Arg Glu Cys Ala Val Thr Cys
370 375 380

Arg Tyr Asp Arg Asp Ser Asp Leu Asn Val Val Thr Gln Ala Arg Asp
385 390 395 400

Ser Pro Thr Pro Leu Thr Gly Cys Lys Lys Gly Lys Asn Phe Ser Phe
405 410 415

Ala Gly Val Leu Thr Arg Gly Pro Cys Asn Phe Glu Ile Ala Ala Ser
420 425 430

Asp Val Leu Phe Lys Glu His Glu Cys Thr Gly Val Phe Gln Asp Thr
435 440 445

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

Gln Gly Thr Ala Lys Leu Thr Thr Trp Leu Gly Lys Gln Leu Gly Ile
465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Glu Asn Lys Ser Lys Thr Trp Phe Gly Ala Tyr
485 490 495

Ala Ala Ser Pro Tyr Cys Asp Val Asp Arg Lys Ile Gly Tyr Ile Trp
500 505 510

Phe Thr Lys Asn Cys Thr Pro Ala Cys Leu Pro Lys Asn Thr Lys Ile
515 520 525

Ile Gly Pro Gly Lys Phe Asp Thr Asn Ala Glu Asp Gly Lys Ile Leu
530 535 540

His Glu Met Gly Gly His Leu Ser Glu Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
545 550 555 560

Val Leu Ser Asp Phe Ala Pro Glu Thr Ala Ser Ala Met Tyr Leu Ile
565 570 575

Leu His Phe Ser Ile Pro Gln Ser His Val Asp Ile Thr Asp Cys Asp
 580 585 590
 Lys Thr Gln Leu Asn Leu Thr Ile Glu Leu Thr Thr Ala Asp Val Ile
 595 600 605
 Pro Gly Ser Val Trp Asn Leu Gly Lys Tyr Val Cys Ile Arg Pro Asp
 610 615 620
 Trp Trp Pro Tyr Glu Thr Ala Ala Val Leu Ala Phe Glu Glu Val Gly
 625 630 635 640
 Gln Val Val Lys Ile Val Leu Arg Ala Leu Arg Asp Leu Thr Arg Ile
 645 650 655
 Trp Asn Ala Ala Thr Thr Thr Ala Phe Leu Val Cys Leu Ile Lys Met
 660 665 670
 Val Arg Gly Gln Val Val Gln Gly Ile Leu Trp Leu Leu Ile Thr
 675 680 685
 Gly Val Gln Gly His Leu Asp Cys Lys Pro Glu Tyr Ser Tyr Ala Ile
 690 695 700
 Ala Lys Asn Asp Arg Val Gly Pro Leu Gly Ala Glu Gly Leu Thr Thr
 705 710 715 720
 Val Trp Lys Asp Tyr Ser His Glu Met Lys Leu Glu Asp Thr Met Val
 725 730 735
 Ile Ala Trp Cys Lys Gly Gly Lys Phe Thr Tyr Leu Ser Arg Cys Thr
 740 745 750
 Arg Glu Thr Arg Tyr Leu Ala Ile Leu His Ser Arg Ala Leu Pro Thr
 755 760 765
 Ser Val Val Phe Lys Lys Leu Phe Glu Gly Gln Lys Gln Glu Asp Thr
 770 775 780
 Val Glu Met Asp Asp Asp Phe Glu Phe Gly Leu Cys Pro Cys Asp Ala
 785 790 795 800
 Lys Pro Ile Val Arg Gly Lys Phe Asn Thr Thr Leu Leu Asn Gly Pro
 805 810 815
 Ala Phe Gln Met Val Cys Pro Ile Gly Trp Thr Gly Thr Val Ser Cys
 820 825 830
 Met Leu Ala Asn Arg Asp Thr Leu Asp Thr Ala Val Val Arg Thr Tyr
 835 840 845
 Arg Arg Ser Val Pro Phe Pro Tyr Arg Gln Gly Cys Ile Thr Gln Lys
 850 855 860
 Thr Leu Gly Glu Asp Leu Tyr Asp Cys Ala Leu Gly Gly Asn Trp Thr

865		870		875		880
Cys Val Thr Gly	Asp Gln Ser Arg Tyr	Thr Gly Gly Leu Ile	Glu Ser			
	885		890			895
Cys Lys Trp	Cys Gly Tyr Lys Phe	Gln Lys Ser Glu Gly	Leu Pro His			
	900		905			910
Tyr Pro Ile	Gly Lys Cys Arg	Leu Asn Asn Glu Thr	Gly Tyr Arg Leu			
	915		920			925
Val Asp Asp Thr Ser Cys	Asp Arg Glu Gly Val	Ala Ile Val Pro His				
	930		935			940
Gly Leu Val Lys Cys	Lys Ile Gly Asp Thr	Thr Val Gln Val Ile Ala				
	945		950			955
Thr Asp Thr Lys	Leu Gly Pro Met Pro	Cys Lys Pro His Glu Ile Ile				
	965		970			975
Ser Ser Glu Gly Pro Ile Glu Lys	Thr Ala Cys Thr Phe	Asn Tyr Thr				
	980		985			990
Arg Thr Leu Lys Asn Lys Tyr Phe	Glu Pro Arg Asp Ser	Tyr Phe Gln				
	995		1000			1005
Gln Tyr Met Leu Lys Gly Asp	Tyr Gln Tyr Trp Phe	Asp Leu Glu				
	1010		1015			1020
Val Thr Asp His His Arg Asp	Tyr Phe Ala Glu Ser	Ile Leu Val				
	1025		1030			1035
Val Val Val Ala Leu Leu Gly	Gly Arg Tyr Val Leu	Trp Leu Leu				
	1040		1045			1050
Val Thr Tyr Met Val Leu Ser	Glu Gln Lys Ala Ser	Gly Ala Gln				
	1055		1060			1065
Tyr Gly Ala Gly Glu Val Val	Met Met Gly Asn Leu	Leu Thr His				
	1070		1075			1080
Asp Asn Val Glu Val Val Thr	Tyr Phe Phe Leu Leu	Tyr Leu Leu				
	1085		1090			1095
Leu Arg Glu Glu Ser Val Lys	Lys Trp Val Leu Leu	Leu Tyr His				
	1100		1105			1110
Ile Leu Val Ala His Pro Leu	Lys Ser Val Ile Val	Ile Leu Leu				
	1115		1120			1125
Met Ile Gly Asp Val Val Lys	Ala Asp Pro Gly Gly	Gln Gly Tyr				
	1130		1135			1140
Leu Gly Gln Ile Asp Val Cys	Phe Thr Met Val Val	Ile Ile Ile				
	1145		1150			1155

Ile Gly 1160	Leu Ile Ile Ala Arg Arg Asp Pro Thr Ile Val Pro Leu 1165 1170
Ile Thr 1175	Ile Val Ala Ser Leu Arg Val Thr Gly Leu Thr Tyr Ser 1180 1185
Pro Gly 1190	Val Asp Ala Ala Met Ala Val Ile Thr Ile Thr Leu Leu 1195 1200
Met Val 1205	Ser Tyr Val Thr Asp Tyr Phe Arg Tyr Lys Arg Trp Leu 1210 1215
Gln Cys 1220	Ile Leu Ser Leu Val Ser Gly Val Phe Leu Ile Arg Cys 1225 1230
Leu Ile 1235	His Leu Gly Arg Ile Glu Thr Pro Glu Val Thr Ile Pro 1240 1245
Asn Trp 1250	Arg Pro Leu Thr Leu Ile Leu Phe Tyr Leu Ile Ser Thr 1255 1260
Thr Val 1265	Val Thr Met Trp Lys Ile Asp Leu Ala Gly Leu Leu Leu 1270 1275
Gln Gly 1280	Val Pro Ile Leu Leu Leu Ile Thr Thr Leu Trp Ala Asp 1285 1290
Phe Leu 1295	Thr Leu Ile Leu Ile Leu Pro Thr Tyr Glu Leu Val Lys 1300 1305
Leu Tyr 1310	Tyr Leu Lys Thr Ile Lys Thr Asp Ile Glu Lys Ser Trp 1315 1320
Leu Gly 1325	Gly Leu Asp Tyr Lys Arg Val Asp Ser Ile Tyr Asp Val 1330 1335
Asp Glu 1340	Ser Gly Glu Gly Val Tyr Leu Phe Pro Ser Arg Gln Lys 1345 1350
Ala Gln 1355	Lys Asn Phe Ser Met Leu Leu Pro Leu Val Arg Ala Thr 1360 1365
Leu Ile 1370	Ser Cys Val Ser Ser Lys Trp Gln Leu Ile Tyr Met Ala 1375 1380
Tyr Leu 1385	Ser Val Asp Phe Met Tyr Tyr Met His Arg Lys Val Ile 1390 1395
Glu Glu 1400	Ile Ser Gly Gly Thr Asn Met Ile Ser Arg Ile Val Ala 1405 1410
Ala Leu 1415	Ile Glu Leu Asn Trp Ser Met Glu Glu Glu Glu Ser Lys 1420 1425
Gly Leu 1430	Lys Lys Phe Tyr Leu Leu Ser Gly Arg Leu Arg Asn Leu 1435 1440

Ile Ile	Lys His Lys Val	Arg	Asn Glu Thr Val	Ala	Gly Trp Tyr
1445		1450		1455	
Gly Glu	Glu Glu Val Tyr	Gly	Met Pro Lys Ile	Met	Thr Ile Ile
1460		1465		1470	
Lys Ala	Ser Thr Leu Asn	Lys	Asn Lys His Cys	Ile	Ile Cys Thr
1475		1480		1485	
Val Cys	Glu Gly Arg Lys	Trp	Lys Gly Gly Thr	Cys	Pro Lys Cys
1490		1495		1500	
Gly Arg	His Gly Lys Pro	Ile	Thr Cys Gly Met	Ser	Leu Ala Asp
1505		1510		1515	
Phe Glu	Glu Arg His Tyr	Lys	Arg Ile Phe Ile	Arg	Glu Gly Asn
1520		1525		1530	
Phe Glu	Gly Pro Phe Arg	Gln	Glu Tyr Asn Gly	Phe	Ile Gln Tyr
1535		1540		1545	
Thr Ala	Arg Gly Gln Leu	Phe	Leu Arg Asn Leu	Pro	Ile Leu Ala
1550		1555		1560	
Thr Lys	Val Lys Met Leu	Met	Val Gly Asn Leu	Gly	Glu Glu Val
1565		1570		1575	
Gly Asp	Leu Glu His Leu	Gly	Trp Ile Leu Arg	Gly	Pro Ala Val
1580		1585		1590	
Cys Lys	Lys Ile Thr Glu	His	Glu Arg Cys His	Ile	Asn Ile Leu
1595		1600		1605	
Asp Lys	Leu Thr Ala Phe	Phe	Gly Ile Met Pro	Arg	Gly Thr Thr
1610		1615		1620	
Pro Arg	Ala Pro Val Arg	Phe	Pro Thr Ser Leu	Leu	Lys Val Arg
1625		1630		1635	
Arg Gly	Leu Glu Thr Gly	Trp	Ala Tyr Thr His	Gln	Gly Gly Ile
1640		1645		1650	
Ser Ser	Val Asp His Val	Thr	Ala Gly Lys Asp	Leu	Leu Val Cys
1655		1660		1665	
Asp Ser	Met Gly Arg Thr	Arg	Val Val Cys Gln	Ser	Asn Asn Lys
1670		1675		1680	
Leu Thr	Asp Glu Thr Glu	Tyr	Gly Val Lys Thr	Asp	Ser Gly Cys
1685		1690		1695	
Pro Asp	Gly Ala Arg Cys	Tyr	Val Leu Asn Pro	Glu	Ala Val Asn
1700		1705		1710	
Ile Ser	Gly Ser Lys Gly	Ala	Val Val His Leu	Gln	Lys Thr Gly
1715		1720		1725	

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

2000	2005	2010
Ser Gly 2015	Tyr Tyr Tyr Ser Gly 2020	Glu Asp Pro Ala Asn Leu Arg Val 2025
Val Thr 2030	Ser Gln Ser Pro Tyr 2035	Val Ile Val Ala Thr Asn Ala Ile 2040
Glu Ser 2045	Gly Val Thr Leu Pro 2050	Asp Leu Asp Thr Val Val Asp Thr 2055
Gly Leu 2060	Lys Cys Glu Lys Arg 2065	Val Arg Val Ser Ser Lys Ile Pro 2070
Phe Ile 2075	Val Thr Gly Leu Lys 2080	Arg Met Ala Val Thr Val Gly Glu 2085
Gln Ala 2090	Gln Arg Arg Gly Arg 2095	Val Gly Arg Val Lys Pro Gly Arg 2100
Tyr Tyr 2105	Arg Ser Gln Glu Thr 2110	Ala Thr Gly Ser Lys Asp Tyr His 2115
Tyr Asp 2120	Leu Leu Gln Ala Gln 2125	Arg Tyr Gly Ile Glu Asp Gly Ile 2130
Asn Val 2135	Thr Lys Ser Phe Arg 2140	Glu Met Asn Tyr Asp Trp Ser Leu 2145
Tyr Glu 2150	Glu Asp Ser Leu Leu 2155	Ile Thr Gln Leu Glu Ile Leu Asn 2160
Asn Leu 2165	Leu Ile Ser Glu Asp 2170	Leu Pro Ala Ala Val Lys Asn Ile 2175
Met Ala 2180	Arg Thr Asp His Pro 2185	Glu Pro Ile Gln Leu Ala Tyr Asn 2190
Ser Tyr 2195	Glu Val Gln Val Pro 2200	Val Leu Phe Pro Lys Ile Arg Asn 2205
Gly Glu 2210	Val Thr Asp Thr Tyr 2215	Glu Asn Tyr Ser Phe Leu Asn Ala 2220
Arg Lys 2225	Leu Gly Glu Asp Val 2230	Pro Val Tyr Ile Tyr Ala Thr Glu 2235
Asp Glu 2240	Asp Leu Ala Val Asp 2245	Leu Leu Gly Leu Asp Trp Pro Asp 2250
Pro Gly 2255	Asn Gln Gln Val Val 2260	Glu Thr Gly Lys Ala Leu Lys Gln 2265
Val Ala 2270	Gly Leu Ser Ser Ala 2275	Glu Asn Ala Leu Leu Val Ala Leu 2280

Phe Gly	Tyr Val	Gly Tyr	Gln	Ala Leu	Ser Lys	Arg	His Val	Pro
2285			2290			2295		
Met Ile	Thr Asp	Ile Tyr	Thr	Ile Glu	Asp Gln	Arg	Leu Glu	Asp
2300			2305			2310		
Thr Thr	His Leu	Gln Tyr	Ala	Pro Asn	Ala Ile	Lys	Thr Glu	Gly
2315			2320			2325		
Thr Glu	Thr Glu	Leu Lys	Glu	Leu Ala	Ser Gly	Asp	Val Glu	Lys
2330			2335			2340		
Ile Met	Gly Ala	Ile Ser	Asp	Tyr Ala	Ala Gly	Gly	Leu Asp	Phe
2345			2350			2355		
Val Lys	Ser Gln	Ala Glu	Lys	Ile Lys	Thr Ala	Pro	Leu Phe	Lys
2360			2365			2370		
Glu Asn	Val Glu	Ala Ala	Arg	Gly Tyr	Val Gln	Lys	Leu Ile	Asp
2375			2380			2385		
Ser Leu	Ile Glu	Asp Lys	Asp	Val Ile	Ile Arg	Tyr	Gly Leu	Trp
2390			2395			2400		
Gly Thr	His Thr	Ala Leu	Tyr	Lys Ser	Ile Ala	Ala	Arg Leu	Gly
2405			2410			2415		
His Glu	Thr Ala	Phe Ala	Thr	Leu Val	Leu Lys	Trp	Leu Ala	Phe
2420			2425			2430		
Gly Gly	Glu Thr	Val Ser	Asp	His Ile	Arg Gln	Ala	Ala Val	Asp
2435			2440			2445		
Leu Val	Val Tyr	Tyr Val	Met	Asn Lys	Pro Ser	Phe	Pro Gly	Asp
2450			2455			2460		
Thr Glu	Thr Gln	Gln Glu	Gly	Arg Arg	Phe Val	Ala	Ser Leu	Phe
2465			2470			2475		
Ile Ser	Ala Leu	Ala Thr	Tyr	Thr Tyr	Lys Thr	Trp	Asn Tyr	Asn
2480			2485			2490		
Asn Leu	Ser Lys	Val Val	Glu	Pro Ala	Leu Ala	Tyr	Leu Pro	Tyr
2495			2500			2505		
Ala Thr	Ser Ala	Leu Lys	Met	Phe Thr	Pro Thr	Arg	Leu Glu	Ser
2510			2515			2520		
Val Val	Ile Leu	Ser Thr	Thr	Ile Tyr	Lys Thr	Tyr	Leu Ser	Ile
2525			2530			2535		
Arg Lys	Gly Lys	Ser Asp	Gly	Leu Leu	Gly Thr	Gly	Ile Ser	Ala
2540			2545			2550		
Ala Met	Glu Ile	Leu Ser	Gln	Asn Pro	Val Ser	Val	Gly Ile	Ser
2555			2560			2565		

Val Met 2570	Leu Gly Val Gly Ala 2575	Ile Ala Ala His Asn 2580	Ala Ile Glu
Ser Ser 2585	Glu Gln Lys Arg Thr 2590	Leu Leu Met Lys Val 2595	Phe Val Lys
Asn Phe 2600	Leu Asp Gln Ala Ala 2605	Thr Asp Glu Leu Val 2610	Lys Glu Asn
Pro Glu 2615	Lys Ile Ile Met Ala 2620	Leu Phe Glu Ala Val 2625	Gln Thr Ile
Gly Asn 2630	Pro Leu Arg Leu Ile 2635	Tyr His Leu Tyr Gly 2640	Val Tyr Tyr
Lys Gly 2645	Trp Glu Ala Lys Glu 2650	Leu Ser Glu Arg Thr 2655	Ala Gly Arg
Asn Leu 2660	Phe Thr Leu Ile Met 2665	Phe Glu Ala Phe Glu 2670	Leu Leu Gly
Met Asp 2675	Ser Glu Gly Lys Ile 2680	Arg Asn Leu Ser Gly 2685	Asn Tyr Ile
Leu Asp 2690	Leu Ile His Gly Leu 2695	His Lys Gln Ile Asn 2700	Arg Gly Leu
Lys Lys 2705	Ile Val Leu Gly Trp 2710	Ala Pro Ala Pro Phe 2715	Ser Cys Asp
Trp Thr 2720	Pro Ser Asp Glu Arg 2725	Ile Arg Leu Pro Thr 2730	Asp Ser Tyr
Leu Arg 2735	Val Glu Thr Lys Cys 2740	Pro Cys Gly Tyr Glu 2745	Met Lys Ala
Leu Lys 2750	Asn Val Ser Gly Lys 2755	Leu Thr Lys Val Glu 2760	Glu Ser Gly
Pro Phe 2765	Leu Cys Arg Asn Arg 2770	Pro Gly Arg Gly Pro 2775	Val Asn Tyr
Arg Val 2780	Thr Lys Tyr Tyr Asp 2785	Asp Asn Leu Arg Glu 2790	Ile Arg Pro
Val Ala 2795	Lys Leu Glu Gly Gln 2800	Val Glu His Tyr Tyr 2805	Lys Gly Val
Thr Ala 2810	Arg Ile Asp Tyr Ser 2815	Lys Gly Lys Thr Leu 2820	Leu Ala Thr
Asp Lys 2825	Trp Glu Val Glu His 2830	Gly Thr Leu Thr Arg 2835	Leu Thr Lys
Arg Tyr 2840	Thr Gly Val Gly Phe 2845	Arg Gly Ala Tyr Leu 2850	Gly Asp Glu

Pro	Asn	His	Arg	Asp	Leu	Val	Glu	Arg	Asp	Cys	Ala	Thr	Ile	Thr
2855						2860					2865			
Lys	Asn	Thr	Val	Gln	Phe	Leu	Lys	Met	Lys	Lys	Gly	Cys	Ala	Phe
2870						2875					2880			
Thr	Tyr	Asp	Leu	Thr	Ile	Ser	Asn	Leu	Thr	Arg	Leu	Ile	Glu	Leu
2885						2890					2895			
Val	His	Arg	Asn	Asn	Leu	Glu	Glu	Lys	Glu	Ile	Pro	Thr	Ala	Thr
2900						2905					2910			
Val	Thr	Thr	Trp	Leu	Ala	Tyr	Thr	Phe	Val	Asn	Glu	Asp	Val	Gly
2915						2920					2925			
Thr	Ile	Lys	Pro	Val	Leu	Gly	Glu	Arg	Val	Ile	Pro	Asp	Pro	Val
2930						2935					2940			
Val	Asp	Ile	Asn	Leu	Gln	Pro	Glu	Val	Gln	Val	Asp	Thr	Ser	Glu
2945						2950					2955			
Val	Gly	Ile	Thr	Ile	Ile	Gly	Lys	Glu	Ala	Val	Met	Thr	Thr	Gly
2960						2965					2970			
Val	Thr	Pro	Val	Met	Glu	Lys	Val	Glu	Pro	Asp	Thr	Asp	Asn	Asn
2975						2980					2985			
Gln	Ser	Ser	Val	Lys	Ile	Gly	Leu	Asp	Glu	Gly	Asn	Tyr	Pro	Gly
2990						2995					3000			
Pro	Gly	Val	Gln	Thr	His	Thr	Leu	Val	Glu	Glu	Ile	His	Asn	Lys
3005						3010					3015			
Asp	Ala	Arg	Pro	Phe	Ile	Met	Val	Leu	Gly	Ser	Lys	Ser	Ser	Met
3020						3025					3030			
Ser	Asn	Arg	Ala	Lys	Thr	Ala	Arg	Asn	Ile	Asn	Leu	Tyr	Thr	Gly
3035						3040					3045			
Asn	Asp	Pro	Arg	Glu	Ile	Arg	Asp	Leu	Met	Ala	Glu	Gly	Arg	Ile
3050						3055					3060			
Leu	Val	Val	Ala	Leu	Arg	Asp	Ile	Asp	Pro	Asp	Leu	Ser	Glu	Leu
3065						3070					3075			
Val	Asp	Phe	Lys	Gly	Thr	Phe	Leu	Asp	Arg	Glu	Ala	Leu	Glu	Ala
3080						3085					3090			
Leu	Ser	Leu	Gly	Gln	Pro	Lys	Pro	Lys	Gln	Val	Thr	Lys	Ala	Ala
3095						3100					3105			
Ile	Arg	Asp	Leu	Leu	Lys	Glu	Glu	Arg	Gln	Val	Glu	Ile	Pro	Asp
3110						3115					3120			
Trp	Phe	Thr	Ser	Asp	Asp	Pro	Val	Phe	Leu	Asp	Ile	Ala	Met	Lys

3125	3130	3135
Lys Asp 3140	Lys Tyr His Leu Ile 3145	Gly Asp Val Val Glu Val Lys Asp 3150
Gln Ala 3155	Lys Ala Leu Gly Ala 3160	Thr Asp Gln Thr Arg Ile Val Lys 3165
Glu Val 3170	Gly Ser Arg Thr Tyr 3175	Thr Met Lys Leu Ser Ser Trp Phe 3180
Leu Gln 3185	Ala Ser Ser Lys Gln 3190	Met Ser Leu Thr Pro Leu Phe Glu 3195
Glu Leu 3200	Leu Leu Arg Cys Pro 3205	Pro Ala Thr Lys Ser Asn Lys Gly 3210
His Met 3215	Ala Ser Ala Tyr Gln 3220	Leu Ala Gln Gly Asn Trp Glu Pro 3225
Leu Gly 3230	Cys Gly Val His Leu 3235	Gly Thr Val Pro Ala Arg Arg Val 3240
Lys Met 3245	His Pro Tyr Glu Ala 3250	Tyr Leu Lys Leu Lys Asp Leu Val 3255
Glu Glu 3260	Glu Glu Lys Lys Pro 3265	Arg Ile Arg Asp Thr Val Ile Arg 3270
Glu His 3275	Asn Lys Trp Ile Leu 3280	Lys Lys Ile Lys Phe Gln Gly Asn 3285
Leu Asn 3290	Thr Lys Lys Met Leu 3295	Asn Pro Gly Lys Leu Ser Glu Gln 3300
Leu Asp 3305	Arg Glu Gly His Lys 3310	Arg Asn Ile Tyr Asn Asn Gln Ile 3315
Ser Thr 3320	Val Met Ser Ser Ala 3325	Gly Ile Arg Leu Glu Lys Leu Pro 3330
Ile Val 3335	Arg Ala Gln Thr Asp 3340	Thr Lys Ser Phe His Glu Ala Ile 3345
Arg Asp 3350	Lys Ile Asp Lys Asn 3355	Glu Asn Arg Gln Asn Pro Glu Leu 3360
His Asn 3365	Lys Leu Leu Glu Ile 3370	Phe His Thr Ile Ala Asp Pro Ser 3375
Leu Lys 3380	His Thr Tyr Gly Glu 3385	Val Thr Trp Glu Gln Leu Glu Ala 3390
Gly Ile 3395	Asn Arg Lys Gly Ala 3400	Ala Gly Phe Leu Glu Lys Lys Asn 3405

Ile Gly 3410	Glu Val Leu Asp Ser 3415	Glu Lys His Leu Val 3420	Glu Gln Leu
Val Arg 3425	Asp Leu Lys Ala Gly 3430	Arg Lys Ile Arg Tyr 3435	Tyr Glu Thr
Ala Ile 3440	Pro Lys Asn Glu Lys 3445	Arg Asp Val Ser Asp 3450	Asp Trp Gln
Ala Gly 3455	Asp Leu Val Asp Glu 3460	Lys Lys Pro Arg Val 3465	Ile Gln Tyr
Pro Glu 3470	Ala Lys Thr Arg Leu 3475	Ala Ile Thr Lys Val 3480	Met Tyr Asn
Trp Val 3485	Lys Gln Gln Pro Val 3490	Val Ile Pro Gly Tyr 3495	Glu Gly Lys
Thr Pro 3500	Leu Phe Asn Ile Phe 3505	Asn Lys Val Arg Lys 3510	Glu Trp Asp
Leu Phe 3515	Asn Glu Pro Val Ala 3520	Val Ser Phe Asp Thr 3525	Lys Ala Trp
Asp Thr 3530	Gln Val Thr Ser Arg 3535	Asp Leu His Leu Ile 3540	Gly Glu Ile
Gln Lys 3545	Tyr Tyr Tyr Arg Lys 3550	Glu Trp His Lys Phe 3555	Ile Asp Thr
Ile Thr 3560	Asp His Met Val Glu 3565	Val Pro Val Ile Thr 3570	Ala Asp Gly
Glu Val 3575	Tyr Ile Arg Asn Gly 3580	Gln Arg Gly Ser Gly 3585	Gln Pro Asp
Thr Ser 3590	Ala Gly Asn Ser Met 3595	Leu Asn Val Leu Thr 3600	Met Ile Tyr
Ala Phe 3605	Cys Glu Ser Thr Gly 3610	Val Pro Tyr Lys Ser 3615	Phe Asn Arg
Val Ala 3620	Lys Ile His Val Cys 3625	Gly Asp Asp Gly Phe 3630	Leu Ile Thr
Glu Lys 3635	Gly Leu Gly Leu Lys 3640	Phe Ser Asn Lys Gly 3645	Met Gln Ile
Leu His 3650	Glu Ala Gly Lys Pro 3655	Gln Lys Leu Thr Glu 3660	Gly Glu Lys
Met Lys 3665	Val Ala Tyr Lys Phe 3670	Glu Asp Ile Glu Phe 3675	Cys Ser His
Thr Pro 3680	Val Pro Val Arg Trp 3685	Ser Asp Asn Thr Ser 3690	Ser Tyr Met

Ala Gly Arg Asp Thr Ala Val Ile Leu Ser Lys Met Ala Thr Arg
3695 3700 3705

Leu Asp Ser Ser Gly Glu Arg Gly Thr Thr Ala Tyr Glu Lys Ala
3710 3715 3720

Val Ala Phe Ser Phe Leu Leu Met Tyr Ser Trp Asn Pro Leu Val
3725 3730 3735

Arg Arg Ile Cys Leu Leu Val Leu Ser Gln Arg Pro Glu Thr Ala
3740 3745 3750

Pro Ser Thr Gln Thr Thr Tyr Tyr Tyr Lys Gly Asp Pro Ile Gly
3755 3760 3765

Ala Tyr Lys Asp Val Ile Gly Arg Asn Leu Ser Glu Leu Lys Arg
3770 3775 3780

Thr Gly Phe Glu Lys Leu Ala Asn Leu Asn Leu Ser Leu Ser Thr
3785 3790 3795

Leu Gly Ile Trp Thr Lys His Thr Ser Lys Arg Ile Ile Gln Asp
3800 3805 3810

Cys Val Ala Ile Gly Lys Glu Glu Gly Asn Trp Leu Val Asn Ala
3815 3820 3825

Asp Arg Leu Ile Ser Ser Lys Thr Gly His Leu Tyr Ile Pro Asp
3830 3835 3840

Lys Gly Phe Thr Leu Gln Gly Lys His Tyr Glu Gln Leu Gln Leu
3845 3850 3855

Gly Ala Glu Thr Asn Pro Val Met Gly Val Gly Thr Glu Arg Tyr
3860 3865 3870

Lys Leu Gly Pro Ile Val Asn Leu Leu Leu Arg Arg Leu Lys Val
3875 3880 3885

Leu Leu Met Ala Ala Val Gly Ala Ser Ser
3890 3895

<210> 7
<211> 19
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> 合成之寡核苷酸引子 NADL4744

<400> 7
cgtggcttct tggtagggg

<210> 8
<211> 22
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>

<223>	合成之寡核苷酸引子 NADL4744	
<400>	8	
	agcggatat tgtacaaagc ca	22
<210>	9	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人造序列	
<220>		
<223>	合成之寡核苷酸引子 53637U2	
<400>	9	
	tgcacgatct gtgaaggga agaa	24
<210>	10	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人造序列	
<220>		
<223>	合成之寡核苷酸引子 NADL4844	
<400>	10	
	tgactgtat gtgaggccg agag	24
<210>	11	
<211>	27	
<212>	DNA	
<213>	瘟病毒屬牛病毒性下痢病毒 1	
<220>		
<221>	misc_ 特徵	
<223>	第1型牛病毒性下痢病毒株NADL	
<220>		
<221>	misc_ 特徵	
<223>	NADL株在270個核苷酸插入子之前的部分核苷酸序列	
<400>	11	
	tttataaggg aaggcaactt tgagggt	27
<210>	12	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	瘟病毒屬牛病毒性下痢病毒 1	
<220>		
<221>	misc_ 特徵	
<223>	第1型牛病毒性下痢病毒株NADL	
<220>		
<221>	misc_ 特徵	
<223>	NADL株在90個胺基酸插入子之前的部分胺基酸序列	
<400>	12	
	Phe Ile Arg Glu Gly Asn Phe Glu Gly	
	1 5	
<210>	13	
<211>	36	
<212>	DNA	
<213>	瘟病毒屬牛病毒性下痢病毒 1	

<220>
<221> misc_ 特徵
<223>

<220>
<221> misc_ 特徵
<223> NADL株在270個核苷酸插入子之後的部分核苷酸序列

<400> 13
cctttcaggc aggaatacaa tggctttgta caataa 36

<210> 14
<211> 12
<212> PRT
<213> 瘟病毒屬牛病毒性下痢病毒 1

<220>
<221> misc_ 特徵
<223> 第1型牛病毒性下痢病毒株NADL

<220>
<221> misc_ 特徵
<223> NADL株在90個胺基酸插入子之後的部分胺基酸序列

<400> 14
Pro Phe Arg Gln Glu Tyr Asn Gly Phe Val Gln Tyr
1 5 10

<210> 15
<211> 18
<212> DNA
<213> 瘟病毒屬牛病毒性下痢病毒 2

<220>
<221> misc_ 特徵
<223> 第2型牛病毒性下痢病毒株53637

<220>
<221> misc_ 特徵
<223> 53637株在393個核苷酸插入子之前的部分核苷酸序列

<400> 15
tttataagag aaggacgc 18

<210> 16
<211> 6
<212> PRT
<213> 瘟病毒屬牛病毒性下痢病毒 2

<220>
<221> misc_ 特徵
<223> 第2型牛病毒性下痢病毒株53637

<220>
<221> misc_ 特徵
<223> 53637株在131個胺基酸插入子之前的部分胺基酸序列

<400> 16
Phe Ile Arg Glu Gly Arg
1 5

<210> 17
<211> 30
<212> DNA
<213> 瘟病毒屬牛病毒性下痢病毒 2

<220>
<221> misc_特徵
<223> 第2型牛病毒性下痢病毒株53637

<220>
<221> misc_特徵
<223> 53637株在393個核苷酸插入子之後的部分核苷酸序列

<400> 17
agggaagagt ataagggta cgtccaatac

30

<210> 18
<211> 10
<212> PRT
<213> 瘟病毒屬牛病毒性下痢病毒 2

<220>
<221> misc_特徵
<223> 第2型牛病毒性下痢病毒株53637

<220>
<221> misc_特徵
<223> 53637株在131個胺基酸插入子之後的部分胺基酸序列

<400> 18

Arg Glu Glu Tyr Lys Gly Tyr Val Gln Tyr
1 5 10

十、申請專利範圍

附件 6A：

第 93122607 號專利申請案

中文申請專利範圍替換本

民國 99 年 7 月 26 日修正

1. 一種疫苗組成物，其包含第 1 型牛病毒性下痢病毒(BVDV-1)和第 2 型牛病毒性下痢病毒(BVDV-2)之活且經減毒的細胞病變(cp)突變株，其中該等突變株於 NS2-3 區域內包含導致細胞病變生物型之插入突變，且該等突變係位於相同之基因體位置，使得該等突變病毒不能相互重組以去除該等突變。

2. 如申請專利範圍第 1 項之疫苗組成物，其中該細胞病變之 BVDV-1 係 BVDV-1 NADL 且該細胞病變之 BVDV-2 係 BVDV-2 53637。

3. 如申請專利範圍第 1 項之疫苗組成物，其進一步包含獸醫上可接受的載體。

4. 一種製備如申請專利範圍第 1 項之疫苗組成物的方法，其包含於 BVDV-1 和 BVDV-2 之 NS2-3 區域內導入插入突變之步驟，該插入突變導致細胞病變生物型，致使產生顯現毒性減弱之 BVDV-1 和 BVDV-2 的細胞病變突變株，其中該等突變係位於相同之基因體位置，使得該等突變病毒不能相互重組以去除該等突變。