

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2004.07.26	(73) Titular(es): PFIZER PRODUCTS INC.
(30) Prioridade(s): 2003.07.29 US 490834 P	EASTERN POINT ROAD GROTON, CT 06340 US
(43) Data de publicação do pedido: 2006.05.03	(72) Inventor(es):
(45) Data e BPI da concessão: 2010.11.24 017/2011	JAY GREGORY CALVERT US SIAO-KUN WAN WELCH US MICHAEL K. O'HARA US XUEMEI CAO US
	(74) Mandatário: MANUEL ANTÓNIO DURÃES DA CONCEIÇÃO ROCHA PT AV LIBERDADE, Nº. 69 1250-148 LISBOA

(54) Epígrafe: VACINAS VIRAIS MUTANTES SEGURAS

(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO PROPORCIONA VACINAS SEGURAS E MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE TAIS VACINAS. AS VACINAS DA PRESENTE INVENÇÃO CONTÊM PELO MENOS DOIS VÍRUS MUTANTES VIVOS DA MESMA FAMÍLIA OU MOLÉCULAS DE ÁCIDO NUCLEICO QUE CODIFICAM TAIS VÍRUS, EM QUE CADA UM DOS DOIS VÍRUS OU DOS ÁCIDOS NUCLEICOS CODIFICANTES CONTÊM UMA MUTAÇÃO QUE CONFERE UM FENÓTIPO DESEJÁVEL E AS MUTAÇÕES NOS VÍRUS RESIDEM NO MESMO SÍTIO GENÓMICO DE MODO QUE OS VÍRUS MUTANTES NÃO SE PODEM RECOMBINAR ENTRE SI PARA ELIMINAR AS MUTAÇÕES.

RESUMO**"VACINAS VIRAIS MUTANTES SEGURAS"**

A presente invenção proporciona vacinas seguras e métodos de preparação de tais vacinas. As vacinas da presente invenção contêm pelo menos dois vírus mutantes vivos da mesma família ou moléculas de ácido nucleico que codificam tais vírus, em que cada um dos dois vírus ou dos ácidos nucleicos codificantes contêm uma mutação que confere um fenótipo desejável e as mutações nos vírus residem no mesmo sítio genómico de modo que os vírus mutantes não se podem recombinar entre si para eliminar as mutações.

DESCRIÇÃO

"VACINAS VIRAIS MUTANTES SEGURAS"

Campo da invenção

A presente invenção refere-se em geral a vacinas adequadas para administração a animais contra infecções virais. Mais especificamente, a presente invenção refere-se a vacinas seguras e a métodos de preparação de tais vacinas. As vacinas da presente invenção contêm pelo menos dois vírus mutantes vivos da mesma família ou moléculas de ácido nucleico que codificam tais vírus, em que cada um dos vírus ou os ácidos nucleicos codificantes contém uma mutação que confere um fenótipo desejável e as mutações nos vírus residem no mesmo sítio genómico de modo que os vírus mutantes não se podem recombinar entre si para eliminar as mutações. Especificamente, dois dos vírus mutantes vivos consistem em Vírus de Diarreia Viral Bovina (BVDV).

Antecedentes da Invenção

A família de vírus *Flaviviridae* consiste nos géneros *Pestivirus*, *Flavivirus* e *Hepacivirus*. O género *Pestivirus* está representado pelas espécies do vírus da diarreia viral Bovina 1 (BVDV-1), BVDV-2, vírus da febre porcina clássica e vírus da border disease. Os viriões dos membros da família encapsulam genomas de ARN de cadeia positiva de aproximadamente 9,5 a 12,3 kb. Os ARN genómicos contêm grelhas de leitura aberta (ORF) longos contíguos que são traduzidos em poliproteínas que são processadas por proteases celulares e virais para dar origem às proteínas virais maduras. Para membros de *Pestivirus*, a ORF codifica

uma poliproteína de aproximadamente 3900 aminoácidos que é processada cotraducionalmente e postraducionalmente originando as seguintes proteínas virais maduras (de 5' a 3'): N^{pro}, C, E^{ns}, E1, E2, NS2-3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B.

Dois biótipos são encontrados entre alguns membros de *Pestivirus* baseados no seu efeito sobre células de cultura de tecidos, em concreto citopatogénicos (citopáticos ou cp) e não citopatogénicos (não citopáticos ou ncp). As análises do genoma revelaram inserções de sequências celulares, as vezes acompanhadas por duplicação de sequências virais, rearranjos genómicos e/ou deleções de sequências virais nos genomas de pestivírus cp, mas não nos ARN dos pestivírus ncp correspondentes. Isto sugere que os pestivírus cp evoluíram a partir de pestivírus ncp por recombinação do ARN.

O BVDV é um patógeno amplamente distribuído de gado bovino. O BVDV-1 habitualmente produz somente diarreia ligeira em animais imunocompetentes, enquanto que o BVDV-2 pode produzir trombocitopenia, hemorragias e doença aguda fatal. O BVDV é capaz de atravessar a placenta de gado bovino gestante e pode resultar no nascimento de novilhos persistentemente infectados (PI) (Malmquist, J. Am. Vet. Med. Assoc. 152: 763-768 (1968); Ross, et al., J. Am. Vet. Med. Assoc. 188: 618-619 (1986)). Os novilhos virémicos são imunotolerantes ao vírus e persistentemente virémicos durante o resto das suas vidas. Proporciona uma fonte de surtos de doença das mucosas (Liess, et al., Dtsch. Tierärzti. Wschr. 81: 481-487 (1974)) e estão altamente predispostos a infecção com microrganismos causadores de doenças tais como pneumonia ou doenças entéricas (Barber, et al., Vet. Rec. 117: 459-464 (1985)). Podem existir vírus

de qualquer genótipo como um dos dois biótipos, cp ou ncp. O fenótipo cp se correlaciona com a expressão de NS3, já que as células infectadas com BVDV cp ou ncp expressam ambas NS2-3, enquanto que a NS3 é detectada somente depois da infecção com BVDV cp. A NS3 é colinear com a parte C-terminal de NS2-3. A expressão de NS3 parece ser o resultado de alterações genómicas observadas para BVDV cp.

As vacinas virais disponíveis actualmente incluem vacinas virais vivas atenuadas ou mortas, vacinas de vectores vivos, vacinas de subunidades e vacinas de ADN ou ARN. Veja-se Roth et al., "New Technology For Improved Vaccine Safety And Efficacy", Veterinary Clinics North America: Food Animal Practice 17(3): 585-597 (2001). A atenuação de vírus pode ser conseguida por meio de irradiação UV, tratamento químico ou número elevado de passagens *in vitro*. O número, posição e natureza das mutações induzidas por estes métodos são análises de sequência genómica ausentes desconhecidas. A atenuação também pode ser conseguida gerando alterações genéticas definidas, por exemplo, a deleção específica de sequências virais que sabe-se que conferem virulência ou a inserção de sequências no genoma viral. Uma preocupação com respeito à utilização de vacinas virais vivas atenuadas é que os vírus mutantes atenuados tenham o potencial de se recombinar *in vivo* para eliminar a mutação ou mutações atenuantes restaurando deste modo a virulência. Por exemplo, em presença de uma estirpe de campo virulenta (de tipo selvagem), os vírus atenuados que têm deleções no genoma viral têm o potencial de se recombinar com a estirpe virulenta para restaurar a sequência delecionada. Veja-se, por exemplo, Roth et al., anteriormente. Também foi

observado que os pestivírus citopáticos que têm inserções celulares originam vírus não citopáticos em cultura celular por deleção das sequências celulares, possivelmente através de recombinação de ARN. Veja-se, por exemplo, Baroth et al., "Insertion of cellular NEDD8 coding sequences in a pestivirus", *Virology*. 278(2): 456-66, (2000), e 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). Quando se deseja incluir dois vírus mutantes atenuados da mesma espécie, gênero ou família numa composição de vacina, existe a preocupação de que os dois vírus possam se recombinar no animal vacinado eliminando deste modo as mutações atenuantes. Veja-se, por exemplo, Glazenburg et al., "Genetic recombination of pseudorabies virus: evidence that homologous recombination between insert sequences is less frequent than between autologous sequences", *Archives of Virology*, 140(4): 671-85 (1995).

Continua existindo a necessidade de desenvolver vacinas eficazes e seguras que protejam os animais contra infecções virais.

Sumario da Invenção

A presente invenção proporciona vacinas seguras que contêm pelo menos dois vírus mutantes vivos da mesma família ou moléculas de ácido nucleico que codificam tais vírus, em que cada vírus ou o ácido nucleico codificante contém uma mutação que confere um fenótipo desejável e as mutações nos vírus residem no mesmo sítio genómico de modo que os vírus mutantes não podem recombinar entre si para

eliminar as mutações. Em concreto, dois dos vírus mutantes vivos consistem em Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV).

A presente invenção também proporciona um método de preparação de uma vacina viral segura por selecção ou construção de dois ou mais vírus mutantes vivos da mesma família, género ou espécie, em que cada vírus contém uma mutação que confere um fenótipo desejável e as mutações nos vírus residem no mesmo sítio genómico de modo que os vírus mutantes não podem sofrer recombinação homóloga para eliminar as mutações. Especificamente, dois dos vírus mutantes vivos consistem em Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDB).

A presente invenção proporciona ainda um método de protecção de um animal contra infecções virais por administração ao animal de uma composição de vacina da presente invenção.

Breve Descrição dos Desenhos

Figura 1. Alinhamento das inserções celulares e sequências virais flanqueantes das regiões NS2-3 de BVDV-1 estirpe NADL e BVDV-2 estirpe 53637.

Descrição Detalhada da Invenção

Foi reconhecido excepcionalmente de acordo com a presente invenção que vírus de mutantes vivos da mesma família que contém mutações no mesmo sítio genómico dos vírus não se podem recombinar entre si para eliminar as mutações.

Por conseguinte, numa concretização, a presente invenção proporciona composições de vacina seguras que contém pelo menos dois, isto é, dois ou mais vírus mutantes

vivos da mesma família, ou molécula de ácido nucleico que codificam tais vírus, em que as mutações nos vírus residem no mesmo sítio genómico de modo que os vírus mutantes não podem recombinar entre si para eliminar as mutações. Especificamente, dois dos vírus mutantes vivos consistem em Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV).

Em outra concretização, a presente invenção proporciona um método de preparação de uma vacina viral segura, como foi descrito anteriormente no presente documento. Especificamente, uma vacina segura é preparada por selecção ou construção de dois ou mais vírus mutantes vivos da mesma família, género ou espécie, em que cada vírus contém uma mutação que confere um fenótipo desejável (por exemplo, atenuação da virulência, alteração do tropismo celular ou biótipo, alteração do tropismo de espécie ou expressão de uma cassete génica exógena) e as mutações nos vírus residem no mesmo sítio genómico de modo que os vírus mutantes não podem sofrer recombinação homóloga entre si para eliminar as mutações. Especificamente, dois dos vírus mutantes vivos consistem em vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV).

O termo "vacina" ou "composição de vacina" refere-se a uma composição que contém vírus mutantes vivos que, após sua inoculação a um animal, induzem uma imunidade parcial ou completa contra a versão patogénica dos vírus, ou alivia os sintomas de doenças causadas pelas versões patogénicas dos vírus. Os efeitos protectores de uma composição de vacina contra um vírus são conseguidos normalmente induzindo no sujeito uma resposta imune, ou uma resposta imune mediada por células ou humoral, ou uma combinação de ambas. Falando de maneira geral, a supressão ou redução de

incidência de infecção viral, a melhoria dos sintomas ou uma eliminação acelerada dos vírus dos sujeitos infectados são indicativas dos efeitos protectores da composição de vacina.

Por "animal" se entende que inclui aves, por exemplo frangos, perus, aves aquáticas domésticas e qualquer mamífero, por exemplo, gado bovino, ovino, porcino, cabras, cães, gatos e cavalos.

O termo "vírus", "isolados virais" ou "estirpes virais" como utilizados no presente documento referem-se a partículas virais ou viriões que contêm ADN ou ARN genómico viral, proteínas associadas e outros constituintes químicos (tais como lípidos).

Por "molécula de ácido nucleico que codifica um vírus" ou "molécula de ácido nucleico de um vírus" se entende a molécula de ácido nucleico genómico do vírus, em forma de ARN ou ADN.

Por "mutação" se entende que inclui deleção, inserção ou substituição de um ou mais nucleótidos ou uma combinação dos mesmos. De acordo com a presente invenção, a mutação confere preferentemente um fenótipo desejável, por exemplo atenuação da virulência, alteração do biótipo ou tropismo celular, alteração do tropismo de espécie ou expressão de uma cassette génica exógena. São mutações especialmente preferidas as que conferem uma virulência atenuada.

Por "atenuação" se entende que o vírus perdeu parte ou toda sua capacidade para proliferar e/ou causar doença num animal infectado com o vírus. Por exemplo, um vírus atenuado pode ser um vírus que seja incapaz de se replicar em absoluto ou se limite a uma ou algumas rondas de replicação, ou de tropismo celular ou tissular restringido,

quando esteja presente num animal em que possa se replicar uma versão patogénica de tipo selvagem do vírus atenuado.

Um vírus atenuado pode ter uma ou mais mutações num gene ou genes que estejam implicados na patogenicidade do vírus. Tais mutações também são denominadas no presente documento "mutação(ões) atenuante(s)". Um vírus atenuado pode ser produzido a partir do vírus patogénico de tipo selvagem por irradiação UV, tratamento químico ou alto número de passagens seriadas do vírus patogénico de tipo selvagem *in vitro*. Como alternativa, um vírus atenuado pode ser produzido a partir do vírus patogénico de tipo selvagem gerando uma deleção específica de sequências virais que se sabe que conferem virulência, inserção de sequências no genoma viral ou gerando uma ou mais mutações pontuais no genoma viral. Um vírus atenuado pode ser um isolado do vírus obtido a partir de um animal, cujo isolado é derivado da versão patogénica de tipo selvagem do vírus através de eventos diferentes de meios artificiais, por exemplo, eventos que tenham ocorrido num animal hospedeiro tal como recombinação.

Os dois ou mais vírus mutantes vivos presentes nas composições de vacina da presente invenção contêm mutações que residem no mesmo sítio genómico. Por "mesmo sítio genómico" se entende que quando as sequências de nucleótidos genómicas dos vírus estão alinhadas, as mutações nos genomas virais se sobrepõem entre si de modo que não existe oportunidade de recombinação homóloga entre os genomas virais para eliminar as mutações. Em outras palavras, quando as sequências de nucleótidos genómicas dos vírus estão alinhadas, existe pelo menos uma porção contígua das sequências alinhadas em que as sequências nos

genomas virais alinhados são sequências mutantes. Existem numerosos programas informáticos que comparam e alinham sequências de ácido nucleico que um perito na especialidade pode utilizar. As sequências são alinhadas com o propósito de uma comparação óptima (por exemplo, podem ser introduzidos *gaps* (espaçamentos) numa sequência de ácido nucleico para um alinhamento óptimo com uma segunda sequência de ácido nucleico). Por exemplo, os programas NBLAST e XBLAST como descritos em Altschul, et al., 1990, J. Mol. Biol. 215: 403-410, o programa Gapped BLAST como descrito Altschul et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402 e o programa PSI-Blast como descrito em Altschul et al., 1997, anteriormente. Quando são utilizados os programas BLAST, Gapped BLAST e PSI-Blast podem ser utilizados os parâmetros predefinidos dos programas respectivos (por exemplo, XBLAST e NBLAST) (veja-se <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Falando de maneira geral, o conceito da presente invenção, isto é, a inclusão na mesma composição de vacina de dois ou mais vírus mutantes vivos da mesma família que tenham mutações no mesmo sítio genómico, é aplicável a vírus mutantes de qualquer família onde os genomas virais tenham uma identidade de sequência suficiente para permitir a recombinação homóloga. Estudos demonstraram que uma identidade de nucleótidos tão pequena como de 15 nucleótidos pode levar a uma recombinação homóloga eficaz (Nagy e Bujarski. J. Virol. 69: 131-140, 1995).

A composição de vacina da presente invenção contém dois ou mais vírus mutantes vivos do género *Pestivirus*, especificamente BVDV. O género *Pestivirus* está representado pelas espécies Vírus da Diarreia Viral Bovina tipo 1 (BVDV-

1), Vírus da Diarreia Viral Bovina tipo 2 (BVDV-2), vírus da febre porcina clássica e vírus da border disease. A ORF codifica uma poliproteína de aproximadamente 3900 aminoácidos que é processada cotraducionalmente e postraducionalmente às proteínas virais maduras seguintes (de 5' a 3'): N^{pro}, C, E^{ins}, E1, E2, NS2-3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B.

Comummente, o BVDV tem um genoma em forma de ARN. O ARN pode ser submetido a transcrição reversa em ADN para utilização em clonagem. Portanto, as referências feitas no presente documento a ácido nucleico e sequências virais de BVD incluem tanto sequências de ARN como sequências de ADN virais derivadas das sequências de ARN virais. Por conveniência, as sequências genómicas de BVDV como se representa na LISTA DE SEQUÊNCIAS a seguir no presente documento somente refere-se a sequências de ADN. A sequência de ARN correspondente para cada uma será facilmente evidente para os peritos na especialidade.

Numa concretização mais preferida, a composição de vacina da presente invenção contém um BVDV-1 citopático e um BVDV-2 citopático, em que as mutações em ambos os vírus associadas com o biótipo citopático residem no mesmo sítio genómico de modo que os dois vírus mutantes não podem se recombinar para eliminar as mutações.

O BVDV-1 e BVDV-2 representam dois genótipos estreitamente relacionados de BVDV. As sequências de nucleótidos dos dois vírus compartilham uma identidade de aproximadamente 70% sobre o genoma total e uma percentagem de identidade ligeiramente superior dentro da região NS2-3. Acredita-se que a percentagem de identidade entre os genomas virais de BVDV-1 e BVDV-2, pelo menos na região

NS2-3 seja suficiente para permitir a recombinação homóloga.

O BVDV-1 habitualmente produz diarreia somente leve em animais enquanto que BVDV-2 são vírus com alta virulência que podem produzir trombocitopenia, hemorragias e doença aguda fatal (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). Os dois tipos de vírus têm uma antigenicidade diferente determinada por um painel de MAb e por neutralização cruzada usando antissoros específicos de vírus gerados em animais (Corapi et al., A. J. Vet. Res. 51: 1388-1394, 1990). Podem existir vírus de qualquer genótipo como um dos dois biótipos, citopatogénico (citopático ou cp) ou não citopatogénico (não citopático ou ncp). Os vírus cp induzem efeitos citopáticos (por exemplo, lise celular) em células cultivadas enquanto que os vírus não citopáticos não.

É desejável preparar vacinas que proporcionem protecção contra tanto BVDV-1 como BVDV-2. Contudo, devido ao alto grau de identidade de sequência entre os dois vírus, existe a possibilidade de que um BVDV-1 citopático vivo e um BVDV-2 citopático vivo incluídos na mesma composição de vacina possam se recombinar entre si no animal vacinado para dar vírus não citopáticos. A recombinação entre BVDV-1 e BVDV-2 foi documentada. Veja-se, por exemplo, Ridpath et al., Virology 212: 259-262 (1995). A infecção dos fetos em gado bovino gestante com vírus ncp antes que se desenvolva a imunocompetência pode resultar em que o feto permaneça virémico durante todo o

período de gestação e nascimento posterior de um novilho que permanece persistentemente virémico. O dito novilho pode morrer de doença das mucosas após uma superinfecção com um BVDV cp. Por conseguinte, as composições de vacina proporcionadas pela presente invenção que contêm BVDV-1 cp vivo e BVDV-2 cp vivo que têm mutações no mesmo sítio genómico são especialmente desejáveis para proteger aos animais contra tanto BVDV-1 como BVDV-2.

Numa concretização, os isolados de BVDV cp obtidos de animais podem ser utilizados na composição de vacina da presente invenção. Estudos descreveram isolados cp tanto de BVDV-1 como de BVDV-2 e estão disponíveis para os peritos na especialidade, por exemplo, as estirpes BVDV-1 NADL (ATCC n.º VR1422 ou VR-534), BVDV-2 53637 (depositada na ATCC como PTA-4859) e isolado de campo de tipo 2 tais como os descritos por Ridpath e Neill, J. Virol 74: 8771-8774, (2000). Os isolados cp descritos até o presente contêm tipicamente uma inserção de uma sequência heteróloga, por exemplo, uma sequência codificante de ubiquitina (número de acesso Genbank M96687 ou De Moerlooze et al., J. Gene. Virol. 74: 1433-1438, (1993)), uma sequência codificante de NEDD8 bovina (Baroth et al., anteriormente) ou uma sequência codificante de DnaJ1 de *Bos Taurus* (como descrito nos Exemplos a seguir no presente documento) entre outras.

Em outra concretização, um BVDV cp é gerado fazendo alterações definidas no genoma BVDV, por exemplo, por deleção de sequências virais específicas, inserção de sequências num sítio genómico viral específico ou geração de uma ou mais substituições ou combinações dos mesmos.

Quando é gerado um BVDV cp por inserção de uma sequência heteróloga (isto é, exógena para o vírus) num

sítio genómico específico, a natureza da sequência a ser inserida geralmente não é crítica para a presente invenção. Além disso, a inserção não se limita a nenhum sítio particular desde que a inserção resulte num fenótipo atenuado. Como sequências heterólogas em isolados cp encontra-se com frequência na região NS2-3, a região NS2-3, especialmente a parte que rodeia ao suposto sítio de clivagem é NS2-3 que corresponde, por exemplo, aos resíduos de aminoácido N° 1679 a N° 1680 da estirpe BVDV-1 NADL (a numeração é baseada na sequência genómica publicada com o N° de acesso de Genbank M31182, SEQ ID N°: 4) é uma localização preferida para as inserções.

Pode se gerado um BVDV-1 cp fazendo uma alteração genómica definida que imite a mutação identificada num isolado de BVDV-2 cp obtido de um animal, de modo que estes vírus tenham mutações associadas com o biótipo de cp no mesmo sítio genómico. De forma similar, pode se gerado um BVDV-2 cp por geração de uma alteração genómica definida que imite a mutação identificada num isolado de BVDV-1 cp obtido de um animal.

Numa concretização preferida, a composição de vacina da presente invenção contém NADL (um isolado de BVDV-1 cp) e 53637 de BVDC-2 (um isolado de BVDV-2 cp), em que os dois isolados cp cada um contém uma mutação no mesmo sítio genómico que resulta no biótipo citopático. Na sequência genómica da estirpe BVDV-1 NADL se expõe na SEQ ID N°: 4 e a estirpe 53637 de BVDV-2 foi depositada na ATCC como PTA-4859. Ambos isolados contém uma inserção na região NS2-3. O BVDV-1 cp atenuado contém uma inserção de uma sequência codificante de DnaJ1 de *Bos taurus* 3' da timidina na posição de nucleótido N° 4993 (numeração de sequência de

NADL) que é o terceiro nucleótido do códon que codifica o resíduo de glicina na posição de aminoácido 1536. O BVDV-2 cp atenuado contém uma inserção de uma sequência codificante de DnaJ1 de *Bos taurus* no mesmo sítio genómico.

De acordo com a presente invenção, os isolados de BVDV cp empregados na presente composição de vacina foram atenuados e, portanto, não são patogénicos. Os peritos na especialidade conhecem métodos de atenuação e também são descritos a seguir no presente documento.

Em outra concretização, a composição de vacina da presente invenção contém um BVDV-1 atenuado e um BVDV-2 atenuado, em que as mutações atenuantes em ambos os vírus residem no mesmo sítio genómico de modo que os dois vírus mutantes não podem recombinar para eliminar as mutações atenuantes.

Um BVDV atenuado é gerado por meio de irradiação UV, tratamento químico ou alto número de passagens seriadas da versão patogénica do vírus *in vitro*. Uma análise de sequência pode ser realizada a fim de determinar a natureza e a localização genómica das mutações geradas por estes métodos. A mutação pode ser em forma de uma deleção, inserção ou substituição de um ou mais nucleótidos ou uma combinação das mesmas. Como alternativa, um BVDV atenuado é gerado realizando alterações definidas no genoma de BVDV, por exemplo, por deleção de sequências virais específicas, inserção de sequências num sítio genómico viral específico ou concretização de uma ou mais substituições ou combinações das mesmas.

Como foi descrito anteriormente, os vírus mutantes vivos para utilização na composição de vacina da presente invenção podem ser da mesma família, género ou espécie, nos

quais os genomas virais têm uma identidade de sequência suficiente para permitir a recombinação homóloga. Os exemplos adicionais de combinações de vírus apropriadas para utilizar na composição de vacina da presente invenção incluem, mas não se limitam a, combinações de diferentes tipos de poliovírus, combinações de múltiplas estirpes mutantes vivas de vírus da bronquite infecciosa, combinações de múltiplas estirpes mutantes vivas de vírus da doença de Newcastle, combinações de adenovírus 1 canino e adenovírus 2 canino, combinações de herpesvírus 1 equino e herpesvírus 4 equino, combinações de múltiplas estirpes mutantes vivas de vírus influenza, combinações de múltiplas estirpes atenuadas vivas de calicivírus Felino, combinações de múltiplos sorotipos de Rotavirus, combinações de múltiplos sorotipos de Rhinovirus, combinações de múltiplos sorotipos de vírus da febre aftosa, combinações dos genótipos Europeu e Norte-americano do vírus da síndrome respiratória reprodutiva porcina, combinações de estirpes convencionais e variantes do vírus da doença infecciosa da bursa.

De acordo com a presente invenção, embora as partículas virais sejam a forma preferida para utilizar nas vacinas, podem ser utilizados moléculas de ácido nucleico que codificam vírus mutantes da mesma família, género ou espécie directamente em vacinas também. A molécula de ADN ou ARN pode ser apresentada em forma "nua" ou pode ser combinada com um agente que facilite a captação celular (por exemplo, lipossomas ou lípidos catiónicos). As vacinas e métodos de vacinação que envolvem ácidos nucleicos (ADN ou ARNm) foram bem descritos na técnica, por exemplo, Patente dos Estados Unidos N° 5.580.859, Patentes dos

Estados Unidos Nº 5.589.466, Publicação de Patente Internacional WO 98/35562 e por Ramsey 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; Lal e Bennett, 1998, Critical Rev. Immunol. 18: 449-484; e Vogel e Sarver, 1995, Clin. Microbiol. Rev. 8(3): 406-410, todas sendo incorporadas no presente documento por referência.

Além de dois ou mais vírus mutantes vivos da mesma família, género ou espécie (especificamente BVDV) as composições de vacina podem incluir outros componentes antigénicos. Outros componentes antigénicos apropriados para utilizar de acordo com a presente invenção incluem, mas não se limitam a, antigénios preparados a partir de bactérias patogénicas tais como *Mycoplasma hyopneumonia*, *Haemophilus somnus*, *Haemophilus parasuls*, *Bordetella bronchiseptica*, *Bacillus anthracis*, *Actinobacillus pleuropneumonie*, *Pasteurella multocida*, *Mannhemia haemolytica*, *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma galanacieum*, *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium paratuberculosis*, *Clostridial spp.*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus suis*, *Staphylococcus aureus*, *Erysipelothrix rhusopathiae*, *Campylobacter spp.*, *Fusobacterium necrophorum*, *Escherichia coli*, *Lawsonia intracellularis*, *Listeria monocytogenes*, *Rickettsia rickettsii*, *Borrelia spp.*, *Ehrlichia spp.*, *Chlamydia spp.*, *Brucella spp.*, *Vibrio spp.*, *Salmonella enterica serovars*, *Leptospira spp.*; fungos patogénicos tais como *Candida*; protozoários tais como *Cryptosporidium parvum*, *Neospora*

canium, *Toxoplasma gondii*, *Eimeria* spp., *Babesia* spp., *Giardia* spp.; helmintos tais como *Ostertagia*, *Cooperia*, *Haemonchus*, *Fasciola*; ou em forma de uma preparação celular parcial ou completa inactivada ou em forma de moléculas antigénicas obtidas por técnicas de engenharia genética ou síntese química. Os antigénios adicionais incluem vírus patogénicos tais como vírus da doença de Marek, vírus da doença infecciosa da bursa, vírus da doença de Newcastle, vírus da anemia do frango, vírus da varíola aviária, vírus da leucose aviária, vírus da laringotraqueíte infecciosa, vírus reticuloendotelial, parvovirus canino, vírus da esgana, herpesvírus canino, coronavírus canino, parainfluenza-5 canino, vírus da panleucopenia felina, herpesvírus felino, calicivirus felino, vírus da imunodeficiência felina, vírus da peritonite infecciosa felina, herpesvírus equino, vírus da arterite equina, vírus da anemia infecciosa equina, vírus da encefalite equina oriental, vírus da encefalite equina ocidental, vírus da encefalite equina venezuelana, vírus do Oeste do Nilo, vírus da gastroenterite transmissível, coronavírus bovino, herpesvírus bovino 1,3,6, vírus parainfluenza bovino, vírus respiratório sincicial bovino, vírus da leucose bovina, vírus da peste bovina, vírus da febre aftosa, vírus da raiva, vírus da febre porcina africana, parvovirus porcino, vírus PRRS, circovirus porcino, vírus influenza, vírus da doença vesicular porcina, vírus da febre de Tehen, vírus da pseudo-raiva, em forma de preparação viral viva modificada (atenuada), uma preparação de vírus parcial ou completo inactivado ou em forma de moléculas antigénicas obtidas por técnicas de engenharia genética ou síntese química. Quando são utilizados vírus vivos atenuados

adicionais, tais vírus adicionais deveriam ser preferentemente de uma família diferente daquela dos dois vírus atenuados principais, como foi descrito anteriormente.

Numa concretização preferida, a presente invenção proporciona uma composição de vacina que contém um BVDV-1 cp atenuado derivado da estirpe BVDV-1 NADL, um BVDV-2 cp atenuado derivado da estirpe 53637 de BVDV-2, onde cada um dos dois isolados cp contém uma mutação associada com um biótipo cp no mesmo sítio genómico e pelo menos um (isto é, um ou mais) dos componentes antigénicos seguintes, em forma viva modificada ou inactivada: herpesvírus bovino 1, vírus respiratório sincicial bovino, vírus parainfluenza 3, *Campylobacter fetus*, *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira hardjo*, *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *Leptospira pomona* ou *Mannhemia haemolytica*.

Além disso, as composições de vacina da presente invenção podem incluir um ou mais veículos veterinariamente aceitáveis. Como utilizado no presente documento, um "veículo veterinariamente aceitável" inclui qualquer os solventes, meios de dispersão, revestimentos, adjuvantes, agentes estabilizantes, diluentes, conservantes, agentes antibacterianos e antifúngicos, agentes isotónicos, agentes retardantes da absorção e similares. Os diluentes podem incluir água, solução salina, dextrose, etanol, glicerol e similares. Os agentes isotónicos podem incluir cloreto de sódio, dextrose, manitol, sorbitol e lactose entre outros. Os estabilizantes incluem albumina entre outras. As composições de vacina podem incluir, além disso, um ou mais

agentes imunomoduladores distintos tais como, por exemplo, interleucinas, interferons ou outras citocinas.

Os adjuvantes adequados para utilização nas composições de vacina incluem, mas não se limitam a, o sistema adjuvante RIBI (Ribi inc.), alúmen, gel de hidróxido de alumínio, emulsões de óleo em água, emulsões de água em óleo, tais como, por exemplo, adjuvantes completo e incompleto de Freund, copolímero de bloco (CytRx, Atlanta GA), SAF-M (Chiron, Emeryville CA), adjuvante AMPHIGEN[®], saponina, Quil A, colesterol, QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge MA) ou outras fracções de saponina, monofosforil lípido A, adjuvante de lípido-amina Avridina, enterotoxina termolábil de *E. coli* (recombinante ou de outro modo), toxina colérica ou dipéptido muramilo entre muitos outros.

Tipicamente, um vírus mutante vivo está presente numa vacina numa quantidade de aproximadamente 1×10^6 e aproximadamente 1×10^8 partículas de vírus por dose, com um veículo veterinariamente aceitável, num volume de entre aproximadamente 0,5 e aproximadamente 5 ml. A quantidade exacta de um vírus numa composição de vacina eficaz para proporcionar um efeito protector pode ser determinado por um perito em veterinária. Quando a molécula de ADN ou ARN do vírus é utilizada na vacina, a quantidade dos ácidos nucleicos deveria estar geralmente entre aproximadamente 0,1 µg/ml e aproximadamente 5,0 mg/ml.

As composições de vacina da presente invenção podem ser preparadas em diversas formas dependendo da via de administração. Por exemplo, as composições de vacina podem ser preparadas em forma de soluções aquosas estéreis ou dispersões adequadas para utilização injectável ou ser

preparadas em formas liofilizadas usando técnicas de secagem por congelação. As composições liofilizadas se mantêm tipicamente em aproximadamente 4°C e podem ser reconstituídas numa solução estabilizante, por exemplo, solução salina ou HEPES com ou sem adjuvante.

As composições de vacina da presente invenção podem ser administradas a uma animal para tratar ou prevenir uma doença causada pelas versões patogénicas dos vírus nas composições de vacina. Portanto, também são descritos métodos de vacinação de um animal contra uma doença causada por um vírus.

Na prática dos presentes métodos, uma composição de vacina da presente invenção é administrada a um animal preferentemente por vias parentéricas, embora possam ser utilizados também outras vias de administração, tais como, por exemplo, por administração oral, intranasal, intramuscular, intraganglio linfático, intradérmica, intraperitoneal, subcutânea, rectal ou vaginal, ou por uma combinação de vias. Podem ser necessários regimes de reforço e o regime de dosagem pode ser ajustado para proporcionar uma vacinação óptima.

A presente invenção é ilustrada adicionalmente, mas não como modo de limitação, pelos seguintes exemplos.

EXEMPLO I

Determinação da Posição da Inserção Celular na Estirpe 53637 De BVDV2

Uma porção da sequência da região NS2-3 de BVDV2-53637 foi determinada para identificar e mapear a localização de qualquer inserção celular na região. Um produto de RT-PCR de 670 bases a partir do ARN viral foi amplificado utilizando o iniciador directo 53637U1 (5'-

CGTCCACAGATGGTTTGGT-3'; SEQ ID N°: 1) e o iniciador reverso 53637L (5'-GGCTATGTATTGGACGTAACCC-3'; SEQ ID N°: 2). O produto de RT-PCR foi purificado e submetido a análise de sequência (SEQ ID N°: 3). Quando foi alinhado com BVDV1-NADL (número de acesso de Genbank M31182, SEQ ID N°: 4), foram observadas semelhanças surpreendentes (**FIGURA 1**). Ambos os vírus contêm uma inserção numa grelha de leitura derivada do gene *DnaJ1* de *Bos taurus*. No caso do NADL, a inserção é de 90 aminoácidos (270 nucleótidos) de comprimento e localiza-se entre a glicina 1536 e a poliamida 1627 na poliproteína de NADL. Estas coordenadas correspondem à glicina 1536 e a prolina 1537 nas estirpes de BVDV1 não citopáticas, tais como SD-1 (número de acesso de Genbank AAA42860, SEQ ID N°: 6), indicando que a alteração genómica em NADL é uma simples inserção sem nenhuma deleção ou duplicação concomitante das sequências virais flanqueantes. Como BVDV1-NADL, existe uma inserção de uma porção do gene *DnaJ1* de *Bos taurus* em BVDV2-53637. A inserção celular é mais longa (131 aminoácidos, 392 nucleótidos), estendendo-se em ambas as direcções com respeito à inserção em BVDV1-NADL. A localização da inserção celular dentro da região NS2-3 é idêntica nos dois vírus. Ao contrário de BVDV1-NADL, a inserção de BVDV2-53637 é acompanhada de uma deleção de 5 aminoácidos (15 nucleótidos) de sequências virais flanqueantes. Estão ausentes três resíduos de aminoácidos que flanqueiam a extremidade 5' da inserção, enquanto que estão ausentes dois resíduos de aminoácidos que flanqueiam a extremidade 3' da inserção. Devido a que as inserções celulares estão na mesma posição genómica nos dois vírus vacinais, não

podem sofrer uma recombinação homóloga para deletar a inserção para gerar um vírus quimérico não citopático.

Exemplo II

Tentativas Para Detectar Vírus BVDV Não Citopáticos Em Culturas Co-Passadas de BVDV1-NADL/BVDV2-53637

Para determinar se os dois vírus de vacina são capazes de se recombinar para gerar níveis detectáveis de BVDV não citopático, os vírus foram co-cultivados em células susceptíveis e foi utilizado um ensaio de RT-PCR semi-nest sensível para detectar vírus não citopáticos potenciais de entre um excesso de produtos citopáticos mais longos que ainda contêm o inserto celular. Para aumentar a probabilidade de recombinação intertípica *in vitro*, cada vírus foi inoculado simultaneamente sobre células BK-6 confluentes em placas de 6 poços a uma multiplicidade de infecção de 2-4 (12 réplicas por experiência). Depois de 2 - 3 dias de co-cultivo, as células foram congeladas e descongeladas duas vezes e os resíduos celulares foram retirados por meio de centrifugação a baixa velocidade. O líquido sobrenadante resultante foi utilizado depois como inóculo para a seguinte passagem. Foram realizadas um total de sete passagens seriadas em vários estudos. Durante as passagens o BVDV1-NADL cresceu mais rapidamente que o BVDV2-53637, mas o vírus de tipo II ainda era detectável depois de sete passagens utilizando RT-PCR aninhada. Um ensaio de RT-PCR semianinhada sensível foi empregado numa tentativa de detectar qualquer vírus não citopático.

Na primeira ronda de RT-PCR, foram utilizados os iniciadores directos 53637U1 (SEQ ID N°: 1) ou NADL4744 (5'-CGTGGCTTCTTGGTACGGG-3', SEQ ID N°: 7) junto com os iniciadores reversos 53637L (SEQ ID N°: 2) ou NADL5305 (5'-

AGCGGTATATTGTACAAACGGA-3', SEQ ID N°: 8). As quatro combinações de iniciadores directo e inverso foram utilizadas para detectar BVDV1, BVDV2 e recombinantes intertípicos. O tamanho esperado do produto de RT-PCR era de 562 pb para o BVDV1-NADL citopático e de 670 pb para o BVDV-53637 citopático. Se estivessem presentes vírus não citopáticos em níveis detectáveis seria esperado que produzissem produtos na primeira ronda de 292 pb (BCV1-NADL) ou 277 pb (BVDV-53637). Os recombinantes intertípicos deveriam ser de um tamanho similar ao dos precursores ou de um comprimento intermediário dependendo da localização do sítio de recombinação. Não foram detectados nunca BVDV não citopáticos depois da primeira ronda de RT-PCR.

Para aumentar a sensibilidade de detecção de BVDV não citopático em presença de um grande excesso de BVDV citopático, foi incluída uma etapa de digestão com enzimas de restrição antes da PCR aninhada para destruir os moldes de NS2-3 de maior tamanho derivados dos vírus citopáticos. Foi seleccionada uma combinação de *MspI* e *DraI* baseada na observação de que cortam dentro do inserto de *DnaJ1* de *Bos taurus* mas não cortam as sequências virais flanqueantes. Na segunda ronda de PCR (semianinhada), foram utilizados os iniciadores directos 53637U2 (5'-TGCACGATCTGTGAAGGGAAAGAA-3', SEQ ID N°: 9) ou NADL4844 (5'-TGCACTGTATGTGAGGGCCGAGAG-3', SEQ ID N°: 10) junto com os mesmos dois iniciadores reversos 53637L ou NADL5305. Foram utilizadas combinações de iniciadores apropriadas para tentar detectar recombinantes intertípicos assim como BVDV1 e BVDV2. O tamanho esperado do produto de RT-PCR é de 462 pb para BVDV1-NADL citopático e de 570 pb para BVDV2-53637 citopático (presente a baixos níveis devido a uma digestão

incompleta dos produtos de RT-PCR de BVDV citopático). Se estavam presentes vírus não citopáticos em níveis detectáveis, seria esperado que produzissem produtos de segunda ronda de 192 pb (BVDV1-NADL) ou 177 pb (BDV2-53637). Os recombinantes intertípicos deveriam ser de um tamanho similar a um dos precursores ou de um comprimento intermediário dependendo da localização do sítio de recombinação. Nunca foram detectados BVDV não citopáticos depois da segunda ronda de PCR. Em algumas reacções individuais, foram observadas bandas aberrantes de diversos tamanhos. Todas as bandas de entre 100 e 300 pb foram consideradas produtos não citopáticos potenciais e foram submetidas a análise de sequência de ADN. Em cada caso a banda aberrante era o resultado de uma falsa iniciação durante o PCR. Não havia provas de vírus não citopático em nenhum dos estudos.

LISTA DE SEQUÊNCIAS

<110> Welch, Siao-Kun Wan, et al.

<120> VACINAS VIRAIS MUTANTES SEGURAS

<130> PC25951A

<140> PCT/US2004/024011

<141> 26-07-2004

<160> 10

<170> PatentIn versão 3.2

<210> 1

<211> 19

<212> ADN

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> iniciador directo de oligonucleótido sintético
53637U1

<400> 1

cgtccacaga tggtttggt 19

<210> 2

<211> 22

<212> ADN

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> iniciador reverso sintético 53637L

<400> 2

ggctaigtat tggacgtaac cc 22

<210> 3

<211> 670

<212> ADN

<213> Estirpe 53637 do Vírus da Diarreia Viral Bovina 2

<400> 3

cgccacaga tggtttggtg aggaggaaat atatggggca cccaaggtga tcaccatcat	60
aaaagctagt accctaagta aaaacaggca ctgcataatc tgcacgatct gtgaagggaa	120
agaatggaac ggagccaact gcccaaagtg tggaagacaa ggaaagccca taacatgtgg	180
aatgacactc gcagactttg aggagaaaca ttacaaaaag atatttataa gagaaggacg	240
ccaagaagca atgaatacga tgatgtgcag ccgatgccag ggaaagcata ggaggtttga	300
aacggaccgg gaacctaaga gtgccagata ctgtgctgag tgtaataggc tgcacccctgc	360
tgaggaaggt gacttttggg cagagtcaag catgttgggc ctcaaatca cctactttgc	420
gctgatggat ggaaaggtgt atgatatcac agagtgggct ggatgccagc gtgtgggaat	480
ctccccagat acccacagag tcccttgctc catctcattt ggttcacgga tgccaggcac	540
cagtgggagg cagagagcta ctccagatgc cctcctgct gaccttcagg atttcttgag	600
ccgatcttt caagtacccc caggccagat gtccaggga gagtataagg gttacgtcca	660
atacatagcc	670

<210> 4

<211> 12573

<212> ADN

<213> Estirpe NADL do Vírus da Diarreia Viral Bovina 1

<400> 4

gtatacgaga attagaaaag gcactcgtat acgtattggg caattaaaaa taataattag	60
gcctagggaa caaatccctc tcagcgaagg ccgaaaagag gctagccatg cccttagtag	120
gactagcata atgagggggg tagcaacagt ggtgagttcg ttggatggct taagccctga	180
gtacagggta gtcgtcagt gttcgacgcc ttggaataaa ggtctcgaga tgccacgtgg	240
acgagggcat gcccaaagca catcttaacc tgagcggggg tcgcccaggt aaaagcagtt	300
ttaaccgact gttacgaata cagcctgata ggggtgctga gagggccact gtattgctac	360
taaaaatctc tgctgtacat ggcacatgga gttgatcaca aatgaacttt tatacaaaac	420
atacaaacaa aaacccgtcg ggggtggagga acctgtttat gatcaggcag gtgatccctt	480
atttggtgaa aggggagcag tccacctca atcgacgcta aagctccac acaagagagg	540
ggaacgcgat gttecaacca acttggcatc cttacaaaaa agaggtgact gcaggtcggg	600
taatagcaga ggacctgtga gcgggatcta cctgaagcca gggccactat ttaccagga	660
ctataaaggt cccgtctatc acagggcccc gctggagctc tttgaggagg gatccatgtg	720
tgaaacgact aaacggatag ggagagtaac tggaaagtgc ggaagctgt accacattta	780
tgtgtgtata gatggatgta taataataaa aagtgccacg agaagttacc aaagggtgtt	840
caggtgggtc cataataggc ttgactgcc tctatgggtc acaacttgct cagacacgaa	900
agaagaggga gcaacaaaaa agaaaacaca gaaacccgac agactagaaa gggggaaaat	960
gaaaatagtg cccaaagaat ctgaaaaaga cagcaaaact aaacctcgg atgctacaat	1020
agtgggtgaa ggagtcaaat accaggtgag gaagaaggga aaaaccaaga gtaaaaacac	1080
tcaggacggc ttgtaccata acaaaaacaa acctcaggaa tcacgcaaga aactggaaaa	1140
agcattgttg gcgtgggcaa taatagctat agttttgttt caagttacaa tgggagaaaa	1200
cataacacag tggaacctac aagataatgg gacggaaggg atacaacggg caatgttcca	1260
aaggggtgtg aatagaagtt tacatggaat ctggccagag aaaatctgta ctggcgtccc	1320
ttcccatcta gccaccgata tagaactaaa aacaattcat ggtatgatgg atgcaagtga	1380
gaagaccaac tacacgtgtt gcagacttca acgcatgag tggacaagc atggttgggtg	1440
caactggtac aatattgaac cctggattct agtcatgaat agaaccaag ccaatctcac	1500
tgagggacaa ccaccaaggg agtgcgagc cacttgtagg tatgataggg ctagtgactt	1560

aaacgtggta	acacaagcta	gagatagccc	cacaccotta	acaggttgca	agaaaggaaa	1620
gaacttctcc	tttgaggca	tattgatgcg	gggccctgc	aactttgaaa	tagctgcaag	1680
tgatgtatta	ttcaaagaac	atgaacgcat	tagtatgttc	caggatacca	ctctttacct	1740
tgttgacggg	ttgaccaact	ccttagaagg	tgccagacaa	ggaaccgcta	aactgacaac	1800
ctggttaggc	aagcagctcg	ggatactagg	aaaaaagttg	gaaaacaaga	gtaagacgtg	1860
gtttggagca	tacgctgctt	ccccttactg	tgatgtcgat	cgcaaaattg	gctacatatg	1920
gtatacaaaa	aattgcaccc	ctgectgctt	acccaagaac	acaaaaattg	tcggccctgg	1980
gaaatttggc	accaatgcag	aggacggcaa	gatattacat	gagatggggg	gtcacttgct	2040
ggaggtacta	ctactttctt	tagtgggtct	gtccgacttc	gcaccggaaa	cagctagtgt	2100
aatgtaccta	atcctacatt	ttccatccc	acaaagtcac	gttgatgtaa	tggattgtga	2160
taagaccag	ttgaacctca	cagtggagct	gacaacagct	gaagtaatac	cagggtcggt	2220
ctggaatcta	ggcaaatatg	tatgtataag	accaaattgg	tggccttatg	agacaactgt	2280
agtgttggca	tttgaagagg	tgagccaggt	ggtgaagtta	gtgttgaggg	cactcagaga	2340
tttaacacgc	atltggaacg	ctgcaacaac	tactgctttt	ttagtatgcc	ttgttaagat	2400
agtcaggggc	cagatggtac	agggcattct	gtggctacta	ttgataacag	gggtacaagg	2460
gcacttggat	tgcaaacctg	aattctcgta	tgccatagca	aaggacgaaa	gaattgggtca	2520
actgggggct	gaaggcctta	ccaccacttg	gaaggaatac	tcacctggaa	tgaagctgga	2580
agacacaatg	gtcattgctt	ggtgcgaaga	tgggaagtta	atgtacctcc	aaagatgcac	2640
gagagaaacc	agatatctcg	caatcttgca	tacaagagcc	ttgccgacca	gtgtgggtatt	2700
caaaaaactc	tttgatgggc	gaaagcaaga	ggatgtagtc	gaaatgaacg	acaactttga	2760
atltggactc	tgcccatgtg	atgccaaacc	catagtaaga	gggaagttca	atacaacgct	2820
gctgaacgga	ccggccttcc	agatgggtatg	cccatagga	tggacagggg	ctgtaagctg	2880
tacgtcatte	aatatggaca	ccttagccac	aactgtggta	cggacatata	gaaggtctaa	2940
accattccct	cataggcaag	gctgtatcac	ccaaaagaat	ctgggggagg	atctccataa	3000
ctgcatcctt	ggaggaaatt	ggacttgtgt	gcttgagac	caactactat	acaaaggggg	3060
ctctattgaa	tcttgcaagt	ggtgtggcta	tcaatttaaa	gagagtgagg	gactaccaca	3120
ctaccccat	ggcaagtgt	aattggagaa	cgagactggt	tacaggctag	tagacagtac	3180
ctcttgcaat	agagaagggtg	tggccatagt	accacaaggg	acattaaagt	gcaagatagg	3240
aaaaacaact	gtacaggtca	tagctatgga	tacaaactc	ggacctatgc	cttgacagacc	3300
atatgaaatc	atatcaagtg	aggggcctgt	agaaaagaca	gcgtgtactt	tcaactacac	3360
taagacatta	aaaaataagt	atlttgagcc	cagagacagc	tactttcagc	aatacatgct	3420
aaaaggagag	tatcaatact	ggtttgacct	ggaggtgact	gaccatcacc	gggattactt	3480

cgctgagtc atattagtgg tggtagtagc cctcttgggt ggcagatatg tactttggtt 3540
 actggttaca tacatggtct tatcagaaca gaaggcctta gggattcagt atggatcagg 3600
 ggaagtgggtg atgatgggca acttgetaac ccataacaat attgaagtgg tgacatactt 3660
 cttgctgctg tacctactgc tgaggaggga gagcgtaaag aagtgggtct tactcttata 3720
 ccacatctta gtggtacacc caatcaaacc tgtaattgtg atcctactga tgattgggga 3780
 tgtggtaaag gccgattcag ggggccaaga gtacttgggg aaaatagacc tctgttttac 3840
 aacagtagta ctaatcgta taggtttaat catagctagg cgtgacccaa ctatagtgcc 3900
 actggtaaca ataatggcag cactgagggt cactgaactg acccaccagc ctggagtga 3960
 catcgctgtg gcggtcatga ctataacct actgatggtt agctatgtga cagattattt 4020
 tagatataaa aaatggttac agtgcattct cagcctggta tctgcggtgt tcttgataag 4080
 aagcctaata tacctaggta gaatcgagat gccagaggta actatcccaa actggagacc 4140
 actaacttta atactattat atttgatctc aacaacaatt gtaacgaggt ggaaggtga 4200
 cgtggctggc ctattgttgc aatgtgtgcc tatcttattg ctggtcacaa ccttgtgggc 4260
 cgacttctta accctaatac tgatcctgcc tacctatgaa ttggttaaata tatactatct 4320
 gaaaactgtt aggactgata cagaaagaag ttggctaggg gggatagact atacaagagt 4380
 tgactccatc tacgacgttg atgagagtgg agagggcgta tatctttttc catcaaggca 4440
 gaaagcacag ggggaatttt ctatactctt gcccttacc aaagcaacac tgataagttg 4500
 cgtcagcagt aaatggcagc taatatacat gagttactta actttggact ttatgtacta 4560
 catgcacagg aaagttatag aagagatctc aggaggtacc aacataatat ccagggttagt 4620
 ggcagcactc atagagctga actgggccat ggaagaagag gagagcaaag gcttaaagaa 4680
 gttttatcta ttgtctggaa ggttgagaaa cctaataata aacataagg taaggaatga 4740
 gaccgtggct tcttggtacg gggaggagga agtctacggt atgccaaaga tcatgactat 4800
 aatcaaggcc agtacactga gtaagagcag gcactgcata atatgcactg tatgtgaggg 4860
 ccgagagtgg aaaggtggca cctgccccaa atgtggacgc catgggaagc cgataacgtg 4920
 tgggatgtcg ctagcagatt ttgaagaaag aactataaa agaactctta taagggaagg 4980
 caactttgag ggtatgtgca gccgatgcca gggaaagcat aggaggtttg aaatggaccg 5040
 ggaacctaaag agtgccagat actgtgctga gtgtaatagg ctgcatcctg ctgaggaagg 5100
 tgacttttgg gcagagtga gcatgttggg cctcaaaac accactttg cgctgatgga 5160
 tggaaaagggt tatgatata cagagtgggc tggatgccag cgtgtgggaa tctccccaga 5220
 taccacaga gtccctgtc acatctcatt tggttcacgg atgcctttca ggcaggaata 5280
 caatggcttt gtacaatata ccgctagggg gcaactattt ctgagaaact tgcccgtact 5340
 ggcaactaaa gtaaaaatgc tcatggtagg caaccttgga gaagaaattg gtaatctgga 5400

acatcttggg tggatcctaa gggggcctgc cgtgtgtaag aagatcacag agcacgaaaa 5460
 atgccacatt aatatactgg ataaactaac cgcatttttc gggatcatgc caagggggac 5520
 tacacccaga gccccggtga ggttccctac gagcttacta aaagtgagga ggggtctgga 5580
 gactgcctgg gcttacacac accaaggcgg gataagttca gtcgaccatg taaccgcccg 5640
 aaaagatcta ctggtctgtg acagcatggg acgaactaga gtggtttgcc aaagcaacaa 5700
 caggttgacc gatgagacag agtatggcgt caagactgac tcagggtgcc cagacgggtc 5760
 cagatgttat gtgttaaate cagaggccgt taacatatca ggatccaaag gggcagtcgt 5820
 tcacctccaa aagacagggtg gagaattcac gtgtgtcacc gcatcaggca caccggcttt 5880
 cttcgacctt aaaaacttga aaggatggtc aggccttgct atatttgaag cctccagcgg 5940
 gaggggtggt ggcagagtca aagtagggaa gaatgaagag tctaaacctt caaaaataat 6000
 gagtggaaac cagaccgtct caaaaaacag agcagacctg accgagatgg tcaagaagat 6060
 aaccagcatg aacaggggag acttcaagca gattactttg gcaacagggg caggcaaaac 6120
 cacagaactc ccaaaagcag ttatagagga gataggaaga cacaagagag tattagttct 6180
 tatacatta agggcagcgg cagagtcagt ctaccagtat atgagattga aacacccaag 6240
 catctctttt aacctaaagg taggggacat gaaagagggg gacatggcaa ccgggataac 6300
 ctatgcatca tacgggtact tctgccaat gcctcaacca aagctcagag ctgctatggt 6360
 agaatactca tacatattct tagatgaata ccattgtgcc actcctgaac aactggcaat 6420
 tatcggaag atccacagat ttccagagag tataagggtt gtcgccatga ctgccacgcc 6480
 agcagggctg gtgaccacaa caggtcacaa gcaccaata gaggaattca tagccccga 6540
 ggtaatgaaa ggggaggatc ttggtagtca gtcccttgat atagcagggt taaaaatacc 6600
 agtggatgag atgaaaggca atatgttggg ttttgtacca acgagaaaca tggcagtaga 6660
 ggtagcaaag aagctaaaag ctaagggcta taactctgga tactattaca gtggagagga 6720
 tccagccaat ctgagagttg tgacatcaca atccccctat gtaatcgtgg ctacaaatgc 6780
 tattgaatca ggagtgcacac taccagatct ggacacgggt atagacacgg ggttgaaatg 6840
 tgaaaagagg gtgagggtat catcaaagat acccttcacg gtaacaggcc ttaagaggat 6900
 ggccgtgact gtgggtgagc aggcgcagcg taggggcaga gtaggtagag tgaaaccggg 6960
 gaggtattat aggagccagg aaacagcaac agggtcacaa gactaccact atgacctctt 7020
 gcaggcacia agatacggga ttgaggatgg aatcaacgtg acgaaatcct ttagggagat 7080
 gaattacgat tggagcctat acgaggagga cagcctacta ataaccagc tggaaatact 7140
 aaataateta ctcatctcag aagacttgcc agccgctgtt aagaacataa tggccaggac 7200
 tgatcaccca gagccaatcc aacttgcata caacagctat gaagtccagg tcccggctct 7260
 attcccaaaa ataaggaaatg gagaagtcac agacacctac gaaaattact cgtttctaaa 7320

tgccagaaaag ttaggggagg atgtgcccggt gtatatctac gctactgaag atgaggatct	7380
ggcagttgac ctcttagggc tagactggcc tgatcctggg aaccagcagg tagtggagac	7440
tggtaaagca ctgaagcaag tgaccgggtt gtccctcggct gaaaatgcc tactagtggc	7500
tttatttggg tatgtgggtt accaggctct ctcaaaggagg catgtcccaa tgataacaga	7560
catatataacc atcgaggacc agagactaga agacaccacc cacctccagt atgcacccaa	7620
cgcataaaa accgatggga cagagactga actgaaagaa ctggcgtcgg gtgacgtgga	7680
aaaaatcatg ggagccattt cagattatgc agctggggga ctggagtttg ttaaattcca	7740
agcagaaaaag ataaaaacag ctcccttgtt taaagaaaac gcagaagccg caaaagggtg	7800
tgtccaaaaa ttcattgact cattaattga aaataaagaa gaaataatca gatatggttt	7860
gtggggaaca cacacagcac tatacaaaag catagctgca agactggggc atgaaacagc	7920
gtttgccaca ctagtgttaa agtggctagc ttttggaggg gaatcagtg cagaccacgt	7980
caagcaggcg gcagttgatt tagtgggtcta ttatgtgatg aataagcctt ccttcccagg	8040
tgactccgag acacagcaag aaggaggcg attcgtcgca agcctgttca tctccgact	8100
ggcaacctac acatacaaaa cttggaatta ccacaatctc tctaaagtgg tggaaccagc	8160
cctggcttac ctcccctatg ctaccagcgc attaaaaatg ttcaccccaa cgcggctgga	8220
gagcgtggtg atactgagca ccacgatata taaaacatac ctctctataa ggaaggggaa	8280
gagtgatgga ttgctgggta cggggataag tgcagccatg gaaatcctgt cacaaaacc	8340
agtatcggta ggtatatctg tgatgttggg ggtaggggca atcgctcgc acaacgctat	8400
tgagtcaggt gaacagaaaa ggaccctact tatgaagggtg tttgtaaaga acttcttggg	8460
tcaggtcgca acagatgagc tggtaaaaga aaaccagaa aaaattataa tggccttatt	8520
tgaagcagtc cagacaattg gtaacccct gagactaata taccacctgt atgggggtta	8580
ctacaaaggt tgggaggcca aggaactatc tgagaggaca gcaggcagaa acttattcac	8640
attgataatg tttgaagcct tcgagttatt agggatggac tcacaaggga aaataaggaa	8700
cctgtccgga aattacattt tggatttgat atacggccta cacaagcaa tcaacagagg	8760
gctgaagaaa atggtactgg ggtgggcccc tgcacccttt agttgtgact ggaccctag	8820
tgacgagagg atcagattgc caacagacaa ctatttgagg gtagaaacca ggtgcccatg	8880
tggctatgag atgaaagcct tcaaaaatgt aggtggcaaa cttaccaaaag tggaggagag	8940
cgggcctttc ctatgtagaa acagacctgg taggggacca gtcaactaca gagtcaccaa	9000
gtattacgat gacaacctca gagagataaa accagtagca aagttggaag gacaggtaga	9060
gcactactac aaaggggtca cagcaaaaat tgactacagt aaaggaaaaa tgctcttggc	9120
cactgacaag tgggagggtg aacatggtgt cataaccagg ttagctaaga gatatactgg	9180
ggtcgggttc aatggtgcat acttaggtga cgagcccaat caccgtgctc tagtggagag	9240

ggactgtgca actataacca aaaacacagt acagtttcta aaaatgaaga aggggtgtgc 9300
 gttcacctat gacctgacca tctccaatct gaccaggtc atcgaactag tacacaggaa 9360
 caatcttgaa gagaaggaaa taccacccgc tacggtcacc acatggctag cttacacctt 9420
 cgtgaatgaa gacgtaggga ctataaaacc agtactagga gagagagtaa tccccgaccc 9480
 tgtagttgat atcaatttac aaccagaggt gcaagtggac acgtcagagg ttgggatcac 9540
 aataattgga agggaaaccc tgatgacaac gggagtgaac cctgtcttgg aaaaagtaga 9600
 gcctgacgcc agcgacaacc aaaactcggg gaagatcggg ttggatgagg gtaattaccc 9660
 agggcctgga atacagacac atacactaac agaagaaata cacaacaggg atgcgaggcc 9720
 cttcatcatg atcctgggct caaggaattc catatcaaat agggcaaaga ctgctagaaa 9780
 tataaatctg tacacaggaa atgaccccg ggaatacga gacttgatgg ctgcagggcg 9840
 catgttagta gtagcactga gggatgtcga cctgagctg tctgaaatgg tcgatttcaa 9900
 ggggactttt ttagataggg aggcctgga ggctctaagt ctgggcaac ctaaaccgaa 9960
 gcaggttacc aaggaagctg ttaggaattt gatagaacag aaaaaagatg tggagatccc 10020
 taactggttt gcatcagatg acccagtatt tctggaagtg gccttaaaaa atgataagta 10080
 ctacttagta ggagatgttg gagagctaaa agatcaagct aaagcacttg ggccacgga 10140
 tcagacaaga attataaagg aggtaggctc aaggacgtat gccatgaagc tatctagctg 10200
 gttcctcaag gcatcaaaaca aacagatgag tttaactcca ctgtttgagg aattgttgct 10260
 acggtgcccc cctgcaacta agagcaataa ggggcacatg gcatcagctt accaattggc 10320
 acagggtaac tgggagcccc tcggttgctg ggtgcaccta ggtacaatac cagccagaag 10380
 ggtgaagata caccatcatg aagcttacct gaagttgaaa gatttcatag aagaagaaga 10440
 gaagaaacct agggtaagg atacagtaat aagagagcac aacaaatgga tacttaaaaa 10500
 aataaggttt caaggaaacc tcaacaccaa gaaaatgctc aaccagggga 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 caaccaccc tgaaacacac 10800
 ctacggtgag gtgacgtggg agcaacttga ggcgggggta aatagaaagg gggcagcagg 10860
 ctctctggag aagaagaaca tcggagaagt attggattca gaaaagcacc tggtagaaca 10920
 attggtcagg gatctgaagg ccgggagaaa gataaaatat tatgaaactg caataccaaa 10980
 aatgagaag agagatgtca gtgatgactg gcaggcaggg gacctggtgg ttgagaagag 11040
 gccaaagatt atccaatacc ctgaagccaa gacaaggcta gccatcacta aggtcatgta 11100
 taactgggtg aaacagcagc ccgttgtgat tccaggatat gaaggaaaga ccccttgtt 11160

```

caacatcttt gataaagtga gaaaggaatg ggactcgttc aatgagccag tggccgtaag 11220
ttttgacacc aaagcctggg acactcaagt gactagtaag gatctgcaac ttattggaga 11280
aatccagaaa tattactata agaaggagtg gcacaagttc attgacacca tcaccgacca 11340
catgacagaa gtaccagtta taacagcaga tgggtgaagta tatataagaa atgggcagag 11400
agggagcggc cagccagaca caagtgctgg caacagcatg ttaaattgtc tgacaatgat 11460
gtacggcttc tgcgaaagca caggggtacc gtacaagagt ttcaacaggg tggcaaggat 11520
ccacgtctgt ggggatgatg gcttcttaat aactgaaaaa gggttagggc tgaaatttgc 11580
taacaaaggg atgcagattc ttcattgaagc aggcacaccc cagaagataa cggaagggga 11640
aaagatgaaa gttgcctata gatttgagga tatagagttc tgttctcata cccagtcacc 11700
tgttaggtgg tccgacaaca ccagtagtca catggccggg agagacaccg ctgtgatact 11760
atcaaagatg gcaacaagat tggattcaag tggagagagg ggtaccacag catatgaaaa 11820
agcggtagcc ttcagtttct tgctgatgta ttcttggaa cgccttggtta ggaggatttg 11880
cctgttggtc ctttcgcaac agccagagac agacccatca aaacatgcca cttattatta 11940
caaaggatgat ccaatagggg cctataaaga tgtaataggt cggaaatctaa gtgaactgaa 12000
gagaacaggc tttgagaaat tggcaaatct aaacctaaagc ctgtccacgt tgggggtctg 12060
gactaagcac acaagcaaaa gaataattca ggactgtgtt gccattggga aagaagaggg 12120
caactggcta gtttaagccg acaggctgat atccagcaaa actggccact tatacatacc 12180
tgataaaggc ttacattac aaggaaagca ttatgagcaa ctgcagctaa gaacagagac 12240
aaacccggtc atgggggttg ggactgagag atacaagtta ggtcccatag tcaatctgct 12300
gctgagaagg ttgaaaattc tgctcatgac ggccgtcggc gtcagcagct gagacaaaat 12360
gtatatattg taaataaatt aatccatgta catagtgtat ataaatatag ttgggaccgt 12420
ccacctcaag aagacgacac gcccaacacg cacagctaaa cagtagtcaa gattatctac 12480
ctcaagataa cactacattt aatgcacaca gcactttagc tgtatgagga tacgcccgac 12540
gtctatagtt ggactaggga agacctctaa cag 12573

```

<210> 5

<211> 3988

<212> PRT

<213> Estirpe NADL do Vírus da Diarreia Viral Bovina 1

<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	Ala Val	Met Thr	Ile	Thr Leu	Leu	
1190			1195			1200			
Met Val	Ser Tyr	Val Thr	Asp	Tyr Phe	Arg Tyr	Lys	Lys Trp	Leu	
1205			1210			1215			
Gln Cys	Ile Leu	Ser Leu	Val	Ser Ala	Val Phe	Leu	Ile Arg	Ser	
1220			1225			1230			
Leu Ile	Tyr Leu	Gly Arg	Ile	Glu Met	Pro Glu	Val	Thr Ile	Pro	
1235			1240			1245			
Asn Trp	Arg Pro	Leu Thr	Leu	Ile Leu	Leu Tyr	Leu	Ile Ser	Thr	
1250			1255			1260			
Thr Ile	Val Thr	Arg Trp	Lys	Val Asp	Val Ala	Gly	Leu Leu	Leu	
1265			1270			1275			
Gln Cys	Val Pro	Ile Leu	Leu	Leu Val	Thr Thr	Leu	Trp Ala	Asp	
1280			1285			1290			

Phe Leu	Thr Leu Ile Leu Ile	Leu Pro Thr Tyr Glu	Leu Val Lys
1295	1300	1305	
Leu Tyr	Tyr Leu Lys Thr Val	Arg Thr Asp Thr Glu	Arg Ser Trp
1310	1315	1320	
Leu Gly	Gly Ile Asp Tyr Thr	Arg Val Asp Ser Ile	Tyr Asp Val
1325	1330	1335	
Asp Glu	Ser Gly Glu Gly Val	Tyr Leu Phe Pro Ser	Arg Gln Lys
1340	1345	1350	
Ala Gln	Gly Asn Phe Ser Ile	Leu Leu Pro Leu Ile	Lys Ala Thr
1355	1360	1365	
Leu Ile	Ser Cys Val Ser Ser	Lys Trp Gln Leu Ile	Tyr Met Ser
1370	1375	1380	
Tyr Leu	Thr Leu Asp Phe Met	Tyr Tyr Met His Arg	Lys Val Ile
1385	1390	1395	
Glu Glu	Ile Ser Gly Gly Thr	Asn Ile Ile Ser Arg	Leu Val Ala
1400	1405	1410	
Ala Leu	Ile Glu Leu Asn Trp	Ser Met Glu Glu Glu	Glu Ser Lys
1415	1420	1425	
Gly Leu	Lys Lys Phe Tyr Leu	Leu Ser Gly Arg Leu	Arg Asn Leu
1430	1435	1440	
Ile Ile	Lys His Lys Val Arg	Asn Glu Thr Val Ala	Ser 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 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
3715 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 Ala Thr Pro Ala Gly Ser	Val Thr Thr Thr Gly	Gln Lys His
2030	2035	2040
Pro Ile Glu Glu Phe Ile Ala	Pro Glu Val Met Lys	Gly Glu Asp
2045	2050	2055
Leu Gly Ser Gln Phe Leu Asp	Ile Ala Gly Leu Lys	Ile Pro Val
2060	2065	2070
Asp Glu Met Lys Gly Asn Met	Leu Val Phe Val Pro	Thr Arg Asn
2075	2080	2085
Met Ala Val Glu Val Ala Lys	Lys Leu Lys Ala Lys	Gly Tyr Asn
2090	2095	2100
Ser Gly Tyr Tyr Tyr Ser Gly	Glu Asp Pro Ala Asn	Leu Arg Val
2105	2110	2115
Val Thr Ser Gln Ser Pro Tyr	Val Ile Val Ala Thr	Asn Ala Ile
2120	2125	2130
Glu Ser Gly Val Thr Leu Pro	Asp Leu Asp Thr Val	Ile Asp Thr
2135	2140	2145
Gly Leu Lys Cys Glu Lys Arg	Val Arg Val Ser Ser	Lys Ile Pro
2150	2155	2160
Phe Ile Val Thr Gly Leu Lys	Arg Met Ala Val Thr	Val Gly Glu
2165	2170	2175
Gln Ala Gln Arg Arg Gly Arg	Val Gly Arg Val Lys	Pro Gly Arg
2180	2185	2190
Tyr Tyr Arg Ser Gln Glu Thr	Ala Thr Gly Ser Lys	Asp Tyr His
2195	2200	2205
Tyr Asp Leu Leu Gln Ala Gln	Arg Tyr Gly Ile Glu	Asp Gly Ile
2210	2215	2220
Asn Val Thr Lys Ser Phe Arg	Glu Met Asn Tyr Asp	Trp Ser Leu
2225	2230	2235
Tyr Glu Glu Asp Ser Leu Leu	Ile Thr Gln Leu Glu	Ile Leu Asn
2240	2245	2250

Asn Leu	Leu Ile Ser Glu Asp	Leu Pro Ala Ala Val	Lys Asn Ile
2255	2260	2265	
Met Ala	Arg Thr Asp His Pro	Glu Pro Ile Gln Leu	Ala Tyr Asn
2270	2275	2280	
Ser Tyr	Glu Val Gln Val Pro	Val Leu Phe Pro Lys	Ile Arg Asn
2285	2290	2295	
Gly Glu	Val Thr Asp Thr Tyr	Glu Asn Tyr Ser Phe	Leu Asn Ala
2300	2305	2310	
Arg Lys	Leu Gly Glu Asp Val	Pro Val Tyr Ile Tyr	Ala Thr Glu
2315	2320	2325	
Asp Glu	Asp Leu Ala Val Asp	Leu Leu Gly Leu Asp	Trp Pro Asp
2330	2335	2340	
Pro Gly	Asn Gln Gln Val Val	Glu Thr Gly Lys Ala	Leu Lys Gln
2345	2350	2355	
Val Thr	Gly Leu Ser Ser Ala	Glu Asn Ala Leu Leu	Val Ala Leu
2360	2365	2370	
Phe Gly	Tyr Val Gly Tyr Gln	Ala Leu Ser Lys Arg	His Val Pro
2375	2380	2385	
Met Ile	Thr Asp Ile Tyr Thr	Ile Glu Asp Gln Arg	Leu Glu Asp
2390	2395	2400	
Thr Thr	His Leu Gln Tyr Ala	Pro Asn Ala Ile Lys	Thr Asp Gly
2405	2410	2415	
Thr Glu	Thr Glu Leu Lys Glu	Leu Ala Ser Gly Asp	Val Glu Lys
2420	2425	2430	
Ile Met	Gly Ala Ile Ser Asp	Tyr Ala Ala Gly Gly	Leu Glu Phe
2435	2440	2445	
Val Lys	Ser Gln Ala Glu Lys	Ile Lys Thr Ala Pro	Leu Phe Lys
2450	2455	2460	
Glu Asn	Ala Glu Ala Ala Lys	Gly Tyr Val Gln Lys	Phe Ile Asp
2465	2470	2475	
Ser Leu	Ile Glu Asn Lys Glu	Glu Ile Ile Arg Tyr	Gly Leu Trp
2480	2485	2490	

Gly Thr	His Thr	Ala Leu	Tyr Lys	Ser Ile	Ala Ala	Arg Leu	Gly
2495			2500		2505		
His Glu	Thr Ala	Phe Ala	Thr Leu	Val Leu	Lys Trp	Leu Ala	Phe
2510			2515		2520		
Gly Gly	Glu Ser	Val Ser	Asp His	Val Lys	Gln Ala	Ala Val	Asp
2525			2530		2535		
Leu Val	Val Tyr	Tyr Val	Met Asn	Lys Pro	Ser Phe	Pro Gly	Asp
2540			2545		2550		
Ser Glu	Thr Gln	Gln Glu	Gly Arg	Arg Phe	Val Ala	Ser Leu	Phe
2555			2560		2565		
Ile Ser	Ala Leu	Ala Thr	Tyr Thr	Tyr Lys	Thr Trp	Asn Tyr	His
2570			2575		2580		
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> Vírus da Diarreia Viral Bovina 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
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
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
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
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
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
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 Leu Ile Thr		

930		935		940
Gly Leu Val Lys Cys Lys Ile Gly Asp Thr Thr Val Gln Val Ile Ala				
945		950	955	960
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 Leu Ile Ile Ala Arg Arg Asp Pro Thr Ile Val Pro Leu				
1160		1165		1170
Ile Thr Ile Val Ala Ser Leu Arg Val Thr Gly Leu Thr Tyr Ser				

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

1415		1420		1425
Gly Leu Lys Lys Phe Tyr Leu Leu Ser Gly Arg Leu Arg Asn Leu	1430	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 1910	Glu Tyr His Cys Ala 1915	Thr Pro Glu Gln Leu Ala Ile Ile 1920
Gly Lys 1925	Ile His Arg Phe Ser 1930	Glu Ser Ile Arg Val Val Ala Met 1935
Thr Ala 1940	Thr Pro Ala Gly Ser 1945	Val Thr Thr Thr Gly Gln Lys His 1950
Pro Ile 1955	Glu Glu Phe Ile Ala 1960	Pro Glu Val Met Glu Gly Glu Asp 1965
Leu Gly 1970	Ser Gln Phe Leu Asp 1975	Ile Ala Gly Leu Lys Ile Pro Val 1980
Asp Glu 1985	Met Lys Gly Asn Met 1990	Leu Val Phe Val Pro Thr Arg Asn 1995
Met Ala 2000	Val Glu Val Ala Lys 2005	Lys Leu Lys Ala Lys Gly Tyr Asn 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	Thr Lys Ser Phe Arg	Glu Met Asn Tyr Asp Trp Ser Leu

2135	2140	2145
Tyr Glu Glu Asp Ser Leu Leu Ile Thr Gln Leu Glu Ile Leu Asn 2150 2155 2160		
Asn Leu Leu Ile Ser Glu Asp Leu Pro Ala Ala Val Lys Asn Ile 2165 2170 2175		
Met Ala Arg Thr Asp His Pro Glu Pro Ile Gln Leu Ala Tyr Asn 2180 2185 2190		
Ser Tyr Glu Val Gln Val Pro Val Leu Phe Pro Lys Ile Arg Asn 2195 2200 2205		
Gly Glu Val Thr Asp Thr Tyr Glu Asn Tyr Ser Phe Leu Asn Ala 2210 2215 2220		
Arg Lys Leu Gly Glu Asp Val Pro Val Tyr Ile Tyr Ala Thr Glu 2225 2230 2235		
Asp Glu Asp Leu Ala Val Asp Leu Leu Gly Leu Asp Trp Pro Asp 2240 2245 2250		
Pro Gly Asn Gln Gln Val Val Glu Thr Gly Lys Ala Leu Lys Gln 2255 2260 2265		
Val Ala Gly Leu Ser Ser Ala Glu Asn Ala Leu Leu Val Ala Leu 2270 2275 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 Leu Gly Val Gly Ala Ile Ala Ala His Asn Ala Ile Glu					
2570		2575		2580	
Ser Ser Glu Gln Lys Arg Thr Leu Leu Met Lys Val Phe Val Lys					
2585		2590		2595	
Asn Phe Leu Asp Gln Ala Ala Thr Asp Glu Leu Val Lys Glu Asn					
2600		2605		2610	
Pro Glu Lys Ile Ile Met Ala Leu Phe Glu Ala Val Gln Thr Ile					

2615		2620		2625
Gly Asn 2630	Pro Leu Arg Leu Ile 2635	Tyr His Leu Tyr 2640	Gly 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 Lys Tyr His Leu Ile	Gly Asp Val Val Glu	Val Lys Asp		
3140	3145	3150		
Gln Ala Lys Ala Leu Gly Ala	Thr Asp Gln Thr Arg	Ile Val Lys		
3155	3160	3165		
Glu Val Gly Ser Arg Thr Tyr	Thr Met Lys Leu Ser	Ser Trp Phe		
3170	3175	3180		
Leu Gln Ala Ser Ser Lys Glu	Met Ser Leu Thr Pro	Leu Phe Glu		
3185	3190	3195		
Glu Leu Leu Leu Arg Cys Pro	Pro Ala Thr Lys Ser	Asn Lys Gly		
3200	3205	3210		
His Met Ala Ser Ala Tyr Gln	Leu Ala Gln Gly Asn	Trp Glu Pro		
3215	3220	3225		
Leu Gly Cys Gly Val His Leu	Gly Thr Val Pro Ala	Arg Arg Val		
3230	3235	3240		
Lys Met His Pro Tyr Glu Ala	Tyr Leu Lys Leu Lys	Asp Leu Val		
3245	3250	3255		
Glu Glu Glu Glu Lys Lys Pro	Arg Ile Arg Asp Thr	Val Ile Arg		
3260	3265	3270		
Glu His Asn Lys Trp Ile Leu	Lys Lys Ile Lys Phe	Gln Gly Asn		
3275	3280	3285		
Leu Asn Thr Lys Lys Met Leu	Asn Pro Gly Lys Leu	Ser Glu Gln		
3290	3295	3300		
Leu Asp Arg Glu Gly His Lys	Arg Asn Ile Tyr Asn	Asn Gln Ile		
3305	3310	3315		
Ser Thr Val Met Ser Ser Ala	Gly Ile Arg Leu Glu	Lys Leu Pro		
3320	3325	3330		
Ile Val Arg Ala Gln Thr Asp	Thr Lys Ser Phe His	Glu Ala Ile		

3335	3340	3345
Arg Asp Lys Ile Asp Lys Asn Glu Asn Arg Gln Asn Pro Glu Leu		
3350	3355	3360
His Asn Lys Leu Leu Glu Ile Phe His Thr Ile Ala Asp Pro Ser		
3365	3370	3375
Leu Lys His Thr Tyr Gly Glu Val Thr Trp Glu Gln Leu Glu Ala		
3380	3385	3390
Gly Ile Asn Arg Lys Gly Ala Ala Gly Phe Leu Glu Lys Lys Asn		
3395	3400	3405
Ile Gly Glu Val Leu Asp Ser Glu Lys His Leu Val Glu Gln Leu		
3410	3415	3420
Val Arg Asp Leu Lys Ala Gly Arg Lys Ile Arg Tyr Tyr Glu Thr		
3425	3430	3435
Ala Ile Pro Lys Asn Glu Lys Arg Asp Val Ser Asp Asp Trp Gln		
3440	3445	3450
Ala Gly Asp Leu Val Asp Glu Lys Lys Pro Arg Val Ile Gln Tyr		
3455	3460	3465
Pro Glu Ala Lys Thr Arg Leu Ala Ile Thr Lys Val Met Tyr Asn		
3470	3475	3480
Trp Val Lys Gln Gln Pro Val Val Ile Pro Gly Tyr Glu Gly Lys		
3485	3490	3495
Thr Pro Leu Phe Asn Ile Phe Asn Lys Val Arg Lys Glu Trp Asp		
3500	3505	3510
Leu Phe Asn Glu Pro Val Ala Val Ser Phe Asp Thr Lys Ala Trp		
3515	3520	3525
Asp Thr Gln Val Thr Ser Arg Asp Leu His Leu Ile Gly Glu Ile		
3530	3535	3540
Gln Lys Tyr Tyr Tyr Arg Lys Glu Trp His Lys Phe Ile Asp Thr		
3545	3550	3555
Ile Thr Asp His Met Val Glu Val Pro Val Ile Thr Ala Asp Gly		
3560	3565	3570
Glu Val Tyr Ile Arg Asn Gly Gln Arg Gly Ser Gly Gln Pro Asp		

3575		3580		3585
Thr Ser Ala Gly Asn Ser Met	Leu Asn Val Leu Thr	Met Ile Tyr		
3590	3595	3600		
Ala Phe Cys Glu Ser Thr Gly	Val Pro Tyr Lys Ser	Phe Asn Arg		
3605	3610	3615		
Val Ala Lys Ile His Val Cys	Gly Asp Asp Gly Phe	Leu Ile Thr		
3620	3625	3630		
Glu Lys Gly Leu Gly Leu Lys	Phe Ser Asn Lys Gly	Met Gln Ile		
3635	3640	3645		
Leu His Glu Ala Gly Lys Pro	Gln Lys Leu Thr Glu	Gly Glu Lys		
3650	3655	3660		
Met Lys Val Ala Tyr Lys Phe	Glu Asp Ile Glu Phe	Cys Ser His		
3665	3670	3675		
Thr Pro Val Pro Val Arg Trp	Ser Asp Asn Thr Ser	Ser Tyr Met		
3680	3685	3690		
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> ADN

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> iniciador de oligonucleótido sintético NADL4744

<400> 7

cgtggcttct tggtaggg 19

<210> 8

<211> 22

<212> ADN

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> iniciador de oligonucleótido sintético NADL5305

<400> 8

agcggatat tgtacaaagc ca 22

<210> 9

<211> 24

<212> ADN

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> iniciador de oligonucleótido sintético 53637U2

<400> 9

tgacagatct gtgaaggga agaa 24

<210> 10

<211> 24

<212> ADN

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> iniciador de oligonucleótido sintético NADL4844

<400> 10

tgacactgtat gtgagggccg agag 24

LISTA DE SEQUÊNCIAS

<110> welch, Siao-Kun wan

Calvert, Jay Gregory

O'Hara, Michael K.

Cao, xuemei K.

<120> VACINAS VIRAIS MUTANTES SEGURAS

<130> PC25951A

<140> 60/490.834

<141> 29-07-2003

<160> 10

<170> PatentIn versão 3.2

<210> 1

<211> 19

<212> ADN

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> iniciador directo de oligonucleótido sintético
53637u1

<400> 1

cgtccacaga tggtttggt 19

<210> 2

<211> 22

<212> ADN

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> iniciador reverso sintético 53637L

<400> 2

ggctatgtat tggacgtaac cc 22

<210> 3

<211> 670

<212> ADN

<213> Estirpe 53637 do Vírus da Diarreia Viral Bovina 2

<400> 3

cgtccacaga tggtttggtg aggaggaaat atatggggca cccaagggtga tcaccatcat	60
aaaagctagt accctaagta aaaacaggca ctgcataatc tgcacgatct gtgaagggaa	120
agaatggaac ggagccaact gccc aaagtg tggaagacaa ggaaagccca taacatgtgg	180
aatgacactc gcagactttg aggagaaaca ttacaaaaag atatttataa gagaaggacg	240
ccaagaagca atgaatacga tgatgtgcag ccgatgccag ggaaagcata ggaggtttga	300
aacggaccgg gaacctaaga gtgccagata ctgtgctgag tgtaataggc tgcacccctgc	360
tgaggaaggt gacttttggg cagagtcaag catgttgggc ctcaaaatca cctactttgc	420
gctgatggat ggaaagggtg atgatatcac agagtgggct ggatgccagc gtgtgggaat	480
ctccccagat acccacagag tcccttgctca catctcattt ggttcacgga tgccaggcac	540
cagtgggctg cagagagcta ctccagatgc cctcctgct gaccttcagg atttcttgag	600
ccgatcttt caagtacccc caggccagat gtccagggaa gagtataagg gttacgtcca	660
 atacatagcc	 670

<210> 4

<211> 12573

<212> ADN

<213> Estirpe NADL do Vírus da Diarreia Viral Bovina 1

<400> 4

gtatacgaga attagaaaag gcactcgtat acgtattggg caattaaaaa taataattag	60
gcctagggaa caaatccctc tcagcgaagg ccgaaaagag gctagccatg cccttagtag	120
gactagcata atgagggggg tagcaacagt ggtgagttcg ttggatggct taagccctga	180
gtacagggta gtcgtcagtg gttcgacgcc ttggaataaa ggtctcgaga tgccacgtgg	240
acgagggcat gcccaaagca catcttaacc tgagcggggg tcgcccagggt aaaagcagtt	300
ttaaccgact gttacgaata cagcctgata gggtgctgca gaggccact gtattgctac	360
taaaaatctc tgctgtacat ggcacatgga gttgatcaca aatgaacttt tatacaaaac	420
atacaaacaa aaaccgctcg gggtaggagga acctgtttat gatcaggcag gtgatccctt	480
atttggtgaa aggggagcag tccaccctca atcgacgcta aagctcccac acaagagagg	540
ggaacgcgat gttccaacca acttggcatc cttaccaaaa agaggtgact gcaggtcggg	600
taatagcaga ggacctgtga gcgggatcta cctgaagcca gggccactat ttaccagga	660
ctataaagggt cccgtctatc acagggcccc gctggagctc tttgaggagg gatccatgtg	720
tgaaacgact aaacggatag ggagagtaac tggaagtgaac ggaaagctgt accacattta	780
tgtgtgtata gatggatgta taataataaa aagtgccacg agaagttacc aaaggggtgtt	840
caggtgggtc cataataggc ttgactgccc tctatgggtc acaacttgct cagacacgaa	900
agaagaggga gcaacaaaaa agaaaacaca gaaacccgac agactagaaa gggggaaaat	960
gaaaatagtg cccaaagaat ctgaaaaaga cagcaaaact aaacctccg atgctacaat	1020
agtgggtgaa ggagtcacaa accagggtgag gaagaaggga aaaaccaaga gtaaaaacac	1080
tcaggacggc ttgtaccata acaaaaacaa acctcaggaa tcacgcaaga aactggaaaa	1140
agcattgttg gcgtgggcaa taatagctat agttttgttt caagttacaa tgggagaaaa	1200
cataacacag tggaacctac aagataatgg gacggaagg atacaacggg caatgttcca	1260
aaggggtgtg aatagaagtt tacatggaat ctggccagag aaaatctgta ctggcgctcc	1320
ttcccatcta gccaccgata tagaactaaa aacaattcat ggtatgatgg atgcaagtga	1380
gaagaccaac tacacgtgtt gcagacttca acgccatgag tggaacaagc atggttggtg	1440
caactggtac aatattgaac cctggattct agtcatgaat agaaccaag ccaatctcac	1500
tgagggacaa ccaccaaggg agtgcgagc cacttgtagg tatgatagg ctagtgactt	1560
aaacgtggta acacaagcta gagatagccc cacaccctta acaggttgca agaaaggaaa	1620
gaacttctcc ttgacggca tattgatgag gggcccctgc aactttgaaa tagctgcaag	1680
tgatgtatta ttcaaagaac atgaacgcat tagtatgttc caggatacca ctctttacct	1740
tgttgacggg ttgaccaact ccttagaagg tgccagacaa ggaaccgcta aactgacaac	1800

ctggttaggc aagcagctcg ggatactagg aaaaaagttg gaaaacaaga gtaagacgtg	1860
gtttggagca tacgctgctt ccccttactg tgatgtcgat cgcaaaattg gctacatatg	1920
gtatacaaaa aattgcaccc ctgcctgctt acccaagaac acaaaaattg tcggccctgg	1980
gaaatttggc accaatgcag aggacggcaa gatattacat gagatggggg gtcacttgtc	2040
ggaggtacta ctactttctt tagtgggtgt gtccgacttc gcaccggaaa cagctagtgt	2100
aatgtacctt atcctacatt ttcccatccc acaaagtcac gttgatgtaa tggattgtga	2160
taagaccag ttgaacctca cagtggagct gacaacagct gaagtaatac cagggtcggg	2220
ctggaatcta ggcaaatatg tatgtataag accaaattgg tggccttatg agacaactgt	2280
agtgttgga tttgaagagg tgagccaggt ggtgaagtta gtgttgaggg cactcagaga	2340
tttaacacgc atttggaacg ctgcaacaac tactgctttt ttagtatgcc ttgttaagat	2400
agtcaggggc cagatggtac agggcattct gtggctacta ttgataacag ggggtacaagg	2460
gcacttggat tgcaaacctg aattctcgta tgccatagca aaggacgaaa gaattgggtca	2520
actgggggct gaaggcctta ccaccacttg gaaggaatac tcacctggaa tgaagctgga	2580
agacacaatg gtcattgctt ggtgcgaaga tgggaagtta atgtacctcc aaagatgcac	2640
gagagaaacc agatatctcg caatcttgca tacaagagcc ttgccgacca gtgtggtatt	2700
caaaaaactc tttgatggg gaaagcaaga ggatgtagtc gaaatgaacg acaactttga	2760
atgtggactc tgcccatgtg atgccaaacc catagtaaga ggggaagttca atacaacgct	2820
gctgaacgga cgggccttcc agatgggtatg ccccatagga tggacaggga ctgtaagctg	2880
tacgtcattc aatatggaca ccttagccac aactgtggta cggacatata gaaggtctaa	2940
accattccct cataggcaag gctgtatcac caaaagaat ctgggggagg atctccataa	3000
ctgcacctt ggaggaaatt ggacttgtgt gcctggagac caactactat acaaaggggg	3060
ctctattgaa tcttgcaagt ggtgtggcta tcaatttaa gagagtgagg gactaccaca	3120
ctacccatt ggcaagtgtt aattggagaa cgagactggt tacaggctag tagacagtac	3180
ctcttgcaat agagaagggtg tggccatagt accacaaggg acattaaagt gcaagatagg	3240
aaaaacaact gtacagggtc tagctatgga taccaaactc ggacctatgc cttgcagacc	3300
atatgaaatc atatcaagtg aggggcctgt agaaaagaca gcgtgtactt tcaactacac	3360
taagacatta aaaaataagt attttgagcc cagagacagc tactttcagc aatacatgct	3420
aaaaggagag tatcaatact ggtttgacct ggagggtgact gaccatcacc gggattactt	3480
cgctgagtcc atattagtg tggtagtagc cctcttgggt ggcagatatg tactttggtt	3540
actggttaca tacatggtct tatcagaaca gaaggcctta gggattcagt atggatcagg	3600
ggaagtgggt atgatgggca acttgctaac ccataacaat attgaagtgg tgacatactt	3660
cttgcctgtg tacctactgc tgagggagga gagcgtaaag aagtgggtct tactcttata	3720
ccacatctta gtggtacacc caatcaaact tgtaattgtg atcctactga tgattgggga	3780
tgtggtaaag gccgattcag ggggccaaga gtacttgggg aaaatagacc tctgttttac	3840

aacagtagta ctaatcgtca taggtttaat catagctagg cgtgacccaa ctatagtgcc	3900
actggtaaca ataatggcag cactgagggg cactgaactg acccaccagc ctggagttga	3960
catcgctgtg gcggtcatga ctataaccct actgatgggt agctatgtga cagattatit	4020
tagatataaa aaatggttac agtgcattct cagcctggta tctgcggtgt tcttgataag	4080
aagcctaata tacctaggta gaatcgagat gccagaggta actatcccaa actggagacc	4140
actaacttta atactattat atttgatctc aacaacaatt gtaacgaggt ggaaggttga	4200
cgtggctggc ctattgttgc aatgtgtgcc tatcttattg ctggtcacaa cttgtgggc	4260
cgacttctta accctaatac tgatcctgcc tacctatgaa ttggttaaat tatactatct	4320
gaaaactgtt aggactgata cagaaagaag ttggctaggg gggatagact atacaagagt	4380
tgactccatc tacgacgttg atgagagtgg agagggcgta tatctttttc catcaaggca	4440
gaaagcacag gggaaatitit ctatactctt gccccttate aaagcaacac tgataagttg	4500
cgtcagcagt aaatggcagc taatatacat gagttactta actttggact ttatgtacta	4560
catgcacagg aaagttaga aagagatctc aggaggtacc aacataatat ccaggttagt	4620
ggcagcactc atagagctga actggtccat ggaagaagag gagagcaaag gcttaaagaa	4680
gttttatcta ttgtctggaa ggttgagaaa cctaataata aaacataagg taaggaaatga	4740
gaccgtggct tcttggtagc gggaggagga agtctacggt atgccaaaga tcatgactat	4800
aatcaaggcc agtacactga gtaagagcag gcactgcata atatgcactg tatgtgaggg	4860
ccgagagtgg aaaggtggca cctgccccaa atgtggacgc catgggaagc cgataacgtg	4920
tgggatgtcg ctacgagatt ttgaagaaag acactataaa agaactctta taagggaagg	4980
caactttgag ggtatgtgca gccgatgcc a gggaaagcat aggaggtttg aaatggaccg	5040
ggaacctaa agtgcagat actgtgctga gtgtaatagg ctgcatcctg ctgaggaagg	5100
tgacttttgg gcagagtcga gcatgttggg cctcaaaatc acctactttg cgctgatgga	5160
tggaaagggt tatgatata cagagtgggc tggatgccag cgtgtgggaa tctccccaga	5220
taccacaga gtcccttgtc acatctcatt tggttcacgg atgcctttca ggcaggaata	5280
caatggcttt gtacaatata ccgctagggg gcaactatit ctgagaaact tgcccgact	5340
ggcaactaaa gtaaaaatgc tcatggtagg caaccttgg aagaaaattg gtaatctgga	5400
acatcttggg tggatcctaa gggggcctgc cgtgtgtaag aagatcacag agcacgaaaa	5460
atgccacatt aatatactgg ataaactaac cgcatttttc gggatcatgc caagggggac	5520
tacaccaga gccccgtga ggttcctac gagcttacta aaagttagga ggggtctgga	5580
gactgcctgg gcttacacac accaaggcgg gataagtcca gtcgaccatg taaccgccgg	5640
aaaagatcta ctggtctgtg acagcatggg acgaactaga gtggtttgcc aaagcaacaa	5700
caggttgacc gatgagacag agtatggcgt caagactgac tcagggtgcc cagacgggtc	5760
cagatgttat gtgttaaact cagagggcgt taacatatca ggatccaaag gggcagtcgt	5820
tcacctcaa aagacagggt gagaattcac gtgtgtcacc gcatcaggca caccggcttt	5880
cttcgacct aaaaaactga aaggatggc aggcttgcc atatttgaag cctccagcgg	5940

gaggggtggtt ggcagagtca aagtagggaa gaatgaagag tctaaaccta caaaaataat	6000
gagtggaaatc cagaccgtct caaaaaacag agcagacctg accgagatgg tcaagaagat	6060
aaccagcatg aacaggggag acttcaagca gattactttg gcaacagggg caggcaaaac	6120
cacagaactc ccaaaagcag ttatagagga gataggaaga cacaagagag tattagtctt	6180
tataccatta agggcagcgg cagagtcagt ctaccagtat atgagattga aacacccaag	6240
catctctttt aacctaagga taggggacat gaaagagggg gacatggcaa ccgggataac	6300
ctatgcatca tacgggtact tctgccaaat gcctcaacca aagctcagag ctgctatggt	6360
agaatactca tacatattct tagatgaata ccattgtgcc actcctgaac aactggcaat	6420
tatcgggaag atccacagat tticagagag tataaggggt gtcgccatga ctgccacgcc	6480
agcagggctg gtgaccacaa caggtcaaaa gcacccaata gaggaattca tagccccga	6540
ggtaatgaaa ggggaggatc ttggtagtca gttccttgat atagcagggg taaaaatacc	6600
agtggatgag atgaaaggca atatgttggt ttttgtacca acgagaaaca tggcagtaga	6660
ggtagcaaag aagctaaaag ctaagggcta taactctgga tactattaca gtggagagga	6720
tccagccaat ctgagagttg tgacatcaca atccccctat gtaatcgtgg ctacaaatgc	6780
tattgaatca ggagtgcac taccagattt ggacacgggt atagacacgg ggttgaaatg	6840
tgaaaagagg gtgagggat catcaaagat acccttcac gtaacaggcc ttaagaggat	6900
ggccgtgact gtgggtgagc aggcgcagcg taggggcaga gtaggtagag tgaaacccgg	6960
gaggtattat aggagccagg aaacagcaac aggggtcaaag gactaccact atgacctctt	7020
gcaggcacia agatacggga ttgaggatgg aatcaacgtg acgaaatcct ttagggagat	7080
gaattacgat tggagcctat acgaggagga cagcctacta ataaccagc tggaaatact	7140
aaataatcta ctcatctcag aagacttgcc agccgtgtt aagaacataa tggccaggac	7200
tgatcaccca gagccaatcc aacttgcata caacagctat gaagtccagg tcccggctct	7260
attcccaaaa ataaggaatg gagaagtcac agacacctac gaaaattact cgtttctaaa	7320
tgccagaaag ttaggggagg atgtgcccgt gtatatctac gctactgaag atgaggatct	7380
ggcagttgac ctcttagggc tagactggcc tgatcctggg aaccagcagg tagtggagac	7440
tggtaaagca ctgaagcaag tgaccgggtt gtcctcggct gaaaatgcc tactagtggc	7500
tttatttggg tatgtgggtt accaggctct ctcaaagagg catgtcccaa tgataacaga	7560
catatatacc atcgaggacc agagactaga agacaccacc cacctccagt atgcacccaa	7620
cgcataaaaa accgatggga cagagactga actgaaagaa ctggcgtcgg gtgacgtgga	7680
aaaaatcatg ggagccattt cagattatgc agctggggga ctggagtttg ttaaatccca	7740
agcagaaaag ataaaaacag ctcttttgtt taaagaaaac gcagaagccg caaaagggtg	7800
gttccaaaaa ttcattgact cattaattga aaataaagaa gaaataatca gatatggttt	7860
gtggggaaca cacacagcac tatacaaaag catagctgca agactggggc atgaaacagc	7920
gtttgccaca ctagtgttaa agtggctagc ttttggaggg gaatcagtgt cagaccacgt	7980

caagcaggcg	gcagttgatt	tagtgggtcta	ttatgtgatg	aataagcctt	ccttcccagg	8040
tgactccgag	acacagcaag	aagggaggcg	attcgtcgca	agcctgttca	tctccgcact	8100
ggcaacctac	acatacaaaa	cttgggaatta	ccacaatctc	tctaaagtgg	tggaaccagc	8160
cctggcttac	ctcccctatg	ctaccagcgc	attaaaaatg	ttcaccccaa	cgcggctgga	8220
gagcgtgggtg	atactgagca	ccacgatata	taaaacatac	ctctctataa	ggaaggggaa	8280
gagtgatgga	ttgctgggta	cggggataag	tgcagccatg	gaaatcctgt	cacaaaaccc	8340
agtatcggtg	ggtatatctg	tgatgttggg	ggtaggggca	atcgctgcgc	acaacgctat	8400
tgagtccagt	gaacagaaaa	ggaccctact	tatgaagggtg	tttgtaaaga	acttcttgga	8460
tcaggctgca	acagatgagc	tggtaaaaga	aaaccagaa	aaaattataa	tggccttatt	8520
tgaagcagtc	cagacaattg	gtaacccccct	gagactaata	taccacctgt	atgggggtta	8580
ctacaaaggt	tgggaggcca	aggaactatc	tgagaggaca	gcaggcagaa	acttattcac	8640
attgataatg	tttgaagcct	tcgagttatt	agggatggac	tcacaaggga	aaataaggaa	8700
cctgtccgga	aattacattt	tggatttgat	atacggccta	cacaagcaaa	tcaacagagg	8760
gctgaagaaa	atggtactgg	ggtgggcccc	tgcacccttt	agttgtgact	ggacccttag	8820
tgacgagagg	atcagattgc	caacagacaa	ctatttgagg	gtagaaacca	ggtgcccattg	8880
tggctatgag	atgaaagctt	tcaaaaatgt	aggtggcaaa	cttaccaaag	tggaggagag	8940
cgggcctttc	ctatgtagaa	acagacctgg	taggggacca	gtcaactaca	gagtcaccaa	9000
gtattacgat	gacaacctca	gagagataaa	accagtagca	aagttggaag	gacaggtaga	9060
gcactactac	aaaggggtca	cagcaaaaat	tgactacagt	aaaggaaaaa	tgctcttggc	9120
cactgacaag	tgggagggtg	aacatggtgt	cataaccagg	ttagctaaga	gatatactgg	9180
ggtcgggttc	aatggtgcat	acttaggtga	cgagcccaat	caccgtgctc	tagtggagag	9240
ggactgtgca	actataacca	aaaacacagt	acagtttcta	aaaatgaaga	aggggtgtgc	9300
gttcacctat	gacctgacca	tctccaatct	gaccaggctc	atcgaactag	tacacaggaa	9360
caatcttgaa	gagaaggaaa	taccaccgc	tacggtcacc	acatggctag	cttacacctt	9420
cgtgaatgaa	gacgtaggga	ctataaaacc	agtactagga	gagagagtaa	tccccgacct	9480
tgtagttgat	atcaatttac	aaccagaggt	gcaagtggac	acgtcagagg	ttgggatcac	9540
aataattgga	agggaaaccc	tgatgacaac	gggagtgaca	cctgtcttgg	aaaaagtaga	9600
gcctgacgcc	agcgacaacc	aaaactcgg	gaagatcggg	ttggatgagg	gtaattaccc	9660
agggcctgga	atacagacac	atacactaac	agaagaaata	cacaacaggg	atgcgaggcc	9720
cttcacatg	atcctgggct	caaggaattc	catatcaa	agggcaaaga	ctgctagaaa	9780
tataaatctg	tacacaggaa	atgaccccag	ggaaatacga	gacttgatgg	ctgcagggcg	9840
catgttagta	gtagcactga	gggatgtcga	ccctgagctg	tctgaaatgg	tcgatttcaa	9900
ggggactttt	ttagataggg	aggccctgga	ggctctaagt	ctcgggcaac	ctaaaccgaa	9960
gcaggttacc	aaggaagctg	ttaggaattt	gatagaacag	aaaaaagatg	tggagatccc	10020
taactgggtt	gcatcagatg	accagttatt	tctggaagtg	gccttaaaaa	atgataagta	10080

ctacttagta ggagatgttg gagagctaaa agatcaagct aaagcacttg gggccacgga 10140
 tcagacaaga attataaagg aggtaggctc aaggacgtat gccatgaagc tatctagctg 10200
 gttcctcaag gcatcaaaca aacagatgag ttttaactcca ctgtttgagg aattgttgct 10260
 acggtgcca cctgcaacta agagcaataa ggggcacatg gcatcagctt accaattggc 10320
 acagggtaac tgggagcccc tcggttcggt ggtgcaccta ggtacaatac cagccagaag 10380
 ggtgaagata caccatattg aagcttacct gaagttgaaa gatttcatag aagaagaaga 10440
 gaagaaacct aggggttaagg atacagtaat aagagagcac aacaaatgga tacttaaaaa 10500
 aataagggtt caaggaaacc tcaacaccaa gaaaatgctc aaccagggga aactatctga 10560
 acagttggac agggaggggc gcaagaggaa catctacaac caccagattg gtactataat 10620
 gtcaagtga ggcataagge tggagaaatt gccaatagtg agggcccaaa ccgacaccaa 10680
 aacctttcat gaggcaataa gagataagat agacaagagt gaaaaccggc aaaatccaga 10740
 attgcacaac aaattgttgg agattttcca cagcatagcc caaccaccc tgaacacac 10800
 ctacggtgag gtgacgtggg agcaacttga ggcgggggta aatagaaagg gggcagcagg 10860
 cttcctggag aagaagaaca tcggagaagt attggattca gaaaagcacc tggtagaaca 10920
 attggtcagg gatctgaagg ccgggagaaa gataaaatat tatgaaactg caataccaaa 10980
 aaatgagaag agagatgtca gtgatgactg gcaggcaggg gacctggtgg ttgagaagag 11040
 gccaaagagt atccaatacc ctgaagccaa gacaaggcta gccatcacta aggtcatgta 11100
 taactgggtg aaacagcagc ccgttgtgat tccaggatat gaaggaaaga ccccttggtt 11160
 caacatcttt gataaagtga gaaaggaatg ggactcgttc aatgagccag tggccgtaag 11220
 ttttgacacc aaagcctggg acactcaagt gactagtaag gatctgcaac ttattggaga 11280
 aatccagaaa tattactata agaaggagtg gcacaagttc attgacacca tcaccgacca 11340
 catgacagaa gtaccagtta taacagcaga tggtagaagta tatataagaa atgggcagag 11400
 agggagcggc cagccagaca caagtgtctg caacagcatg ttaaattgtc tgacaatgat 11460
 gtacggcttc tgcgaaagca caggggtacc gtacaagagt ttcaacaggg tggcaaggat 11520
 ccacgtctgt ggggatgatg gcttcttaat aactgaaaaa gggttagggc tgaaatttgc 11580
 taacaaaggg atgcagattc ttcattgaagc aggcaaacct cagaagataa cggaggggga 11640
 aaagatgaaa gttgcctata gatitgagga tatagagttc tgtttctcata ccccgatccc 11700
 tgttaggttg tccgacaaca ccagtagtca catggccggg agagacaccg ctgtgatact 11760
 atcaaagatg gcaacaagat tggattcaag tggagagagg ggtaccacag catatgaaaa 11820
 agcggtagcc ttcagtttct tgcctgatga ttcttgggaa ccgcttggtt ggaggatttg 11880
 cctgttggtc ctttcgcaac agccagagac agaccatca aaacatgcca cttattatta 11940
 caaaggatg ccaatagggg cctataaaga tgtaatatgt cggaatctaa gtgaactgaa 12000
 gagaacaggc tttgagaaat tggcaaatct aaacctaagc ctgtccacgt tgggggtctg 12060
 gactaagcac acaagcaaaa gaataattca ggactgtgtt gccattggga aagaagaggg 12120

```

caactggcta gtttaagcccg acaggctgat atccagcaaa actggccact tatacatacc 12180
tgataaaggc tttaacattac aaggaaagca ttatgagcaa ctgcagctaa gaacagagac 12240
aaacccggtc atggggggttg ggactgagag atacaagtta ggtcccatag tcaatctgct 12300
gctgagaagg ttgaaaattc tgctcatgac ggccgtcggc gtcagcagct gagacaaaat 12360
gtatatattg taaataaatt aatccatgta catagtgtat ataaatatag ttgggaccgt 12420
ccacctcaag aagacgacac gcccaacacg cacagctaaa cagtagtcaa gattatctac 12480
ctcaagataa cactacattt aatgcacaca gcactttagc tgtatgagga tacgcccgac 12540
gtctatagtt ggactaggga agacctctaa cag                                     12573

```

<210> 5

<211> 3988

<212> PRT

<213> Estirpe NADL do Vírus da Diarreia Viral Bovina 1

<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
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
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
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 Ala Val Met Thr Ile Thr Leu Leu
 1190 1195 1200
 Met Val Ser Tyr Val Thr Asp Tyr Phe Arg Tyr Lys Lys Trp Leu
 1205 1210 1215
 Gln Cys Ile Leu Ser Leu Val Ser Ala Val Phe Leu Ile Arg Ser
 1220 1225 1230
 Leu Ile Tyr Leu Gly Arg Ile Glu Met Pro Glu Val Thr Ile Pro
 1235 1240 1245
 Asn Trp Arg Pro Leu Thr Leu Ile Leu Leu Tyr Leu Ile Ser Thr
 1250 1255 1260
 Thr Ile Val Thr Arg Trp Lys Val Asp Val Ala Gly Leu Leu Leu

1265		1270		1275
Gln Cys Val Pro Ile Leu	Leu 1285	Leu Val Thr Thr	Leu 1290	Trp Ala Asp
Phe Leu Thr Leu Ile Leu	Ile 1300	Leu Pro Thr Tyr	Glu 1305	Leu Val Lys
Leu Tyr Tyr Leu Lys Thr	Val 1315	Arg Thr Asp Thr	Glu 1320	Arg Ser Trp
Leu Gly Gly Ile Asp Tyr	Thr 1330	Arg Val Asp Ser	Ile 1335	Tyr Asp Val
Asp Glu Ser Gly Glu Gly	Val 1345	Tyr Leu Phe Pro	Ser 1350	Arg Gln Lys
Ala Gln Gly Asn Phe Ser	Ile 1360	Leu Leu Pro Leu	Ile 1365	Lys Ala Thr
Leu Ile Ser Cys Val Ser	Ser 1375	Lys Trp Gln Leu	Ile 1380	Tyr Met Ser
Tyr Leu Thr Leu Asp Phe	Met 1390	Tyr Tyr Met His	Arg 1395	Lys Val Ile
Glu Glu Ile Ser Gly Gly	Thr 1405	Asn Ile Ile Ser	Arg 1410	Leu Val Ala
Ala Leu Ile Glu Leu Asn	Trp 1420	Ser Met Glu Glu	Glu 1425	Glu Ser Lys
Gly Leu Lys Lys Phe Tyr	Leu 1435	Leu Ser Gly Arg	Leu 1440	Arg Asn Leu
Ile Ile Lys His Lys Val	Arg 1450	Asn Glu Thr Val	Ala 1455	Ser Trp Tyr
Gly Glu Glu Glu Val Tyr	Gly 1465	Met Pro Lys Ile	Met 1470	Thr Ile Ile
Lys Ala Ser Thr Leu Ser	Lys 1480	Ser Arg His Cys	Ile 1485	Ile Cys Thr
Val Cys Glu Gly Arg Glu	Trp 1495	Lys Gly Gly Thr	Cys 1500	Pro Lys Cys
Gly Arg His Gly Lys Pro	Ile 1510	Thr Cys Gly Met	Ser 1515	Leu Ala Asp
Phe Glu Glu Arg His Tyr	Lys 1525	Arg Ile Phe Ile	Arg 1530	Glu Gly Asn

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 Ala Thr Pro Ala Gly Ser Val Thr Thr Thr Gly Gln Lys His
 2030 2035 2040

Pro Ile Glu Glu Phe Ile Ala Pro Glu Val Met Lys Gly Glu Asp
 2045 2050 2055
 Leu Gly Ser Gln Phe Leu Asp Ile Ala Gly Leu Lys Ile Pro Val
 2060 2065 2070
 Asp Glu Met Lys Gly Asn Met Leu Val Phe Val Pro Thr Arg Asn
 2075 2080 2085
 Met Ala Val Glu Val Ala Lys Lys Leu Lys Ala Lys Gly Tyr Asn
 2090 2095 2100
 Ser Gly Tyr Tyr Tyr Ser Gly Glu Asp Pro Ala Asn Leu Arg Val
 2105 2110 2115
 Val Thr Ser Gln Ser Pro Tyr Val Ile Val Ala Thr Asn Ala Ile
 2120 2125 2130
 Glu Ser Gly Val Thr Leu Pro Asp Leu Asp Thr Val Ile Asp Thr
 2135 2140 2145
 Gly Leu Lys Cys Glu Lys Arg Val Arg Val Ser Ser Lys Ile Pro
 2150 2155 2160
 Phe Ile Val Thr Gly Leu Lys Arg Met Ala Val Thr Val Gly Glu
 2165 2170 2175
 Gln Ala Gln Arg Arg Gly Arg Val Gly Arg Val Lys Pro Gly Arg
 2180 2185 2190
 Tyr Tyr Arg Ser Gln Glu Thr Ala Thr Gly Ser Lys Asp Tyr His
 2195 2200 2205
 Tyr Asp Leu Leu Gln Ala Gln Arg Tyr Gly Ile Glu Asp Gly Ile
 2210 2215 2220
 Asn Val Thr Lys Ser Phe Arg Glu Met Asn Tyr Asp Trp Ser Leu
 2225 2230 2235
 Tyr Glu Glu Asp Ser Leu Leu Ile Thr Gln Leu Glu Ile Leu Asn
 2240 2245 2250
 Asn Leu Leu Ile Ser Glu Asp Leu Pro Ala Ala Val Lys Asn Ile
 2255 2260 2265
 Met Ala Arg Thr Asp His Pro Glu Pro Ile Gln Leu Ala Tyr Asn
 2270 2275 2280
 Ser Tyr Glu Val Gln Val Pro Val Leu Phe Pro Lys Ile Arg Asn
 2285 2290 2295
 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 Ala 2365	Glu Asn Ala Leu Leu 2370
Val Ala Leu		
Phe Gly 2375	Tyr Val Gly Tyr Gln 2380	Ala Leu Ser Lys Arg 2385
His Val Pro		
Met Ile 2390	Thr Asp Ile Tyr Thr 2395	Ile Glu Asp Gln Arg 2400
Leu Glu Asp		
Thr Thr 2405	His Leu Gln Tyr Ala 2410	Pro Asn Ala Ile Lys 2415
Thr Asp Gly		
Thr Glu 2420	Thr Glu Leu Lys Glu 2425	Leu Ala Ser Gly Asp 2430
Val Glu Lys		
Ile Met 2435	Gly Ala Ile Ser Asp 2440	Tyr Ala Ala Gly Gly 2445
Leu Glu Phe		
Val Lys 2450	Ser Gln Ala Glu Lys 2455	Ile Lys Thr Ala Pro 2460
Leu Phe Lys		
Glu Asn 2465	Ala Glu Ala Ala Lys 2470	Gly Tyr Val Gln Lys 2475
Phe Ile Asp		
Ser Leu 2480	Ile Glu Asn Lys Glu 2485	Glu Ile Ile Arg Tyr 2490
Gly Leu Trp		
Gly Thr 2495	His Thr Ala Leu Tyr 2500	Lys Ser Ile Ala Ala 2505
Arg Leu Gly		
His Glu 2510	Thr Ala Phe Ala Thr 2515	Leu Val Leu Lys Trp 2520
Leu Ala Phe		
Gly Gly 2525	Glu Ser Val Ser Asp 2530	His Val Lys Gln Ala 2535
Ala Val Asp		
Leu Val 2540	Val Tyr Tyr Val Met 2545	Asn Lys Pro Ser Phe 2550
Pro Gly Asp		
Ser Glu 2555	Thr Gln Gln Glu Gly 2560	Arg Arg Phe Val Ala 2565
Ser Leu Phe		

Ile Ser Ala Leu Ala Thr Tyr Thr Tyr Lys Thr Trp Asn Tyr His
 2570 2575 2580
 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 3350	Glu Glu Lys Lys	Pro 3355	Arg Val Lys Asp	Thr 3360 Val Ile Arg
Glu His 3365	Asn Lys Trp Ile	Leu 3370	Lys Lys Ile Arg	Phe 3375 Gln Gly Asn
Leu Asn 3380	Thr Lys Lys Met	Leu 3385	Asn Pro Gly Lys	Leu 3390 Ser Glu Gln
Leu Asp 3395	Arg Glu Gly Arg	Lys 3400	Arg Asn Ile Tyr	Asn 3405 His Gln Ile
Gly Thr 3410	Ile Met Ser Ser	Ala 3415	Gly Ile Arg Leu	Glu 3420 Lys Leu Pro
Ile Val 3425	Arg Ala Gln Thr	Asp 3430	Thr Lys Thr Phe	His 3435 Glu Ala Ile
Arg Asp 3440	Lys Ile Asp Lys	Ser 3445	Glu Asn Arg Gln	Asn 3450 Pro Glu Leu
His Asn 3455	Lys Leu Leu Glu	Ile 3460	Phe His Thr Ile	Ala 3465 Gln Pro Thr
Leu Lys 3470	His Thr Tyr Gly	Glu 3475	Val Thr Trp Glu	Gln 3480 Leu Glu Ala
Gly Val 3485	Asn Arg Lys Gly	Ala 3490	Ala Gly Phe Leu	Glu 3495 Lys Lys Asn
Ile Gly 3500	Glu Val Leu Asp	Ser 3505	Glu Lys His Leu	Val 3510 Glu Gln Leu
Val Arg 3515	Asp Leu Lys Ala	Gly 3520	Arg Lys Ile Lys	Tyr 3525 Tyr Glu Thr
Ala Ile 3530	Pro Lys Asn Glu	Lys 3535	Arg Asp Val Ser	Asp 3540 Asp Trp Gln
Ala Gly 3545	Asp Leu Val Val	Glu 3550	Lys Arg Pro Arg	Val 3555 Ile Gln Tyr
Pro Glu 3560	Ala Lys Thr Arg	Leu 3565	Ala Ile Thr Lys	Val 3570 Met Tyr Asn
Trp Val 3575	Lys Gln Gln Pro	Val 3580	Val Ile Pro Gly	Tyr 3585 Glu Gly Lys
Thr Pro 3590	Leu Phe Asn Ile	Phe 3595	Asp Lys Val Arg	Lys 3600 Glu Trp Asp

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> Vírus da Diarreia Viral Bovina 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 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
 945 950 955 960
 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 G
 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 Leu Ile Ile Ala Arg Arg Asp Pro Thr Ile Val Pro Leu
 1160 1165 1170
 Ile Thr Ile Val Ala Ser Leu Arg Val Thr Gly Leu Thr Tyr Ser
 1175 1180 1185
 Pro Gly Val Asp Ala Ala Met Ala Val Ile Thr Ile Thr Leu Leu

1190		1195		1200
Met Val 1205	Ser Tyr Val Thr	Asp 1210	Tyr Phe Arg Tyr	Lys Arg Trp Leu 1215
Gln Cys 1220	Ile Leu Ser Leu	Val 1225	Ser Gly Val Phe	Leu Ile Arg Cys 1230
Leu Ile 1235	His Leu Gly Arg	Ile 1240	Glu Thr Pro Glu	Val Thr Ile Pro 1245
Asn Trp 1250	Arg Pro Leu Thr	Leu 1255	Ile Leu Phe Tyr	Leu Ile Ser Thr 1260
Thr Val 1265	Val Thr Met Trp	Lys 1270	Ile Asp Leu Ala	Gly Leu Leu Leu 1275
Gln Gly 1280	Val Pro Ile Leu	Leu 1285	Leu Ile Thr Thr	Leu Trp Ala Asp 1290
Phe Leu 1295	Thr Leu Ile Leu	Ile 1300	Leu Pro Thr Tyr	Glu Leu Val Lys 1305
Leu Tyr 1310	Tyr Leu Lys Thr	Ile 1315	Lys Thr Asp Ile	Glu Lys Ser Trp 1320
Leu Gly 1325	Gly Leu Asp Tyr	Lys 1330	Arg Val Asp Ser	Ile Tyr Asp Val 1335
Asp Glu 1340	Ser Gly Glu Gly	Val 1345	Tyr Leu Phe Pro	Ser Arg Gln Lys 1350
Ala Gln 1355	Lys Asn Phe Ser	Met 1360	Leu Leu Pro Leu	Val Arg Ala Thr 1365
Leu Ile 1370	Ser Cys Val Ser	Ser 1375	Lys Trp Gln Leu	Ile Tyr Met Ala 1380
Tyr Leu 1385	Ser Val Asp Phe	Met 1390	Tyr Tyr Met His	Arg Lys Val Ile 1395
Glu Glu 1400	Ile Ser Gly Gly	Thr 1405	Asn Met Ile Ser	Arg Ile Val Ala 1410
Ala Leu 1415	Ile Glu Leu Asn	Trp 1420	Ser Met Glu Glu	Glu Glu Ser Lys 1425
Gly Leu 1430	Lys Lys Phe Tyr	Leu 1435	Leu Ser Gly Arg	Leu Arg Asn Leu 1440
Ile Ile 1445	Lys His Lys Val	Arg 1450	Asn Glu Thr Val	Ala Gly 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 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 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 1970 Ser Gln Phe Leu Asp 1975 Ile Ala Gly Leu Lys 1980 Ile Pro Val
 Asp Glu 1985 Met Lys Gly Asn Met 1990 Leu Val Phe Val Pro 1995 Thr Arg Asn
 Met Ala 2000 Val Glu Val Ala Lys 2005 Lys Leu Lys Ala Lys 2010 Gly Tyr Asn
 Ser Gly 2015 Tyr Tyr Tyr Ser Gly 2020 Glu Asp Pro Ala Asn 2025 Leu Arg Val
 Val Thr 2030 Ser Gln Ser Pro Tyr 2035 Val Ile Val Ala Thr 2040 Asn Ala Ile
 Glu Ser 2045 Gly Val Thr Leu Pro 2050 Asp Leu Asp Thr Val 2055 Val Asp Thr
 Gly Leu 2060 Lys Cys Glu Lys Arg 2065 Val Arg Val Ser Ser 2070 Lys Ile Pro
 Phe Ile 2075 Val Thr Gly Leu Lys 2080 Arg Met Ala Val Thr 2085 Val Gly Glu
 Gln Ala 2090 Gln Arg Arg Gly Arg 2095 Val Gly Arg Val Lys 2100 Pro Gly Arg
 Tyr Tyr 2105 Arg Ser Gln Glu Thr 2110 Ala Thr Gly Ser Lys 2115 Asp Tyr His
 Tyr Asp 2120 Leu Leu Gln Ala Gln 2125 Arg Tyr Gly Ile Glu 2130 Asp Gly Ile
 Asn Val 2135 Thr Lys Ser Phe Arg 2140 Glu Met Asn Tyr Asp 2145 Trp Ser Leu
 Tyr Glu 2150 Glu Asp Ser Leu Leu 2155 Ile Thr Gln Leu Glu 2160 Ile Leu Asn
 Asn Leu 2165 Leu Ile Ser Glu Asp 2170 Leu Pro Ala Ala Val 2175 Lys Asn Ile
 Met Ala 2180 Arg Thr Asp His Pro 2185 Glu Pro Ile Gln Leu 2190 Ala Tyr Asn
 Ser Tyr 2195 Glu Val Gln Val Pro 2200 Val Leu Phe Pro Lys 2205 Ile Arg Asn
 Gly Glu 2210 Val Thr Asp Thr Tyr 2215 Glu Asn Tyr Ser Phe 2220 Leu Asn Ala
 Arg Lys Leu Gly Glu Asp Val Pro Val Tyr Ile Tyr Ala Thr Glu

2225		2230		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 2285	Tyr Val Gly Tyr	Gln 2290	Ala Leu Ser Lys	Arg His Val Pro 2295
Met Ile 2300	Thr Asp Ile Tyr	Thr 2305	Ile Glu Asp Gln	Arg Leu Glu Asp 2310
Thr Thr 2315	His Leu Gln Tyr	Ala 2320	Pro Asn Ala Ile	Lys Thr Glu Gly 2325
Thr Glu 2330	Thr Glu Leu Lys	Glu 2335	Leu Ala Ser Gly	Asp Val Glu Lys 2340
Ile Met 2345	Gly Ala Ile Ser	Asp 2350	Tyr Ala Ala Gly	Gly Leu Asp Phe 2355
Val Lys 2360	Ser Gln Ala Glu	Lys 2365	Ile Lys Thr Ala	Pro Leu Phe Lys 2370
Glu Asn 2375	Val Glu Ala Ala	Arg 2380	Gly Tyr Val Gln	Lys Leu Ile Asp 2385
Ser Leu 2390	Ile Glu Asp Lys	Asp 2395	Val Ile Ile Arg	Tyr Gly Leu Trp 2400
Gly Thr 2405	His Thr Ala Leu	Tyr 2410	Lys Ser Ile Ala	Ala Arg Leu Gly 2415
His Glu 2420	Thr Ala Phe Ala	Thr 2425	Leu Val Leu Lys	Trp Leu Ala Phe 2430
Gly Gly 2435	Glu Thr Val Ser	Asp 2440	His Ile Arg Gln	Ala Ala Val Asp 2445
Leu Val 2450	Val Tyr Tyr Val	Met 2455	Asn Lys Pro Ser	Phe Pro Gly Asp 2460
Thr Glu 2465	Thr Gln Gln Glu	Gly 2470	Arg Arg Phe Val	Ala Ser Leu Phe 2475
Ile Ser 2480	Ala Leu Ala Thr	Tyr 2485	Thr Tyr Lys Thr	Trp Asn Tyr Asn 2490

Asn 2495	Leu	Ser	Lys	Val	Val	Glu 2500	Pro	Ala	Leu	Ala	Tyr 2505	Leu	Pro	Tyr
Ala 2510	Thr	Ser	Ala	Leu	Lys	Met 2515	Phe	Thr	Pro	Thr	Arg 2520	Leu	Glu	Ser
Val 2525	Val	Ile	Leu	Ser	Thr	Thr 2530	Ile	Tyr	Lys	Thr	Tyr 2535	Leu	Ser	Ile
Arg 2540	Lys	Gly	Lys	Ser	Asp	Gly 2545	Leu	Leu	Gly	Thr	Gly 2550	Ile	Ser	Ala
Ala 2555	Met	Glu	Ile	Leu	Ser	Gln 2560	Asn	Pro	Val	Ser	Val 2565	Gly	Ile	Ser
Val 2570	Met	Leu	Gly	Val	Gly	Ala 2575	Ile	Ala	Ala	His	Asn 2580	Ala	Ile	Glu
Ser 2585	Ser	Glu	Gln	Lys	Arg	Thr 2590	Leu	Leu	Met	Lys	Val 2595	Phe	Val	Lys
Asn 2600	Phe	Leu	Asp	Gln	Ala	Ala 2605	Thr	Asp	Glu	Leu	Val 2610	Lys	Glu	Asn
Pro 2615	Glu	Lys	Ile	Ile	Met	Ala 2620	Leu	Phe	Glu	Ala	Val 2625	Gln	Thr	Ile
Gly 2630	Asn	Pro	Leu	Arg	Leu	Ile 2635	Tyr	His	Leu	Tyr	Gly 2640	Val	Tyr	Tyr
Lys 2645	Gly	Trp	Glu	Ala	Lys	Glu 2650	Leu	Ser	Glu	Arg	Thr 2655	Ala	Gly	Arg
Asn 2660	Leu	Phe	Thr	Leu	Ile	Met 2665	Phe	Glu	Ala	Phe	Glu 2670	Leu	Leu	Gly
Met 2675	Asp	Ser	Glu	Gly	Lys	Ile 2680	Arg	Asn	Leu	Ser	Gly 2685	Asn	Tyr	Ile
Leu 2690	Asp	Leu	Ile	His	Gly	Leu 2695	His	Lys	Gln	Ile	Asn 2700	Arg	Gly	Leu
Lys 2705	Lys	Ile	Val	Leu	Gly	Trp 2710	Ala	Pro	Ala	Pro	Phe 2715	Ser	Cys	Asp
Trp 2720	Thr	Pro	Ser	Asp	Glu	Arg 2725	Ile	Arg	Leu	Pro	Thr 2730	Asp	Ser	Tyr
Leu 2735	Arg	Val	Glu	Thr	Lys	Cys 2740	Pro	Cys	Gly	Tyr	Glu 2745	Met	Lys	Ala

Leu Lys Asn Val Ser Gly Lys Leu Thr Lys Val Glu Glu Ser Gly
 2750 2755 2760
 Pro Phe Leu Cys Arg Asn Arg Pro Gly Arg Gly Pro Val Asn Tyr
 2765 2770 2775
 Arg Val Thr Lys Tyr Tyr Asp Asp Asn Leu Arg Glu Ile Arg Pro
 2780 2785 2790
 Val Ala Lys Leu Glu Gly Gln Val Glu His Tyr Tyr Lys Gly Val
 2795 2800 2805
 Thr Ala Arg Ile Asp Tyr Ser Lys Gly Lys Thr Leu Leu Ala Thr
 2810 2815 2820
 Asp Lys Trp Glu Val Glu His Gly Thr Leu Thr Arg Leu Thr Lys
 2825 2830 2835
 Arg Tyr Thr Gly Val Gly Phe Arg Gly Ala Tyr Leu Gly Asp Glu
 2840 2845 2850
 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 Lys Tyr His Leu Ile Gly Asp Val Val Glu Val Lys Asp
 3140 3145 3150
 Gln Ala Lys Ala Leu Gly Ala Thr Asp Gln Thr Arg Ile Val Lys
 3155 3160 3165
 Glu Val Gly Ser Arg Thr Tyr Thr Met Lys Leu Ser Ser Trp Phe
 3170 3175 3180
 Leu Gln Ala Ser Ser Lys Gln Met Ser Leu Thr Pro Leu Phe Glu
 3185 3190 3195
 Glu Leu Leu Leu Arg Cys Pro Pro Ala Thr Lys Ser Asn Lys Gly
 3200 3205 3210
 His Met Ala Ser Ala Tyr Gln Leu Ala Gln Gly Asn Trp Glu Pro
 3215 3220 3225
 Leu Gly Cys Gly Val His Leu Gly Thr Val Pro Ala Arg Arg Val
 3230 3235 3240
 Lys Met His Pro Tyr Glu Ala Tyr Leu Lys Leu Lys Asp Leu Val
 3245 3250 3255
 Glu Glu Glu Glu Lys Lys Pro Arg Ile Arg Asp Thr Val Ile Arg

3260		3265		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 Glu Gln Leu 3420
Val Arg 3425	Asp Leu Lys Ala	Gly 3430	Arg Lys Ile Arg	Tyr Tyr Glu Thr 3435
Ala Ile 3440	Pro Lys Asn Glu	Lys 3445	Arg Asp Val Ser	Asp Asp Trp Gln 3450
Ala Gly 3455	Asp Leu Val Asp	Glu 3460	Lys Lys Pro Arg	Val Ile Gln Tyr 3465
Pro Glu 3470	Ala Lys Thr Arg	Leu 3475	Ala Ile Thr Lys	Val Met Tyr Asn 3480
Trp Val 3485	Lys Gln Gln Pro	Val 3490	Val Ile Pro Gly	Tyr Glu Gly Lys 3495
Thr Pro 3500	Leu Phe Asn Ile	Phe 3505	Asn Lys Val Arg	Lys Glu Trp Asp 3510
Leu Phe 3515	Asn Glu Pro Val	Ala 3520	Val Ser Phe Asp	Thr Lys Ala Trp 3525

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 3695	Arg Asp Thr Ala	Val 3700	Ile Leu Ser Lys	Met 3705	Ala Thr Arg
Leu Asp 3710	Ser Ser Gly Glu	Arg 3715	Gly Thr Thr Ala	Tyr 3720	Glu Lys Ala
Val Ala 3725	Phe Ser Phe Leu	Leu 3730	Met Tyr Ser Trp	Asn 3735	Pro Leu Val
Arg Arg 3740	Ile Cys Leu Leu	Val 3745	Leu Ser Gln Arg	Pro 3750	Glu Thr Ala
Pro Ser 3755	Thr Gln Thr Thr	Tyr 3760	Tyr Tyr Lys Gly	Asp 3765	Pro Ile Gly
Ala Tyr 3770	Lys Asp Val Ile	Gly 3775	Arg Asn Leu Ser	Glu 3780	Leu Lys Arg

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> ADN

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> iniciador de oligonucleótido sintético NADL4744

<400> 7

cgtggcttct tggtaggg 19

<210> 8

<211> 22

<212> ADN

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> iniciador de oligonucleótido sintético NADL5305

<400> 8

agcggatat tgtacaaagc ca 22

<210> 9

<211> 24

<212> ADN

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> iniciador de oligonucleótido sintético 53637u2

<400> 9

tgcacgatct gtgaaggga agaa 24

<210> 10

<211> 24

<212> ADN

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> iniciador de oligonucleótido sintético NADL4844

<400> 10

tgcactgtat gtgagggccg agag 24

DOCUMENTOS REFERIDOS NA DESCRIÇÃO

Esta lista de documentos referidos pelo autor do presente pedido de patente foi elaborada apenas para informação do leitor. Não é parte integrante do documento de patente europeia. Não obstante o cuidado na sua elaboração, o IEP não assume qualquer responsabilidade por eventuais erros ou omissões.

Documentos de patente referidos na descrição

- US 5703055 A [0038]
- US 5580859 A [0038]
- US 5589466 A [0038]
- WO 9835562 A [0038]
- US 2004024011 W [0052]
- US 60490834 B [0053]~

Literatura não relacionada com patentes referida na descrição

- **Malmquist.** *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1968, vol. 152, 763-768 [0004]
- **Ross et al.** *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1986, vol. 188, 618-619 [0004]
- **Liess et al.** *Dtsch. Tieraerztl. Wschr.*, 1974, vol. 81, 481-487 [0004]
- **Barber et al.** *Vet. Rec.*, 1985, vol. 117, 459-464 [0004]
- **Roth et al.** New Technology For Improved Vaccine Safety And Efficacy. *Veterinary Clinics North America: Food Animal Practice*, 2001, vol. 17 (3), 585-597 [0005]

- **Baroth et al.** Insertion of cellular NEDD8 coding sequences in a pestivirus. *Virology*, 2000, vol. 278 (2), 456-66 [0005]
- **Becher et al.** RNA recombination between persisting pestivirus and a vaccine strain: generation of cytopathogenic virus and induction of lethal disease. *Journal of Virology*, 2001, vol. 75 (14), 6256-64 [0005]
- **Glazenburg et al.** Genetic recombination of pseudorabies virus: evidence that homologous recombination between insert sequences is less frequent than between autologous sequences. *Archives of Virology*, 1995, vol. 140 (4), 671-85 [0005]
- **Altschul et al.** *J. Mol. Biol.*, 1990, vol. 215, 403-410 [0021]
- **Altschul et al.** *Nucleic Acids Res.*, 1997, vol. 25, 3389-3402 [0021]
- **Nagy; Bujarski.** *J. Virol.*, 1995, vol. 69, 131-140 [0022]
- **Corapi et al.** *J. Virol.*, vol. 63, 3934-3943 [0027]
- **Bolin et al.** *Am. J. Vet. Res.*, vol. 53, 2157-2163 [0027]
- **Pellerin et al.** *Virology*, 1994, vol. 203, 260-268 [0027]
- **Ridpath et al.** *Virology*, 1994, vol. 205, 66-74 [0027]
- **Carman et al.** *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1998, vol. 10, 27-35 [0027]
- **Corapi et al.** *Am. J. Vet. Res.*, 1990, vol. 51, 1388-1394 [0027]
- **Ridpath et al.** *Virology*, 1995, vol. 212, 259-262 [0028]

- **Ridpath; Neill.** *J. Virol*, 2000, vol. 74, 8771-8774
[0029]
- **De Moerlooze et al.** *J. Gen. Virol.*, 1993, vol. 74,
1433-1438 [0029]
- **Ramsay et al.** *Immunol. Cell Biol.*, 1997, vol. 75, 360-
363 [0038]
- **Davis.** *Cur. Opinion Biotech.*, 1997, vol. 8, 635-640
[0038]
- **Manickan et al.** *Critical Rev. Immunol.*, 1997, vol. 17,
139-154 [0038]
- **Robinson.** *Vaccine*, 1997, vol. 15 (8), 785-787 [0038]
- **Robinson et al.** *AIDS Res. Hum. Retr.*, 1996, vol. 12
(5), 455-457 [0038]
- **Lal; Bennett.** *Critical Rev. Immunol.*, 1998, vol. 18,
449-484 [0038]
- **Vogel; Sarver.** *Clin. Microbiol. Rev.*, 1995, vol. 8
(3), 406-410 [0038]

REIVINDICAÇÕES

1. Uma composição de vacina que compreende pelo menos dois vírus mutantes vivos da mesma família, em que cada vírus contém uma mutação no genoma viral e as mutações nos vírus residem no mesmo sítio genómico de modo que os vírus mutantes não se podem recombinar entre si para eliminar as mutações e em que dois dos vírus mutantes vivos consistem em Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) mutantes.
2. A composição de vacina de acordo com a reivindicação 1, em que os dois vírus vivos mutantes consistem num Vírus da Diarreia Viral Bovina Tipo 1 (BVDV-1) mutante e um Vírus da Diarreia Viral Bovina Tipo 2 (BVDV-2) mutante.
3. A composição de vacina de acordo com a reivindicação 2, em que os dois vírus vivos mutantes consistem num BVDV-1 citopático (cp) e um BVDV-2 cp e ambos estão atenuados.
4. A composição de vacina de acordo com a reivindicação 3, em que o BVDV-1 cp e o BVDV-2 cp compreendem ambos uma mutação na região NS2-3 que resulta num biótipo citopático.
5. A composição de vacina de acordo com a reivindicação 4, em que o BVDV-1 cp é BVDV-1 NADL e o BVDV-2 cp é BVDV-2 53637.
6. A composição de vacina de acordo com a reivindicação 2, que compreende ainda pelo menos um de herpesvírus bovino-1, vírus respiratório sincicial bovino, vírus parainfluenza 3, *Campylobacter fetus*, *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira hardjo*, *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *Leptospira pomona* ou *Mannhemia haemolytica*.

7. A composição de vacina de acordo com a reivindicação 1, que compreende ainda um veículo veterinariamente aceitável.
8. Um método de preparação de uma vacina viral segura que compreende seleccionar ou construir dois vírus mutantes vivos da mesma família, em que cada vírus contém uma mutação e as mutações nos vírus residem no mesmo sítio genómico de modo que os vírus mutantes não podem sofrer recombinação homóloga para eliminar as mutações e em que os vírus consistem em BVDV mutante.
9. O método de acordo com a reivindicação 8, em que a dita mutação é seleccionada de uma deleção, uma inserção, uma substituição ou uma combinação dos mesmos.
10. O método de acordo com a reivindicação 8, em que a dita mutação confere um fenótipo seleccionado da atenuação de virulência, alteração do tropismo ou biótipo celular, alteração do tropismo de espécie, expressão de uma cassete génica exógena ou uma combinação dos mesmos.
11. O método de acordo com a reivindicação 8, em que os dois vírus vivos mutantes consistem num BVDV-1 mutante e num BVDV-2 mutante.

Lisboa, 18/01/2011

Figura 1

