



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2009년07월22일
(11) 등록번호 10-0908798
(24) 등록일자 2009년07월15일

(51) Int. Cl.

A61K 39/15 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2006-7026800

(22) 출원일자 2005년05월18일

심사청구일자 2006년12월19일

(85) 번역문제출일자 2006년12월19일

(65) 공개번호 10-2007-0012862

(43) 공개일자 2007년01월29일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2005/005377

(87) 국제공개번호 WO 2005/111201

국제공개일자 2005년11월24일

(30) 우선권주장

10 2004 025 452.4 2004년05월19일 독일(DE)

(56) 선행기술조사문헌

WO 03/023041 A

전체 청구항 수 : 총 35 항

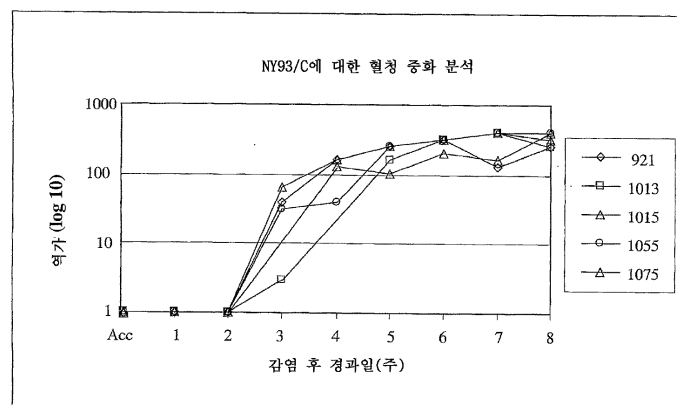
심사관 : 박정민

(54) 약독화 페스티바이러스를 포함하는 백신

(57) 요약

본 발명은 당단백질 E^{rns}의 암호화 서열에 하나 이상의 돌연변이가 존재하고 N^{pro}의 암호화 서열에 하나 이상의 또 다른 돌연변이가 존재하여, 바람직하게는 당단백질 E^{rns}에 존재하는 RNase 활성의 불활성화 및 N^{pro}에 존재하는 면역조절 활성(가설)의 불활성화가 복합 유도된 약독화 페스티바이러스, 특히 약독화 BVDV에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 BVDV와 같은 페스티바이러스의 약독화 방법, 상기 페스티바이러스, 특히 BVDV를 암호화하는 핵산, 상기 약독화 페스티바이러스, 특히 본 발명의 BVDV를 포함하는 조성물 및 백신에 관한 것이다.

대표도



(72) 발명자

페처 크리스티안

독일 48163 윈스터 트레쇼브슈트라쎄 31

폰 프레이부르크 마르티나

독일 74076 하일브론 쉬크하르트슈트라쎄 15

특허청구의 범위

청구항 1

당단백질 E^{rns} 에 존재하는 RNase 활성이 상기 당단백질의 하나 이상의 아미노산의 결실, 삽입 돌연변이 및 치환 돌연변이로 이루어진 그룹으로부터 선택된 돌연변이에 의해 불활성화되고, N^{pro} 에 존재하는 N^{pro} 활성이 상기 N^{pro} 의 하나 이상의 아미노산의 결실, 삽입 돌연변이 및 치환 돌연변이로 이루어진 그룹으로부터 선택된 돌연변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스(pestivirus).

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서, RNase 활성이 당단백질의 하나 이상의 아미노산의 결실에 의해 불활성화되고 N^{pro} 활성이 N^{pro} 의 하나 이상의 아미노산의 결실에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스.

청구항 4

제1항에 있어서, 페스티바이러스가 소 바이러스성 설사병 바이러스(BVDV)인 약독화 페스티바이러스.

청구항 5

제4항에 있어서, RNase 활성이 위치 298 내지 310 또는 위치 341 내지 360 또는 위치 298 내지 310과 위치 341 내지 360의 아미노산의 결실, 삽입 돌연변이 및 치환 돌연변이로 이루어진 그룹으로부터 선택된 돌연변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스.

청구항 6

제4항 또는 제5항에 있어서, RNase 활성이 위치 349의 히스티딘의 결실 또는 치환에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스.

청구항 7

제1항, 제4항 또는 제5항 중 어느 한 항에 있어서, RNase 활성이 보존성 E^{rns} 서열 SLHGIWPEKICTG, 보존성 E^{rns} 서열 LQRHEWNKHGWCNWFHIEPW 또는 이들 둘다에 위치하는 결실, 삽입 돌연변이 및 치환 돌연변이로 이루어진 그룹으로부터 선택된 돌연변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스.

청구항 8

제1항, 제4항 또는 제5항 중 어느 한 항에 있어서, RNase 활성이 보존성 E^{rns} 서열 SLHGIWPEKIC, 보존성 E^{rns} 서열 RHEWNKHGWCNW 또는 이들 둘다에 위치하는 결실, 삽입 돌연변이 및 치환 돌연변이로 이루어진 그룹으로부터 선택된 돌연변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스.

청구항 9

제1항, 제4항 또는 제5항 중 어느 한 항에 있어서, RNase 활성이 보존성 E^{rns} 서열 SLHGIWPEKIC, 보존성 E^{rns} 서열 RHEWNKHGWCNW 또는 이들 둘다에 위치하는 결실, 삽입 돌연변이 및 치환 돌연변이로 이루어진 그룹으로부터 선택된 2개의 돌연변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스.

청구항 10

제1항, 제4항 또는 제5항 중 어느 한 항에 있어서, RNase 활성이 보존성 E^{rns} 서열 SLHGIWPEKIC 또는 RHEWNKHGWCNW에 위치하는 결실, 삽입 돌연변이 및 치환 돌연변이로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나의 돌연

변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스.

청구항 11

제1항에 있어서, N^{pro} 활성이 다음 식으로 표시되는 암호화된 다단백질을 유도하는 돌연변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스:

$$[N^{pro}]_x-[PS]_y-[C \text{ 말단}]$$

이 식에서, $[N^{pro}]$ 는 상기 다단백질의 N^{pro} 부분을 의미하고, 여기서 "x"는 다단백질에 존재하는 N^{pro} 의 아미노산 수를 의미하며;

[PS]는 유비퀴틴, 미소관 결합 단백질의 경쇄 3(LC3; light chain 3 of microtubule-associated protein), 소형 유비퀴틴-관련 변형인자-1(SUMO-1; small ubiquitin-related modifier-1), 신경 전구세포에서 발현되는 발달적으로 하향 조절되는 단백질 8(NEDD8; neural precursor cell-expressed developmentally down-regulated protein 8), 16kDa의 골지-연관 ATPase 인핸서(GATE-16; Golgi-associated ATPase Enhancer of 16 kDa), 감마-아미노부티르산 수용체 A형 수용체 연관 단백질(GABA(A)RAP; gamma-aminobutyric acid receptor type A receptor associated protein), 인테인, 피코나바이러스 3C, 카리도바이러스 2A, 또는 토끼 출혈병 바이러스의 p15로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 프로세싱 시그널을 의미하고;

"y"는 0일 수 있는데, 이는 프로세싱 시그널이 존재하지 않음을 의미하고, 또는 "y"는 1일 수 있는데, 이는 하나의 프로세싱 시그널이 존재하는 것을 의미하며;

[C 말단]은 N^{pro} 를 제외한, 캡시드(C) 단백질 및 카복시말단 NS5B를 포함하는 상기 바이러스 다단백질에 존재하는 임의의 다른 단백질을 포함하는, 전체 바이러스 다단백질을 의미하고;

"y"가 0인 경우, "x"는 0 내지 12(N^{pro} 특정 아미노산이 존재하지 않거나 N^{pro} 의 1 내지 12개 아미노산이 존재하는 것을 의미한다)이고;

"y"가 1인 경우, "x"는 0 내지 168(N^{pro} 특정 아미노산이 존재하지 않거나 N^{pro} 의 1 내지 전체 168개 아미노산이 존재하는 것을 의미한다)이다.

청구항 12

제11항에 있어서, N^{pro} 활성이 다음 식으로 표시되는 암호화된 다단백질을 유도하는 돌연변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스:

$$[N^{pro}]_1-[PS]_0-[C \text{ 말단}]$$

이 식에서, $[N^{pro}]$, [PS] 및 [C 말단]에 대한 각 정의는 제11항에 정의된 바와 같다.

청구항 13

제11항에 있어서, N^{pro} 활성이 다음 식으로 표시되는 암호화된 다단백질을 유도하는 돌연변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스:

$$[N^{pro}]_3-[PS]_0-[C \text{ 말단}]$$

이 식에서, $[N^{pro}]$, [PS] 및 [C 말단]에 대한 각 정의는 제11항에 정의된 바와 같다.

청구항 14

제11항에 있어서, N^{pro} 활성이 다음 식으로 표시되는 암호화된 다단백질을 유도하는 돌연변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스:



이 식에서, $[N^{pro}]$, $[PS]$ 및 $[C \text{ 말단}]$ 에 대한 각 정의는 제11항에 정의된 바와 같다.

청구항 15

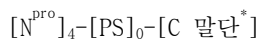
제11항에 있어서, N^{pro} 활성이 다음 식으로 표시되는 암호화된 다단백질을 유도하는 돌연변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스:



이 식에서, $[N^{pro}]$, $[PS]$ 및 $[C \text{ 말단}]$ 에 대한 각 정의는 제11항에 정의된 바와 같다.

청구항 16

제11항에 있어서, N^{pro} 활성이 다음 식으로 표시되는 암호화된 다단백질을 유도하는 돌연변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스:



이 식에서, $[C \text{ 말단}^*]$ 은 C 단백질에서 2번 위치의 아미노산이 D에서 N으로 교환된 $[C \text{ 말단}]$ 이고, 이때 $[C \text{ 말단}]$ 은 제11항에서 정의된 바와 같고,

$[N^{pro}]$ 는 및 $[PS]$ 에 대한 각 정의는 제11항에 정의된 바와 같다.

청구항 17

제11항에 있어서, N^{pro} 활성이 다음 식으로 표시되는 암호화된 다단백질을 유도하는 돌연변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스:

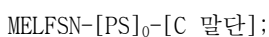
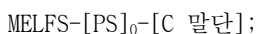
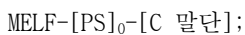
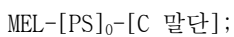
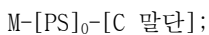


이 식에서, PS는 유비퀴틴 또는 LC3으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 것이고,

$[N^{pro}]$, $[C \text{ 말단}]$ 및 x에 대한 각 정의는 제11항에 정의된 바와 같다.

청구항 18

제11항에 있어서, 바이러스가 BVDV이고, N^{pro} 활성이 다음 식으로 표시되는 암호화된 다단백질을 유도하는 돌연변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스:



MELFSNELLY-[PS]₀-[C 말단];

MELFSNELLYK-[PS]₀-[C 말단];

MELFSNELLYKT-[PS]₀-[C 말단];

이 식들에서, [PS] 및 [C 말단]에 대한 각 정의는 제11항에 정의된 바와 같다.

청구항 19

제11항에 있어서, 바이러스가 BVDV이고, N^{pro} 활성이 다음 식으로 표시되는 암호화된 다단백질을 유도하는 돌연변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스:

MELI-[PS]₀-[C 말단];

MELIS-[PS]₀-[C 말단];

MELISN-[PS]₀-[C 말단];

MELISNE-[PS]₀-[C 말단];

MELISNEL-[PS]₀-[C 말단];

MELISNELL-[PS]₀-[C 말단];

MELISNELLY-[PS]₀-[C 말단];

MELISNELLYK-[PS]₀-[C 말단];

MELISNELLYKT-[PS]₀-[C 말단];

이 식들에서, [PS] 및 [C 말단]에 대한 각 정의는 제11항에 정의된 바와 같다.

청구항 20

제11항에 있어서, 바이러스가 BVDV이고, N^{pro} 활성이 다음 식으로 표시되는 암호화된 다단백질을 유도하는 돌연변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스:

MELIT-[PS]₀-[C 말단];

MELITN-[PS]₀-[C 말단];

MELITNE-[PS]₀-[C 말단];

MELITNEL-[PS]₀-[C 말단];

MELITNELL-[PS]₀-[C 말단];

MELITNELLY-[PS]₀-[C 말단];

MELITNELLYK-[PS]₀-[C 말단];

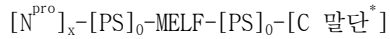
MELITNELLYKT-[PS]₀-[C 말단];

이 식들에서, [PS] 및 [C 말단]에 대한 각 정의는 제11항에 정의된 바와 같다.

청구항 21

제11항에 있어서, 바이러스가 BVDV이고, N^{pro} 활성이 다음 식으로 표시되는 암호화된 다단백질을 유도하는 돌연

변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스:



이 식에서, $[C \text{ 말단}^*]$ 은 C 단백질의 2번 위치에 아미노산이 D에서 N으로 교환된 $[C \text{ 말단}]$ 이고, 이때 $[C \text{ 말단}]$ 은 제11항에서 정의된 바와 같고,

$[N^{pro}]$, $[PS]$ 및 x 에 대한 각 정의는 제11항에서 정의한 바와 같다.

청구항 22

제11항에 있어서, N^{pro} 활성이 다음 식으로 표시되는 암호화된 다단백질을 유도하는 돌연변이에 의해 불활성화된 약독화 페스티바이러스:



이 식에서, PS 는 유비퀴틴 또는 $LC3$ 이고,

$[N^{pro}]$ 및 $[C \text{ 말단}]$ 에 대한 각 정의는 제11항에서 정의한 바와 같다.

청구항 23

제18항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, $[PS]_0$ 가 $[PS]_1$ 로 치환되고, 이러한 PS 가 유비퀴틴, 미소관 결합 단백질의 경쇄 3($LC3$; light chain 3 of microtubule-associated protein), 소형 유비퀴틴-관련 변형인자-1($SUMO-1$; small ubiquitin-related modifier-1), 신경 전구세포에서 발현되는 발달적으로 하향 조절되는 단백질 8($NEDD8$; neural precursor cell-expressed developmentally down-regulated protein 8), 16kDa의 골지-연관 ATPase 인핸서($GATE-16$; Golgi-associated ATPase Enhancer of 16 kDa), 감마-아미노부티르산 수용체 A형 수용체 연관 단백질($GABA(A)RAP$; gamma-aminobutyric acid receptor type A receptor associated protein), 인테인, 피코나바이러스 3C, 카리도바이러스 2A 및 토끼 출혈병 바이러스의 p15로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 약독화 페스티바이러스.

청구항 24

제4항, 제5항 또는 제18항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, BVDV 타입 1 또는 BVDV 타입 2로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 BVDV.

청구항 25

제4항, 제5항 또는 제18항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 8에 상응하는 BVDV.

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

제1항, 제4항, 제5항 또는 제11항 내지 제22항 중 어느 한 항에 기재된 바이러스를 포함하는, 페스티바이러스

감염의 예방 및 치료용 백신 조성물.

청구항 31

제30항에 있어서, 페스티바이러스가 소 바이러스성 설사병 바이러스(BVDV)인 백신 조성물.

청구항 32

제4항, 제5항 또는 제18항 내지 제21항 중 어느 한 항에 기재된 생 약독화 BVDV를 암호화하는 핵산을 함유하는 핵산 분자.

청구항 33

제32항에 있어서, 뉴클레오타이드 분자가 DNA인 핵산 분자.

청구항 34

제33항에 있어서, 뉴클레오타이드 분자가 RNA인 핵산 분자.

청구항 35

당단백질 E^{rns}에 존재하는 RNase 활성을 상기 당단백질의 하나 이상의 아미노산의 결실, 삽입 돌연변이 및 치환 돌연변이로 이루어진 그룹으로부터 선택된 돌연변이에 의해 불활성화시키고, N^{pro}에 존재하는 N^{pro} 활성을 상기 N^{pro}의 하나 이상의 아미노산의 결실, 삽입 돌연변이 및 치환 돌연변이로 이루어진 그룹으로부터 선택된 돌연변이에 의해 불활성화시킴을 특징으로 하는, 페스티바이러스(pestivirus)의 약독화 방법.

청구항 36

제35항에 있어서,

- 야생형 페스티바이러스 뉴클레오타이드 서열을 cDNA로 역전사하는 단계;
- 상기 cDNA를 클로닝하는 단계;
- 결실, 삽입 돌연변이, 치환 돌연변이 및 이들의 조합으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는, 당단백질 E^{rns} 및 프로테아제 N^{pro}를 암호화하는 암호화 서열에 위치한 돌연변이를 상기 cDNA 중에 도입시키는 단계; 및
- 상기 cDNA를, 시험관내에서 또는 적당한 세포의 감염 시 페스티바이러스 cDNA를 RNA로 전사 유도할 수 있는 플라스미드 또는 DNA 바이러스 중에 혼입시키는 단계를 포함하는 약독화 방법.

청구항 37

제35항 또는 제36항에 있어서, 페스티바이러스가 BVDV인 약독화 방법.

청구항 38

제4항, 제5항 또는 제18항 내지 제21항 중 어느 한 항에 기재된 BVDV를, BVDV 원인 질병의 치료를 필요로 하는 사람을 제외한 동물에게 투여하고, 바이러스혈증, 백혈구감소증, 발열 및 설사로 이루어진 그룹으로부터 선택된 BVDV 감염 증상의 감소를 모니터링을 포함하는, 상기 BVDV 원인 질병의 치료방법.

청구항 39

제30항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 추가로 포함하는 백신 조성물.

청구항 40

제38항에 있어서, 상기 BVDV가 10^2 내지 10^8 TCID₅₀의 투여량으로 투여되는 방법.

명세서

기술 분야

- <1> 본 발명은 동물 보건 분야, 구체적으로 소 바이러스성 설사병 바이러스(BVDV)와 같은 약독화 페스티바이러스에 관한 것이다.

배경 기술

- <2> 페스티바이러스는 전세계적으로 많은 국가들에서 경제적으로 중요한 동물 질병의 원인체이다. 현재 공지된 바이러스 분리체는 플라비비리데(Flaviviridae) 과에서 함께 하나의 속을 구성하는 4가지 다른 종으로 분류되고 있다.
- <3> I/II 소 바이러스성 설사병 바이러스(BVDV) 타입 1(BVDV-1 및 타입-2(BVDV-2)는 소에 소 바이러스성 설사병(BVD)과 점막병(MD)을 일으킨다(Baker, 1987; Moennig and Plagemann, 1992; Thiel et al., 1996). BVDV가 2종으로 나뉘는 기준은 제한된 교차 중화성 항체 반응(Ridpath et al. 1994)으로부터 분명히 나타나는 게놈 서열 수준의 유의적인 차이이다(Heinz et al., 2000에 정리되어 있다)
- <4> III 통상적인 돼지 열병 바이러스(CSFV)는 종래 돼지 콜레라 바이러스로 불리던 것으로, 통상적인 돼지 열병(CSF) 또는 돼지 콜레라(HC)에 관여한다(Moennig and Plagemann, 1992; Thiel et al., 1996).
- <5> IV 경계병(Border disease) 바이러스(BDV)는 대체로 양에서 발견되고 경계병(BD)을 일으킨다. 새끼양이 BD로 자궁내 감염되면, 허약하고 여러 이상들, 특히 가장 잘 알려진 "헤어리 셰이커(hairy shaker)" 증후군을 나타내는 영구 감염된 새끼양이 태어날 수 있다(Moennig and Plagemann, 1992; Thiel et al., 1996).
- <6> 페스티바이러스는 5' 캡과 3' 폴리(A) 서열이 결실되고 양성(+) 극성을 띤 일본뇌 RNA 게놈을 보유한 작은 외피 바이러스이다. 이러한 바이러스 게놈은 아미노산 약 4000개의 다단백질(polyprotein)을 암호화하여 세포 프로테아제 및 바이러스 프로테아제가 관여하는 해독 동시 및 해독 후 프로세싱을 통해 최종 절단 산물을 생성한다. 바이러스 단백질은 다단백질에 $\text{NH}_2\text{-N}^{\text{pro}}\text{-C-E}^{\text{rns}}\text{-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B-COOH}$ 의 순으로 배열되어 있다(Lindenbach and Rice, 2001). 단백질 C(코어 또는 캡시드 단백질) 및 당단백질 E^{rns} , E1 및 E2는 CSFV에서 입증된 바와 같이(Thiel et al., 1991), 페스티바이러스 비리온의 구조 성분이다. 이들은 BVDV에도 존재한다. E2는 항체 중화의 표적인 것으로 밝혀져 있고, 이보다는 드물게 E^{rns} 도 표적으로 밝혀져 있다(Donis et al., 1998; Paton et al., 1992; van Rijn et al., 1993; Weiland et al., 1990, 1992). E^{rns} 는 전형적인 막 앵커(anchor)가 없어서 감염된 세포에서 상당한 양으로 분비된다. 이 단백질은 RNase 활성이 있는 것으로 보고되었다(Hulst et al., 1994; Schneider et al., 1993; Windisch et al., 1996). 하지만, 바이러스 생활주기에서 이 효소 활성의 기능은 현재 알려지지 않았다. 이 효소 활성은 페스티바이러스 E^{rns} 와 다른 식물 및 진균류 기원의 공지된 RNase 사이에 보존성 아미노산 스트레치(stretch) 2개의 존재에 의해 좌우된다. 이러한 보존성 서열은 둘 다 히스티딘 잔기를 함유한다(Schneider et al., 1993). CSFV 백신 종의 E^{rns} 단백질에서 상기 각 잔기를 리신으로 교환한 결과 RNase 활성이 파괴되었다(Hulst et al., 1998). CSFV 백신 종의 게놈에 상기 돌연변이의 도입은 바이러스 생존력 또는 증식성에는 영향을 미치지 않았지만 세포 병원성 표현형을 나타내는 바이러스로 만들었다(Hulst et al., 1998). 이와 마찬가지로, 마이어스(Meyers) 등은 독성 CSFV 종 Alfort/Tubingen의 RNase 음성 변이체는 완전 생존성을 보여주었다. 하지만, 이들 바이러스 돌연변이체는 각각 어떠한 세포 병원성 표현형도 나타내지 않았다(Meyers et al., 1999).
- <7> N^{pro} 는 페스티바이러스 RNA에 존재하는 긴 개방 관독 프레임(open reading frame)에 의해 암호화되는 첫 단백질이다. N^{pro} 는 프로테아제 활성이 있고 아마도 해독 중에 이미 초기 다단백질(Stark et al., 1993; Wiskerchen et al., 1991) 자체를 절단하는 비구조성 단백질이다. N^{pro} 는 바이러스 복제(Tratschin et al., 1998)에 필수 요소가 아닌 시스테인 프로테아제(Rumenapf et al., 1998)이다. 최근, N^{pro} 는 감염 숙주 내의 면역계를 조절한다는 가설을 세울 수 있을 만큼 세포의 항바이러스 방어를 다소 방해하는 것으로 밝혀졌다(Ruggli et al., 2003). 메이어와 동료들은 CSFV 약독화 징후가 N^{pro} 유전자 결실의 결과라고 발표했다(Mayer et al., 2004).
- <8> 현재, BVDV 감염의 예방 및 치료에 사용되는 BVDV 백신은 여전히 단점을 갖고 있다(Oirschot et al., 1999). 통상적인 BVDV-1에 대한 백신은 BVDV-2 감염에 대한 부분적인 보호 효과만을 제공하여, 백신접종된 어미는 독성

BVDV-2로 영구 감염된 송아지를 출산할 수 있다(Bolin et al., 1991, Ridpath et al., 1994). 이러한 문제는 아마도 바이러스 중화의 주요 항원인 당단백질 E2에서 가장 현저한, 타입 1과 타입 2 종 사이의 상당한 항원 다양성 때문인 것으로 생각된다(Tijssen et al., 1996). 타입 1 종에 대한 대부분의 모노클로날 항체는 타입 2 바이러스에 결합하지 못한다(Ridpath et al., 1994).

- <9> 이종 발현 시스템에서 발현된 바이러스 단백질이나 약독화 바이러스 또는 사멸 바이러스를 포함하는 백신은 CSFV 및 BVDV에 대해 생산되고, 현재 사용되고 있다. 사멸 백신(불활성화된 전체 바이러스) 또는 서브유닛 백신(통상적으로 정제되거나 이종 발현된 바이러스 단백질)은 보강제(adjuvant)의 존재하에서도 완전한 방어 면역반응을 제공하는 효능 면에서 대부분 생 백신보다 떨어진다.
- <10> 생 백신으로서 사용된 BVDV 약독화에 대한 구조적 기반은 알려진 바 없다. 이러한 백신은 약독화되었더라도 대부분 안전성 문제를 안고 있다. 백신 바이러스는 암소와 같은 임신한 동물의 태반을 통과하여 태아에게 임상 증상을 나타내게 하고(내거나) 영구 감염된 송아지를 유도할 수 있다. 따라서, 상기 약독화 생 백신은 임신한 암소를 포함한 사육 소들에게는 사용할 수 없다. 임신한 암소는 태아 보호를 위해 백신접종된 소로부터 격리시켜야 하고, 백신접종도 받지 않아야 한다. 또한, 약독화 생 BVDV의 복귀돌연변이주는 동물에게 심각한 위험이 된다. 약독화가 통상적인 수회 계대접종을 통해 획득된 통상적으로 유도된 약독화 바이러스의 경우에도 분자 기원 및 약독화의 유전자적 안정성은 알려진 바 없으며, 독성인 야생형으로의 복귀도 예측할 수 없다.
- <11> 페스티바이러스 감염의 예방 및 치료가 효과적이고 안전하면서 검출가능한 것이 중요하기 때문에, 면역 유도의 잠재력이 높을 뿐만 아니라 병원성 페스티바이러스, 예컨대 BVDV와 구별될 수 있는 약독화의 한정된 기반을 보유한 개량된 약독화 페스티바이러스, 예컨대 BVDV, 뿐만 아니라 이러한 약독화 페스티바이러스, 예컨대 BVDV를 포함하는 조성물 및 백신이 절실히 요구된다.
- <12> 따라서, 본 발명의 근원적인 기술적 문제는 개량된 약독화 페스티바이러스, 바람직하게는 약독화 생백신으로 사용할 수 있는 약독화 BVDV를 제공하는 것이다. 이러한 개량된 약독화 페스티바이러스, 바람직하게는 BVDV는 구체적으로 (i) 스스로 태반을 통과하지 않아야 하고, (ii) 태반을 통한 바이러스 전파를 예방하고, 이에 따라 영구 감염된 숙주, 예컨대 BVDV 감염인 경우의 송아지의 출산이나 태아 낙태와 같은 임신 중의 문제를 예방하는 면역을 유도해야 한다.

발명의 상세한 설명

- <31> **상세한 설명에 사용된 용어의 정의:**
- <32> 본 발명의 구현에 앞서서, 본 발명 및 첨부되는 청구의 범위에 사용된 단수적 표현은 다른 특별한 언급이 없는 한 복수적 의미를 포함한다. 따라서, 예를 들어 "BVDV"란 표현은 그 BVDV의 복수도 포함하며, "세포"란 표현은 하나 또는 그 이상의 세포 및 당해 기술분야의 숙련자(이하, 당업자)에게 공지된 그 등가물을 의미한다. 본 명세서에 사용된 모든 기술적, 과학적 용어는 다른 언급이 없는 한 본 발명이 속하는 당업자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미를 갖는 것이다. 본 명세서에 기술된 바와 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 재료가 본 발명의 실시 또는 검사에 사용될 수 있지만, 바람직한 방법, 장치 및 재료는 다음에 설명되는 바와 같다. 본 명세서에 언급된 모든 공개 문헌들은 본 발명과 관련하여 사용되어도 좋은 공개 문헌들에 보고된 바와 같은 세포부, 벡터 및 방법론을 설명하고 게시하기 위하여 참고 인용한 것이다. 따라서, 종래 발명으로 인해 본 발명이 신규성을 부여할 자격이 없는 것임을 인정하는 것으로 간주되어서는 아니 된다.
- <33> 본 명세서에 사용된 "페스티바이러스"란 용어는 플라비비리데 과에 속하는 페스티바이러스 속의 모든 구성원, 예컨대 BVDV, CSFV 및 BVD를 의미한다.
- <34> 본 명세서에 사용된 "CSFV"란 용어는 플라비비리데 과에 속하는 페스티바이러스 속 중 통상적인 돼지 열병 바이러스(CSFV) 중에 속하는 모든 바이러스를 의미한다.
- <35> 본 명세서에 사용되는 "BVDV"란 용어는 플라비비리데 과에 속하는 페스티바이러스 속의 소 바이러스성 설사병 바이러스(BVDV) 타입 1(BVDV-1) 및 BVDV 타입 2(BVDV-2) 중에 속하는 모든 바이러스를 의미한다(Heintz et al., 2000). 더욱 통상적인 BVDV 타입 1 종 및 더 최근에 식별된 BVDV 타입 2 종은 뉴클레오타이드 서열과 아미노산 서열에 다소 제한적이지만 독특한 차이를 나타낸다.
- <36> 본 명세서에서 설명된 바와 같이 "N^{pro}"란 용어는 바이러스의 개방 관독 프레임에 의해 암호화된 제1 단백질을 의미하며, 합성된 다단백질의 나머지에서 스스로 절단된다(Stark, et al., J.Virol. 67: 7088-7093(1993);

Wiskerchen, et al., Virol. 65: 4508-4514(1991)). 이 용어는 상황에 따라서 암호화 뉴클레오타이드 서열의 돌연변이 후의 나머지 "N^{pro}" 아미노산을 의미하거나 또는 상기 단백질의 암호화 뉴클레오타이드 서열 자체를 의미하기도 한다. "N^{pro}"에 존재하는 프로테아제 활성"은 상기 "N^{pro}"의 폴리펩타이드 절단 활성을 의미한다.

<37> 본 명세서에 사용된 "E^{rns}"는 페스티바이러스 비리온의 구조 성분을 나타내는 당단백질 E^{rns}를 의미한다(Thiel et al., 1991). E^{rns}는 전형적인 막 앵커가 없어서 감염된 세포로부터 상당량 분비되며, 이 단백질은 RNase 활성을 나타내는 것으로 보고되어 있다(Hulst et al., 1994; Schneider et al., 1993; Windisch et al., 1996). 당단백질 E0란 용어가 공개 문헌들에서 당단백질 E^{rns}와 동의어로 사용되기도 한다는 점에 주의한다. 이 용어는 상황에 따라 암호화 뉴클레오타이드 서열의 돌연변이 후의 돌연변이된 "E^{rns}" 단백질을 의미하거나 또는 그 단백질의 암호화 뉴클레오타이드 서열 자체를 의미하기도 한다. "당단백질 E^{rns}에 존재하는 RNase 활성"은 상기 당단백질의 RNA 절단 활성, 즉 RNA를 가수분해하는 당단백질 E^{rns}의 능력을 의미한다. "상기 당단백질에 존재하는 RNase 활성의 불활성화"란 용어는 상기 당단백질 E^{rns}의 미변형된 야생형과 비교했을 때 RNA를 가수분해하지 못하는 변형된 당단백질 E^{rns}의 무능력 또는 성능 감소를 의미한다.

<38> 약독화: 본 명세서에 사용된 "약독화 페스티바이러스 또는 BVDV 입자"는 본 명세서에 기술된 방법에 따라 약독화된 바이러스 입자가 약독화된 본 발명에 따른 약독화 페스티바이러스 또는 BVDV 입자의 독성과 야생형 페스티바이러스 또는 상기 약독화 페스티바이러스 또는 BVDV 입자가 유래된 BVDV 분리체의 독성 사이에 주요 임상 변수들, 예컨대 BVDV이 경우에 동일 투여량(바람직하게는 6x10⁶ TCID₅₀)으로 감염된 동물의 설사, 발열 및 사망률에 통계적으로 유의적인 차이가 있는 것을 의미한다. 즉, 약독화 BVDV 입자는 설사, 발열 및 사망을 유발하지 않아서 백신에 사용될 수 있다.

<39> 본 명세서에 사용된 E^{rns}의 불활성화는 문헌[Meyers et al., 1999]에 기술된 바와 같은 RNase 분석에 따라 미감염된 대조군 세포에서 측정된 수준보다 유의적으로 높지 않은 RNase 활성을 의미한다. "문헌[Meyers et al., 1999]에 기술된 바와 같은 RNase 분석에 따라 미감염된 대조군 세포에서 측정된 수준보다 유의적으로 높지 않은"이란, 예컨대 RNase 활성이 미감염된 대조군 세포에 비해 150% 미만인 것을 의미한다.

<40> 본 명세서에 사용된 N^{pro}의 불활성화는 N^{pro}의 가능한 면역조절 활성이 돌연변이에 의해 차단되거나 또는 상당히 감소된 것을 의미한다. 바람직한 양태에 따르면, 이러한 돌연변이는 N^{pro}의 간섭을 문헌[Ruggli et al.(2003)]에 기술된 바와 같은 감염 세포에 의한 인터페론 반응 유도에 의하여 차단하거나 또는 상당히 감소시킨다. 이러한 경우, N^{pro}의 불활성화는 세포가 정상적인 인터페론 반응을 야기하도록 허용할 것이다.

<41> 본 명세서에 사용된 바와 같은 "프로세싱 시그널"은 페스티바이러스, 바람직하게는 BVDV의 C 단백질 중 기능성 N 말단이 확실히 생성되게 해주는 물질, 구체적으로 유비퀴틴, 미소관 결합 단백질의 경쇄 3(LC3; light chain 3 of microtubule-associated protein), 소형 유비퀴틴-관련 변형인자-1(SUMO-1; small ubiquitin-related modifier-1), 신경 전구세포에서 발현되는 발달적으로 하향 조절되는 단백질 8(NEDD8; neural precursor cell-expressed developmentally down-regulated protein 8), 16kDa의 골지-연관 ATPase 인핸서(GATE-16; Golgi-associated ATPase Enhancer of 16 kDa) 및 감마-아미노부티르산 수용체 A형 수용체 연관 단백질(GABA(A)RAP; gamma-aminobutyric acid receptor type A receptor associated protein)로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 물질을 의미한다. 또한, 인테인, 피코나바이러스 3C, 카리도바이러스 2A 및 토끼 출혈병 바이러스의 p15로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 프로테아제도 본 명세서에 사용된 "프로세싱 시그널"을 의미한다. 상기 C 단백질의 기능성 N 말단을 확실히 생성되게 해주는 당업자에게 공지된 다른 임의의 유사 프로세싱 시그널도 상기 "프로세싱 시그널"이란 용어에 포함될 수 있다.

<42> 본 명세서에 사용된 "단백질 C" 또는 "C 단백질" 또는 "C-단백질"이란 용어는 페스티바이러스 비리온의 구조 성분을 의미한다(Thiel et al., 1991). "단백질 C"는 페스티바이러스의 캡시드 또는 코어 단백질이다. 이 용어는 상황에 따라서 암호화 뉴클레오타이드 서열의 돌연변이에 의해 하나 또는 여러개의 아미노산이 교환된 "단백질 C"를 의미할 수도 있다.

<43> 본 발명에 사용된 "단편"이란 용어는 본 발명에 따른 폴리뉴클레오타이드 분자의 임의의 서브유닛, 즉 임의의

서브세트를 의미한다. DNA인 경우, 상기 단편은 전장의 바이러스 게놈을 포함하는 DNA보다 짧은 것을 특징으로 한다.

<44> 본 발명에 따른 뉴클레오타이드 분자의 "기능성 변이체"란 본 발명에 따른 뉴클레오타이드 분자와 실질적으로 유사한 생물학적 활성(기능적 또는 구조적)을 보유하는 뉴클레오타이드 분자이다. 또한, "기능성 변이체"에는 "단편", "기능성 변이체", "축퇴성 핵산 코드에 기초한 변이체" 또는 "화학적 유도체"도 포함된다. 이러한 "기능성 변이체"는 예컨대 하나 또는 여러 개의 뉴클레오타이드 교환, 결실 또는 삽입을 보유할 수 있다. 이러한 기능성 변이체는 적어도 부분적으로 자신의 생물학적 활성, 예컨대 감염성 클론 또는 백신 중으로서의 기능을 보유하거나, 또는 심지어 개량된 생물학적 활성을 나타낸다. "실질적으로 유사한 생물학적 활성을 보유하는"이란 예컨대 여기에 제시된 페스티바이러스인 경우에, 상기 페스티바이러스가 본 명세서에 기술된 방식으로 약독화되어, 태반을 통과하는 능력을 상실하지만 백신접종 후 면역반응을 매개하는 약독화된 생 바이러스의 생산에 적합한 비병원성 바이러스가 되는 것을 의미한다.

<45> "유전자 코드의 축퇴성에 기초한 변이체"는 특정 아미노산이 여러 다른 뉴클레오타이드 트리플렛(triplet)에 의해 암호화될 수 있다는 사실로부터 생긴 변이체이다. 이러한 변이체는 자신의 생물학적 활성을 적어도 부분적으로 보유하거나, 심지어 개량된 생물학적 활성을 나타내기도 한다.

<46> 두 분자가 뉴클레오타이드 서열이나 생물학적 활성이 실질적으로 유사하다면 한 분자는 다른 분자와 "실질적으로 유사한" 것이다. 즉, 두 분자가 유사한 활성을 보유한다면 두 분자는 뉴클레오타이드 서열이 동일하지 않는 한 본 명세서에 사용된 용어에 따라 변이체로 간주되며, 뉴클레오타이드 서열이 유사한 두 분자는 각각의 생물학적 활성이 동일하지 않아도 본 명세서에 사용된 용어에 따라 변이체로 간주되어야 한다.

<47> 본 명세서에 사용된 돌연변이는 본 발명에 따른 단백질/아미노산을 암호화하는 핵산 분자의 변형을 의미한다. 이러한 돌연변이는 치환(하나 또는 여러 뉴클레오타이드/염기쌍의 치환), 결실(하나 또는 여러 뉴클레오타이드/염기쌍의 제거), 및/또는 삽입(하나 또는 여러 뉴클레오타이드/염기쌍의 첨가)을 의미하지만, 이에 국한되는 것은 아니다. 본 명세서에 사용된 돌연변이는 단일 돌연변이 또는 여러 돌연변이일 수 있는 바, "돌연변이(들)"란 용어는 종종 단일 돌연변이 및 여러 돌연변이를 모두 의미한다. 이러한 돌연변이에는 점돌연변이(단일 뉴클레오타이드 변이) 또는 더 큰 돌연변이, 예컨대 암호화 핵산 분자의 일부가 결실, 치환되고(되거나) 추가 암호화 핵산이 삽입된 돌연변이가 포함되며, 이에 국한되는 것은 아니다. 이러한 돌연변이는 암호화 서열의 변화로 인하여 변형된 폴리펩타이드의 발현을 일으킬 수도 있다. 이러한 변형된 폴리펩타이드는 이하의 본 발명의 상세한 설명에 제시된 바와 같은 것이 바람직하다.

<48> 본 명세서에 사용된 "백신"이란 용어는 동물의 면역학적 반응을 유도하는 적어도 하나의 면역학적 활성 성분 및 가능하다면(절대적인 것은 아니다) 상기 활성 성분의 면역학적 활성을 증강시키는 하나 이상의 추가 성분을 함유하는 약제학적 조성물을 의미한다. 백신은 또한 약제학적 조성물에 전형적인 추가 성분을 함유할 수 있다. 백신의 면역학적 활성 성분은 완전한 바이러스 입자를 본래 형태대로 또는 소위 변형된 생 백신(MLV)에서의 약독화된 입자로서 또는 소위 사멸 백신(KV)에서 적당한 방법에 따라 불활성화된 입자로서 포함할 수 있다. 다른 양태에 따르면, 백신의 면역학적 활성 성분은 상기 미생물의 적당한 인자(서브유닛 백신)를 포함할 수 있으며, 이때 상기 인자들은 전체 입자 또는 이러한 입자를 함유한 증식 배양물을 파괴하고, 경우에 따라 정제 단계를 후속적으로 수행하여 원하는 구조를 수득하여 제조하거나, 또는 세균, 곤충, 포유동물 또는 다른 종을 기초로 한 적당한 시스템을 사용하여 적당한 조작을 포함하는 합성 방법을 수행하고, 경우에 따라 분리 및 정제 절차를 후속적으로 수행하여 제조하거나, 또는 백신을 필요로 하는 동물 중에 적당한 약제학적 조성물을 이용한 유전자 물질을 직접 투입하여 상기 합성 과정을 유도함으로써(폴리뉴클레오타이드 백신접종) 제공한다. 백신은 전술한 인자를 하나 또는 동시에 하나 이상을 함유할 수 있다. 본 명세서에서 의도하는 "백신"이란 용어는 항원 물질을 포함하는 수의용 백신이며, 페스티바이러스 감염, 바람직하게는 BVDV 감염에 의해 유발된 질병에 대한 특이적인 능동 면역을 유도하기 위한 목적으로 투여되는 백신이다. 본 명세서에 기술된 약독화 페스티바이러스, 구체적으로 약독화 BVDV는 함유된 면역원 및 때로는 항원적 관련성이 있는 미생물에 대한 모계 항체를 통해 수동적으로 전달될 수 있는 능동 면역을 부여한다. 본 발명의 백신은 전술한 백신으로서, 하나의 면역학적 활성 성분이 BVDV 또는 페스티바이러스 기원의 것이거나 또는 공지된 임의의 페스티바이러스 서열(센스 또는 안티센스)과 상동성이 70% 초과인 뉴클레오타이드 서열 유래인 백신을 의미한다.

<49> "생백신"이란 용어는 살아 있는, 특히 살아 있는 바이러스 활성 성분을 함유하는 함유하는 백신을 의미한다.

<50> 면역 반응을 증강시키는 추가 성분은 백신에 첨가되는 알루미늄하이드록사이드, 광유 또는 여타 오일이나, 보조 분자와 같이 일반적으로 "보강제"로 불리는 성분이거나, 또는 인터페론, 인터류킨 또는 성장 인자와 같이(이에

국한되지 않는다) 상기 추가 성분에 의해 각각 유도된 후 신체에서 생성되는 성분이다.

<51> "약제학적 조성물"은 당해 조성물이 투여된 유기체, 또는 이 유기체 내에 또는 이 유기체 상에 살아 있는 유기체의 생리학적, 예컨대 면역학적 기능을 조절할 수 있는 하나 또는 그 이상의 성분으로 본질적으로 구성된다. 이 용어는 항생제 또는 항기생충제 뿐만 아니라 가공 성형, 멸균성, 안정성, 경구, 비내, 정맥내, 근육내, 피하, 피내 또는 다른 적합한 경로 등의 장내 또는 비경구 경로를 통해 성분을 투여할 수 있는 가능성, 투여 후 내성, 조절 방출성 등과 같은(이에 국한되지 않는다) 다른 특정 목적을 달성하는데 일반적으로 사용되는 다른 성분을 포함하며, 이에 국한되는 것은 아니다. 이러한 약제학적 조성물의 비제한적인 예로서, 오로지 증명하기 위한 목적의 약제학적 조성물은 다음과 같이 제조할 수 있다: 감염된 세포 배양물의 세포 배양 상청액을 안정화제(예, 스퍼미딘 및/또는 BSA(소 혈청 알부민))와 혼합하고 이 혼합물을 그 다음 동결건조하거나 다른 방법으로 탈수시킨다. 백신접종 하기 전에, 상기 혼합물을 수성 용액(예, 식염수, PBS(인산염 완충 식염수)) 또는 비수성 용액(예, 오일 에멀전, 알루미늄계 보강제)에 재수화시킨다.

<52> 발명의 기재

<53> 상기 기술적 문제는 이하 상세한 설명과 청구의 범위에서 특징부로 나타낸 구체예들을 통해 해결된다.

<54> 놀랍게도, 페스티바이러스, 구체적으로 BVDV는 당단백질 E^{rns}의 암호화 서열 중의 적어도 하나의 돌연변이 및 N^{pro}의 암호화 서열 중의 적어도 다른 하나의 돌연변이, 바람직하게는 당단백질 E^{rns}에 존재하는 RNase 활성의 불활성화와 함께 N^{pro}에 존재하는 면역조절 활성의 불활성화를 유도하는 상기 돌연변이들의 도입을 통해 더욱 효과적으로 약독화될 수 있음을 발견했다. 면역조절 효과는 문헌[Ruggli et al.(2003)]에 예시된 방식에서 한 페스티바이러스의 표시된 기능에 대하여 표시되며, 이에 국한되는 것은 아니다.

<55> 본 발명에 따라 약독화된 페스티바이러스, 구체적으로 BVDV는 백신으로 유리하게 사용될 수 있다. 이러한 약독화 페스티바이러스, 특히 상기 약독화된 BVDV는 현재 고면역원성의 생 백신을 제공한다. 놀랍게도, 본 발명에 따른 페스티바이러스, 구체적으로 BVDV는 태반을 통과하지 않는 바, 임신 동물에 사용하여도 안전하다. 이에 대해서는 실시예 3에서 BVDV에 대하여 비제한적 방식으로 예시하고 있다.

<56> 더욱이, 약독화의 기초로서 일정한 돌연변이를 보유한 생 백신은 현행 백신 생산의 단점, 예컨대 병원성 중으로의 복귀 위험성을 피할 수 있게 한다. 이러한 약독화 돌연변이의 또 다른 장점은 이 돌연변이를 약독화 페스티바이러스, 특히 BVDV의 독특한 라벨로서 사용할 수 있게 하고 야생의 페스티바이러스, 특히 BVDV와 구별할 수 있게 하는 분자 고유성에 있다. 따라서, 한 관점에 따르면, 본 발명은 당단백질 E^{rns}의 암호화 서열 중의 적어도 하나의 돌연변이 및 N^{pro}의 암호화 서열 중의 적어도 다른 하나의 돌연변이를 보유한 약독화 페스티바이러스, 특히 약독화 BVDV를 제공한다. 바람직하게는, 그러한 약독화 페스티바이러스, 바람직하게는 그러한 약독화 BVDV에서 당단백질 E^{rns}의 암호화 서열에 존재하는 상기 돌연변이는 E^{rns}에 존재하는 RNase 활성의 불활성화를 유도하고(하거나) N^{pro}의 암호화 서열에 존재하는 상기 돌연변이는 상기 N^{pro}의 불활성화를 유도한다. 이러한 불활성화는 E^{rns} 암호화 서열 및 N^{pro} 암호화 서열에 당업자에게 공지된 임의의 돌연변이를 수행함으로써 유발될 수 있으며, 상기 돌연변이는 결실, 삽입 돌연변이 및/또는 치환 돌연변이와 같이 "용어 정의"편에 정의된 바와 같은 임의의 돌연변이이다. 특히, 야생형으로의 복귀 가능성이 결실시 가장 낮기 때문에, 상기 돌연변이는 결실 돌연변이인 것이 가장 바람직하다.

<57> 당단백질 E^{rns}는 약 97kD의 이황화 결합된 동종이량체를 형성하고, 각 단량체는 문헌[Rumenapf et al.(1993)]에 기술된 바와 같은 CSFV 다단백질의 아미노산 268 내지 494에 해당하는 227개 아미노산으로 구성된다는 것이 밝혀져 있다. CSFV 알포트/튜빙겐(Alfort/Tubingen) 종의 게놈 서열은 GenBank/EMBL 데이터 라이브러리에서 수탁 번호 J04358로 입수할 수 있고; 또 BVDV 중 CP7의 아미노산 서열도 GenBank/EMBL 데이터 라이브러리(수탁 번호 U63479)에서 입수할 수 있으며, 이러한 BVDV CP7 다단백질에서 E^{rns} 단백질은 잔기 271 내지 497에 해당한다. 당단백질 E^{rns} 뿐만 아니라 일부 식물 및 진균류의 RNase 활성 단백질에서는 아미노산의 두 영역이 고도로 보존성이다(Schneider et al., 1993). 이러한 두 영역은 특히 RNase 효소 활성에 중요하다. 제1 영역은 위치 295 내지 307(BVDV 중 cp7에서는 298 내지 310)의 아미노산에 있는 영역으로 구성되고, 제2 영역은 문헌[Meyers et al., 1999]에서 CSFV 알포트 종에서 예시한 바와 같은 상기 바이러스 다단백질의 위치 338 내지 357(BVDV 중 cp7의 341 내지 360)에 있는 아미노산(아미노산 번호는 CSFV 중 알포트/튜빙겐(Meyers et al., 1989)의 공개된 추론

아미노산 서열에 따른 것이다)으로 구성된다. 앞서 언급한 RNase 활성화에 특히 중요한 아미노산은 CSFV 알포트/튜빙겐 중에 대해서 정의된 바와 같은 정확한 위치에만 제한되는 것은 아니고, 그 아미노산들이 고도로 보존성이기 때문에 BVDV, BVD 및 페스티바이러스에서 발견되는 것과 같이 다른 종들의 그 위치에 존재하거나 그 위치에 상응하는 바람직한 아미노산을 단순히 예시 방식으로 나타내기 위해 사용된 것뿐이다. CSFV 알포트/튜빙겐 종 이외의 다른 페스티바이러스에서 바람직한 아미노산 위치의 번호는 다를 수 있지만, 페스티바이러스 분자생물학 분야의 전문가라면 그 아미노산 서열의 고도의 보존성과 서열 중의 상기 모티프의 위치를 통해 상기 바람직한 아미노산을 쉽게 확인할 수 있을 것이다. 구체적인 비제한적 예 중 하나로서, CSFV 알포트/튜빙겐의 위치 346은 BVDV 중 cp7의 위치 349와 동일하다.

<58> 결과적으로, 본 발명은 바람직하게는 당단백질 E^{rns}의 암호화 서열에 존재하는 상기 돌연변이가 아미노산 위치 298 내지 310 및/또는 위치 341 내지 360에 상응하는 암호화 뉴클레오타이드 서열에 위치하는 본 발명에 따른 BVDV에 관한 것이다. 이러한 돌연변이는 다음과 같은 것이 바람직하다: 아미노산은 1문자 기호로 표시했고, 위치 번호 앞의 아미노산은 치환될 아미노산을 나타내고, 위치 번호 다음의 아미노산은 치환 아미노산을 나타내며, del은 결실을 나타낸다. 예컨대 H300L은 히스티딘 300이 류신으로 치환되었음을 의미한다:

<59> 당단백질 E^{rns}의 적당한 변형은 예컨대 단독 치환/결실: S298G, H300K, H300L, H300R, H300del, W303G, P304del, E305A, C308G, R343G, E345del, W346G, K348A, H349K, H349L, H349del, H349Q, H349SV(돌연변이 H349S 및 V 삽입), K348R, W351P, W351G, W351L, W351K, W351H; 이중 치환/결실: H300L/H349L, K348del/H349del, H349del/G350del, E345del/H349del, W303G/E305A, H300K/H349K, H300K/H349L 및 삼중 결실: L299del/H300del/G300del, K348del/H349del/G350del. 앞에 나열된 모든 돌연변이체의 번호들은 공개된 BVDV CP7의 아미노산 서열에 따른 것이다(제시된 번호에서 3을 빼면 CSFV 알포트/튜빙겐 아미노산 서열의 동등 잔기에 해당할 것이다). 앞에 나열된 모든 돌연변이체는 적어도 N^{pro} 영역의 돌연변이없이 각 CSFV 또는 BVDV 돌연변이체로서 검사되었다. 페스티바이러스 당단백질 E^{rns}의 적당한 돌연변이체는 예컨대 전문이 본원에 참고인용된 W099/64604에 제시되어 있다. 하지만, 본 발명에 따르면, 이하에 상세히 게시되는 바와 같이 N^{pro} 영역에 적어도 하나의 다른 돌연변이가 존재해야 한다는 것을 명심해야 한다.

<60> 특히, 위치 346(CSFV) 또는 349(BVDV)에서 히스티딘 잔기의 결실이나 치환이 E^{rns}의 효과적인 불활성화를 유도하고, 이에 따라 특히 유용한 페스티바이러스 생 백신이 수득된다는 것이 발견되었다. 본 발명은 페스티바이러스가 생존성이고 E^{rns} RNase의 보존성 추정상의 활성 부위 잔기 중 하나를 나타내는 바이러스 당단백질의 위치 346(CSFV 알포트/튜빙겐의 공개 서열(Meyers et al., 1989)에 따라 번호 매긴 경우) 또는 상기 페스티바이러스가 BVDV인 경우에는 위치 349(BVDV CP7의 공개 서열(Meyers et al., 1996b)에 따라 번호 매긴 경우)의 히스티딘 잔기가 결실된 경우에 RNase 활성이 없는 E^{rns} 단백질을 암호화한다는 것을 입증한다. 따라서, 바람직하게는 본 발명은 당단백질 E^{rns}의 암호화 서열에 있는 돌연변이가 위치 349에 있는 히스티딘 잔기의 결실 또는 치환인, 본 발명에 따른 BVDV에 관한 것이다. 더욱 더 구체적으로, RNase의 추정상의 활성 부위는 보존성 E^{rns} 서열 SLHGIWPEKICTG 및/또는 LQRHEWNKHGWCNWFHIEPW로 표시된 부위이다(여기에 제시된 BVDV-2 New York'93 단백질의 서열은 예시용이며; 다른 페스티바이러스 서열에는 약간의 변화가 있을 수 있지만, 당해 기술분야의 전문가라면 모티프의 동일성을 분명하게 알 수 있을 것이다). 일 예로서, BVDV-1 CP7의 상응 아미노산 서열은 SLHGIWPEKICTG 및/또는 LQRHEWNKHGWCNWFHIEPW이며, CSFV 알포트/튜빙겐의 상응 아미노산 서열은 SLHGIWPEKICKG 및/또는 LQRHEWNKHGWCNWFHIEPW일 것이다. 즉, 바람직하게는, 본 발명은 또한 당단백질 E^{rns}의 암호화 서열에 존재하는 돌연변이(들)가 보존성 E^{rns} 서열 SLHGIWPEKICTG 및/또는 LQRHEWNKHGWCNWFHIEPW를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 위치하는 본 발명에 따른 BVDV에 관한 것이다. 이러한 서열들은 RNase의 추정상의 활성 부위를 나타내고 있다. 추정상의 E^{rns} 활성 부위의 서열 SLHGIWPEKIC 및 RHEWNKHGWCNW는 페스티바이러스들에 있어서 더욱 더 보존성 서열이다. 따라서, 바람직하게는, 본 발명은 또한 N^{pro} 단백질 및 당단백질 E^{rns}의 암호화 서열에 적어도 하나의 돌연변이를 보유하고, 당단백질 E^{rns}의 암호화 서열에 존재하는 상기 돌연변이(들)가 보존성 E^{rns} 서열 SLHGIWPEKIC 및/또는 RHEWNKHGWCNW를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 위치하는 것인 페스티바이러스, 특히 BVDV에 관한 것이다. 상기 돌연변이는 상기 서열 중 오로지 한 서열에 위치한 것이 바람직하다. 즉, 본 발명은 N^{pro} 단백질 및 당단백질 E^{rns}의 암호화 서열에 적어도 하나의 돌연변이를 보유하고, 당단백질 E^{rns}의 암호화 서열

에 존재하는 상기 돌연변이(들)가 보존성 E^{rns} 서열 SLHGIWPEKIC 또는 RHEWNKHGWCNW를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 위치하는 것인 페스티바이러스, 특히 BVDV에 관한 것이다. 이러한 돌연변이는 2개의 다른 아미노산에 관한 돌연변이, 즉 이중 돌연변이인 것이 바람직하다. 즉, 이러한 돌연변이는 2개의 아미노산을 암호화하는 2개의 다른 트리플렛 중에 1 내지 3개의 뉴클레오타이드 돌연변이일 수 있다. 즉, 본 발명은 또한 N^{pro} 단백질 및 당단백질 E^{rns} 의 암호화 서열에 적어도 하나의 돌연변이를 보유하고, 당단백질 E^{rns} 의 암호화 서열에 존재하는 상기 돌연변이(들)가 보존성 E^{rns} 서열 SLHGIWPEKIC 및/또는 RHEWNKHGWCNW를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 위치하는 2개의 돌연변이인 페스티바이러스, 특히 BVDV에 관한 것이다. 이러한 돌연변이는 단독 아미노산에 관한 돌연변이인 것이 바람직하다. 즉, 이 돌연변이는 하나의 아미노산을 암호화하는 하나의 트리플렛 중에 있는 1 내지 3개의 뉴클레오타이드의 돌연변이일 수 있다. 또한, 본 발명은 N^{pro} 단백질 및 당단백질 E^{rns} 의 암호화 서열에 적어도 하나의 돌연변이를 보유하고, 하나의 돌연변이가 보존성 E^{rns} 서열 SLHGIWPEKIC 및/또는 RHEWNKHGWCNW에 위치하는 것인 페스티바이러스, 특히 BVDV에 관한 것이다.

<61> 전술한 바와 같이, 본 발명에 따르면, 당단백질 E^{rns} 의 암호화 서열 및 N^{pro} 단백질의 암호화 서열에 적어도 하나의 돌연변이를 보유하고, 이러한 돌연변이가 바람직하게는 당단백질 E^{rns} 에 존재하는 RNase 활성 및 N^{pro} 에 존재하는 번역조절 활성을 불활성화시키는 약독화 페스티바이러스가 제공된다. N^{pro} 의 불활성화는 이하에 상세히 설명되는 특정 형태, 즉 N^{pro} 의 아미노산 0개 내지 전부가 존재하고; 유비퀴틴 또는 LC3 또는 프로세싱 시그널로서 작용하는 다른 서열(예, SUMO-1, NEDD8, GATE-16, GABA(A)RAP 또는 프로테아제(예, 인테인), 피코나바이러스 3C, 카리도바이러스 2A 또는 토끼 출혈병 바이러스 p15)가 존재하거나 존재하지 않는, 페스티바이러스, 특히 BVDV에 의해 달성된다. 프로세싱 시그널이 존재하는 경우에, 이 프로세싱 시그널의 암호화 서열은 N^{pro} 단백질 (나머지 부분)의 C 말단 단부에 삽입되거나 근처에 삽입된다. 프로세싱 시그널이 존재하는 경우에만, N^{pro} 를 암호화하는 임의의 수의 아미노산(= N^{pro} 아미노산)이 존재할 수 있다. 어떠한 프로세싱 시그널 서열도 삽입되지 않은 경우에는, N^{pro} 의 최대 12개 아미노산, 바람직하게는 아미노 말단 아미노산이 존재할 수 있고, 나머지 아미노산은 결실되어야 한다. 더욱이, 앞에 제시한 바와 같은 E^{rns} 돌연변이(이 돌연변이 중 적어도 하나는 본 발명에 따른 페스티바이러스, 특히 BVDV에 존재해야 한다) 이외에, 상기 페스티바이러스, 구체적으로 BVDV의 나머지 서열은 변화되지 않은, 즉 돌연변이되지 않은 상태를 유지하거나, 또는 C 단백질의 N 말단 단부 근방에 돌연변이를 보유할 수도 있다. 이하에 더욱 구체적으로 다수의 양태를 예시한다.

<62> 즉, 본 발명은 N^{pro} 암호화 서열의 돌연변이가 다음과 같은 식으로 표시되는 암호화된 다단백질을 유도하는 본 발명에 따른 페스티바이러스, 특히 BVDV에 관한 것이다:

<63> $[N^{pro}]_x-[PS]_y-[C \text{ 말단}]$

<64> 이 식에서, $[N^{pro}]$ 는 상기 다단백질의 N^{pro} 부분을 의미하고, 여기서 x는 다단백질에 존재하는 N^{pro} 의 아미노산 수를 의미한다;

<65> [PS]는 유비퀴틴, LC3, SUMO-1, NEDD8, GATE-16 또는 GABA(A)RAP 또는 인테인, 피코나바이러스 3C, 카리도바이러스 2A, 또는 토끼 출혈병 바이러스의 p15와 같은 프로테아제, 또는 C 단백질의 기능성 N 말단을 확실히 생성시켜주는 당업자에게 공지된 임의의 프로세싱 시그널 중에서 선택되는 프로세싱 시그널을 의미한다. "Y"는 0일 수 있는데, 이는 프로세싱 시그널이 존재하지 않음을 의미하고(PS = 부재), "Y"는 1일 수 있는데, 이는 하나의 프로세싱 시그널이 존재하는 것을 의미한다(=PS 존재);

<66> [C 말단]은 N^{pro} 를 제외하고는, 캡시드(C) 단백질 및 페스티바이러스 다단백질, 특히 카복시말단 NS5B를 포함하는 BVDV 다단백질에 존재하는 임의의 다른 단백질을 포함하는 완전한 페스티바이러스, 특히 완전한 BVDV 다단백질을 의미한다. 바람직하게는, 상기 [C 말단] 중의 당단백질 E^{rns} 는 당단백질 E^{rns} 에 존재하는 RNase 활성이 불활성화될 정도로 돌연변이된 것이 좋다. "페스티바이러스 다단백질/BVDV 다단백질에 존재하는 임의의 다른 단백질"이란 표현은 당단백질 E^{rns} 가 바람직하게는 본 명세서에 게시된 바와 같이(전술한 설명 참조) 당단백질

E^{rns} 에 존재하는 RNase 활성이 불활성화될 정도로 돌연변이된 E^{rns} , E1, E2, p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B 및 NS5A를 의미한다. 본 발명에 따른 페스티바이러스, 특히 BVDV는 D에서 N으로 변화된 위치 2번의 아미노산을 제외하고는 돌연변이되지 않은 C 단백질을 보유한 것이 바람직하다. 따라서, [C 말단^{*}]은 C 단백질의 2번 위치에 돌연변이(D 대신에 N)를 보유한 것을 제외하고는 [C 말단]과 동일한 것이다;

<67> "y"가 0인 경우([PS]가 존재하지 않는 것을 의미한다), "x"는 0 내지 12(N^{pro} 특정 아미노산이 존재하지 않거나 또는 N^{pro} 의 1 내지 12개 아미노산, 바람직하게는 N^{pro} 의 N 말단의 1 내지 12개 아미노산이 존재하는 것을 의미한다)이며;

<68> "y"가 1인 경우([PS]가 존재하는 것을 의미한다), "x"는 0 내지 168(N^{pro} 특정 아미노산이 존재하지 않거나 또는 N^{pro} 의 1 내지 168개 아미노산, 바람직하게는 N^{pro} 의 N 말단의 1 내지 168개 아미노산이 존재하는 것을 의미한다)이다.

<69> 더욱 바람직하게는, 본 발명은 N^{pro} 암호화 서열의 돌연변이가 하기 식을 특징으로 하는 암호화 다단백질을 유도하는, 본 발명에 따른 페스티바이러스, 특히 BVDV에 관한 것이다:

<70> $[N^{pro}]_1$ -[PS]₀-[C 말단]

<71> 여기서, 각 정의는 전술한 바와 같다.

<72> 이의 구체적인 예는 다음과 같은 것으로서, N 말단 메티오닌에 이어서 C 단백질 및 카복시말단 NS5B를 포함한 상기 다단백질에 존재하는 임의의 다른 단백질로 구성되는 것이다. 따라서, 가장 바람직하게는 본 발명은 N^{pro} 의 암호화 서열에 존재하는 돌연변이(들)가 M[C 말단](여기서 각 정의는 전술한 바와 같다)으로 표시되는 암호화 다단백질을 유도하는 본 발명에 따른 페스티바이러스, 특히 BVDV에 관한 것이다.

<73> 더욱 바람직하게는, 본 발명은 N^{pro} 암호화 서열에 존재하는 돌연변이(들)가 $[N^{pro}]_3$ -[PS]₀-[C 말단](여기서 각 정의는 전술한 바와 같다)으로 표시되는 암호화 다단백질을 유도하는, 본 발명에 따른 페스티바이러스, 특히 BVDV에 관한 것이다.

<74> BVDV의 구체적인 예는 N 말단 메티오닌 다음에 N^{pro} 서열 EL 및 C 단백질, 그리고 다단백질에 존재하는, 카복시말단 NS5B를 포함하는 임의의 다른 단백질로 구성되는 것이다. 가장 바람직하게는, 본 발명은 N^{pro} 암호화 서열의 돌연변이(들)가 MEL-[C 말단](여기서, 각 정의는 전술한 바와 같다)으로 표시되는 암호화 다단백질을 유도하는 본 발명에 따른 BVDV에 관한 것이다.

<75> 더욱 바람직하게는, 본 발명은 N^{pro} 암호화 서열의 돌연변이(들)가 $[N^{pro}]_4$ -[PS]₀-[C 말단](여기서, 각 정의는 전술한 바와 같다)으로 표시되는 암호화 다단백질을 유도하는 본 발명에 따른 BVDV에 관한 것이다.

<76> BVDV의 구체적인 예는 다음과 같은 것으로서, 즉 N 말단 메티오닌 다음에 N^{pro} 서열 ELF와 C 단백질 및 상기 다단백질에 존재하는, 카복시말단 NS5B를 포함하는 임의의 다른 단백질로 구성되는 것이다. 따라서, 가장 바람직하게는 본 발명은 N^{pro} 암호화 서열의 돌연변이(들)가 MELF-[C 말단](여기서, 각 정의는 전술한 바와 같다)으로 표시되는 암호화 다단백질을 유도하는 본 발명에 따른 BVDV에 관한 것이다.

<77> 또한, 더욱 바람직하게는 본 발명은 N^{pro} 암호화 서열의 돌연변이(들)가 $[N^{pro}]_6$ -[PS]₀-[C 말단](여기서 각 정의는 전술한 바와 같다)으로 표시되는 암호화 다단백질을 유도하는 본 발명에 따른 페스티바이러스, 특히 BVDV에 관한 것이다.

<78> BVDV의 구체적인 예는 다음과 같은 것으로서, 즉 N 말단 메티오닌 다음에 N^{pro} 서열 ELFSN과 C 단백질 및 상기 다단백질에 존재하는, 카복시말단 NS5B를 포함하는 임의의 다른 단백질로 구성되는 것이다. 따라서, 가장 바람직하게는 본 발명은 N^{pro} 암호화 서열의 돌연변이(들)가 MELFSN-[C 말단](여기서, 각 정의는 전술한 바와 같다)으로 표시되는 암호화 다단백질을 유도하는 본 발명에 따른 BVDV에 관한 것이다.

- <79> 또한, 더욱 바람직하게는 본 발명은 N^{pro} 암호화 서열의 돌연변이(들)가 $[N^{pro}]_4-[PS]_0-[C \text{ 말단}^*]$ (여기서 각 정의는 전술한 바와 같으며, 단 C 단백질의 아미노말단이 변화되었다)으로 표시되는 암호화 다단백질을 유도하는 본 발명에 따른 페스티바이러스, 특히 BVDV에 관한 것이다.
- <80> BVDV의 구체적인 예는 다음과 같은 것으로서, 즉 N 말단 메티오닌 다음에 N^{pro} 서열 ELF이 오고, C 단백질 서열 중에서 위치 2번의 아미노산이 D에서 N으로 변화된 것이다. 따라서, 아미노말단 C 단백질 서열은 SDEGSK 대신에 SNEGSK인 것이다. 가장 바람직하게는 본 발명은 N^{pro} 암호화 서열의 돌연변이(들)가 MELF-[C 말단^{*}](여기서, C 단백질의 위치 2번의 아미노산은 D에서 N으로 변화되었고 각 정의는 전술한 바와 같다)으로 표시되는 암호화 다단백질을 유도하는 본 발명에 따른 BVDV에 관한 것이다.
- <81> 또한, 더욱 바람직하게는 본 발명은 N^{pro} 암호화 서열의 돌연변이(들)가 $[N^{pro}]_x-[PS]_1-[C \text{ 말단}]$ (여기서 각 정의는 전술한 바와 같고, PS는 앞서 제시된 임의의 PS, 바람직하게는 유비퀴틴 또는 LC3으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 것이다)으로 표시되는 암호화 다단백질을 유도하는 본 발명에 따른 페스티바이러스, 특히 BVDV에 관한 것이다.
- <82> BVDV의 구체적인 예는 다음과 같은 것으로서, 즉 N 말단 메티오닌 다음에 임의의 21개 또는 28개 N^{pro} 아미노산, 유비퀴틴 또는 LC3 및 C 단백질로 구성되는 것이다. 따라서, 가장 바람직하게는 본 발명은 N^{pro} 암호화 서열의 돌연변이(들)가 하기 식으로 표시되는 암호화 다단백질을 유도하는 본 발명에 따른 BVDV에 관한 것이다:
- <83> $[N^{pro}]_{22}-[PS]_1-[C \text{ 말단}]$ (여기서, PS는 유비퀴틴 또는 LC3인 것이 바람직하다) 또는
- <84> $[N^{pro}]_{29}-[PS]_1-[C \text{ 말단}]$ (여기서, PS는 유비퀴틴 또는 LC3인 것이 바람직하다).
- <85> 유비퀴틴은 76개 아미노산으로 이루어진 공지된 고도의 보존성 세포 단백질이다. 다른 기능들보다, 유비퀴틴은 유비퀴틴과 접합 시 프로테아좀을 통해 분해되는 단백질을 표시할 수 있는 바 단백질 이화작용의 주요 기능인자이다. 카복시말단 글리신을 통해 다른 단백질과 접합 또는 융합된 유비퀴틴은 세포 유비퀴틴 특이적 프로테아제에 의해 절단될 수 있다. 즉, 유비퀴틴의 카복시말단과 단백질의 융합은 세포 내에서 발현될 때 그 융합 단백질의 일정한 단백질분해성 절단으로 인해 각 성분으로 분해될 것이다.
- <86> LC3(미소관 결합 단백질의 경계 3)은 다양한 기능을 하는 125개 아미노산의 세포 단백질이다(소 LC3의 길이). 최근, 이 단백질의 자가포식현상에서의 기본적인 역할이 규명되었다. 이 과정동안, LC3은 카복시말단 절단에 의해 활성화된다. 이에 따라, 글리신으로 이루어진 새로운 카복시말단이 생성된다. LC3은 그 다음 카복시말단 글리신을 통해 자가포식 소포의 막에 존재하는 포스포티딜에탄올아민에 접합된다. 이 과정으로 인해, LC3의 카복시말단과 융합된 단백질은 일정한 위치에서 세포의 프로테아제에 의해 절단될 것이다.
- <87> 더욱 바람직하게는, 본 발명은 N^{pro} 암호화 서열의 돌연변이(들)가 다음과 같은 식으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 식으로 표시되는 암호화 다단백질을 유도하는, 본 발명에 따른 페스티바이러스, 바람직하게는 BVDV에 관한 것이다:
- <88> $[N^{pro}]_2-[PS]_y-[C \text{ 말단}]$ 및 바람직하게는 ME-[PS]_y-[C 말단];
- <89> $[N^{pro}]_5-[PS]_y-[C \text{ 말단}]$ 및 바람직하게는 MELFS-[PS]_y-[C 말단];
- <90> $[N^{pro}]_7-[PS]_y-[C \text{ 말단}]$ 및 바람직하게는 MELFSNE-[PS]_y-[C 말단];
- <91> $[N^{pro}]_8-[PS]_y-[C \text{ 말단}]$ 및 바람직하게는 MELFSNEL-[PS]_y-[C 말단];
- <92> $[N^{pro}]_9-[PS]_y-[C \text{ 말단}]$ 및 바람직하게는 MELFSNELL-[PS]_y-[C 말단];
- <93> $[N^{pro}]_{10}-[PS]_y-[C \text{ 말단}]$ 및 바람직하게는 MELFSNELLY-[PS]_y-[C 말단];

- <94> $[N^{pro}]_{11}$ -[PS]_y-[C 말단] 및 바람직하게는 MELFSNELLYK-[PS]_y-[C 말단]; 및
- <95> $[N^{pro}]_{12}$ -[PS]_y-[C 말단] 및 바람직하게는 MELFSNELLYKT-[PS]_y-[C 말단]
- <96> (여기서, 상기 각 정의는 전술한 바와 같다). 이와 같이 제시된 양태는 BVDV에 관한 것이 바람직하다.
- <97> 가장 바람직하게는 y가 0(PS가 존재하지 않는 것)인 것이다.
- <98> 더욱 바람직하게는 상기에 기술한 본 발명에 따른 상기 BVDV가 BVDV 타입 1 BVDV인 것이다. 가장 바람직하게는, 상기에 기술한 본 발명에 따른 상기 BVDV가 BVDV 타입 2 BVDV인 것이다. BVDV-1 및 BVDV-2는 이들의 게놈 서열의 특징에 따라 분류된다(Heinz et al., 2000 및 여기에 인용된 문헌 참조). 본 명세서에 제시된 BVDV-1은 육종 소, 임신한 암소의 BVDV 타입 1 감염의 예방 및/또는 치료, 및 임신한 암소의 BVDV 타입 1 감염에 대한 태아 보호 유도에 유용한 조성물의 제조에 사용될 수 있다. 놀랍게도, 본 명세서에 제시된 BVDV-2는 육종 소의 BVDV 타입 1 감염의 예방 및/또는 치료에 유용한 조성물의 제조에 사용될 수 있다. 구체적으로, 본 발명은 임신한 암소의 BVDV 타입 1 감염의 예방 및/또는 치료에 유용한 조성물의 제조에 사용되는 본 발명에 따른 BVDV 타입 2의 용도에 관한 것이다. 바람직하게는, 본 발명에 따른 BVDV 타입 2는 임신한 암소의 BVDV 타입 1 감염에 대한 태아 보호의 유도에 유용한 조성물의 제조에 사용될 수 있다. 또한, 놀랍게도, 본 명세서에 제시된 BVDV-1은 육종 소의 BVDV 타입 2 감염의 예방 및/또는 치료에 유용한 조성물의 제조에 사용될 수 있다. 구체적으로, 본 발명은 임신한 암소의 BVDV 타입 2 감염의 예방 및/또는 치료에 유용한 조성물의 제조에 사용되는 본 발명에 따른 BVDV 타입 1의 용도에 관한 것이다. 바람직하게는, 본 발명에 따른 BVDV 타입 1은 임신한 암소의 BVDV 타입 2 감염에 대한 태아 보호의 유도에 유용한 조성물의 제조에 사용될 수 있다. 가장 바람직한 것은, 육종 소, 임신한 암소의 BVDV 타입 1 및/또는 타입 2 감염의 예방 및/또는 치료에 유용하고, 임신한 암소의 BVDV 타입 1 및/또는 타입 2 감염에 대한 태아 보호의 유도에 유용한 조성물의 제조에 함께 사용되는 BVDV 타입 1 및 타입 2의 용도이다.
- <99> 가장 바람직하게는, 본 명세서에 제시된 바와 같이 돌연변이되어야 하는 본 발명에 따른 야생형 BVDV가 아미노산 서열번호 5(XIKE A로 표시됨)에 상응하거나 또는 이의 기능성 변이체인 것이다. 가장 바람직하게는, 본 발명에 따른 BVDV는 본 발명에 따른 N^{pro} 돌연변이를 보유하고, 아미노산 서열번호 6(XIKE-A-NdN으로 표시됨)에 상응하거나 이의 기능성 변이체인 것이다. 이러한 기능성 변이체는 본 명세서에 제시된 아미노산 서열과 적어도 65% 상동성인 것이 바람직하다. 아미노산 수준에서의 상동성은 매우 대략적이다: BVDV-1/-BVDV-1: 93%; BVDV-1/-BVDV-2: 84%; BVDV-2/-BVDV-2: 98%. 따라서, 더욱 바람직하게는 상기 기능성 변이체는 본 명세서에 제시된 아미노산과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89% 또는 90% 상동성이 있는 것이다. 더욱 바람직하게는, 그러한 기능성 변이체가 본 명세서에 제시된 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% 또는 98% 상동성이 있는 것이다. 가장 바람직하게는, 그러한 기능성 변이체가 본 명세서에 제시된 아미노산 서열과 적어도 99% 또는 99.9% 상동성이 있는 것이다.
- <100> 가장 바람직하게는, 본 발명에 따른 BVDV는 히스티딘 349를 암호화하는 코돈이 결실된 본 발명에 따른 E^{rns} 돌연변이를 보유하고 서열번호 7(XIKE-B라 한다)의 아미노산 서열에 상응하거나, 이의 기능성 변이체인 것이다. 가장 바람직하게는 본 발명에 따른 BVDV는 E^{rns} 의 히스티딘 349를 암호화하는 코돈이 결실되고 코돈 1 내지 4를 제외한 전체 N^{pro} 암호화 영역도 결실되어 N^{pro} 의 아미노산 MELF만이 남아 있는, 본 발명에 따른 E^{rns} 돌연변이 및 N^{pro} 돌연변이를 모두 보유한 것이다. 이러한 돌연변이체는 서열번호 8의 아미노산 서열(XIKE-B-NdN이라 한다) 또는 이의 기능성 변이체에 상응한다. 이러한 기능성 변이체는 본 명세서에 제시된 아미노산 서열과 적어도 65% 상동성인 것이 바람직하다. 더욱 바람직한 상기 기능성 변이체는 본 명세서에 제시된 아미노산 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89% 또는 90% 상동성이 있는 것이다. 더욱 바람직하게는, 이러한 기능성 변이체가 본 명세서에 제시된 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% 또는 98% 상동성이 있는 것이다. 가장 바람직하게는, 그러한 기능성 변이체가 본 명세서에 제시된 아미노산 서열과 적어도 99% 또는 99.9% 상동성이 있는 것이다.
- <101> 가장 바람직하게는, 본 발명에 따른 BVDV는 히스티딘 300을 암호화하는 코돈이 류신을 암호화하는 코돈으로 치환된 본 발명에 따른 E^{rns} 돌연변이를 보유하고 서열번호 9(XIKE-C라 한다)의 아미노산 서열에 상응하거나, 이의

기능성 변이체인 것이다. 가장 바람직하게는 본 발명에 따른 BVDV는 히스티딘 300을 암호화하는 코돈이 류신을 암호화하는 코돈으로 치환되고 코돈 1 내지 4를 제외한 전체 N^{pro} 암호화 영역도 결실되어 N^{pro} 의 아미노산 MELF만이 남아 있는, 본 발명에 따른 E^{rns} 돌연변이 및 N^{pro} 돌연변이를 모두 보유한 것이다. 이러한 돌연변이체는 서열번호 10의 아미노산 서열(XIKE-C NdN이라 한다) 또는 이의 기능성 변이체에 상응한다. 이러한 기능성 변이체는 본 명세서에 게시된 아미노산 서열과 적어도 65% 상동성인 것이 바람직하다. 더욱 바람직한 상기 기능성 변이체는 본 명세서에 게시된 아미노산 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89% 또는 90% 상동성이 있는 것이다. 더욱 바람직하게는, 그러한 기능성 변이체가 본 명세서에 게시된 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% 또는 98% 상동성이 있는 것이다. 가장 바람직하게는, 그러한 기능성 변이체가 본 명세서에 게시된 아미노산 서열과 적어도 99% 또는 99.9% 상동성이 있는 것이다.

<102> 본 명세서에 기술된 본 발명의 또 다른 중요한 양태는 본 발명에 따른 페스티바이러스, 특히 BVDV와 용액을 함유하는 조성물이다. 당업자라면, 이러한 조성물에 함유될 수 있는 추가 성분을 알고 있다(Remington's Pharmaceutical Sciences(1990). 18th ed. Mack Publ., Easton 참조). 전문가는 공지된 주사용 생리적 허용성 멸균 용액을 사용하기도 한다. 비경구 주사 또는 주입을 위한 즉석 제조용 용액의 제조에는 식염수와 같은 등장성 수용액 또는 이에 상응하는 혈장 단백질 용액을 손쉽게 이용할 수 있다. 이러한 약제학적 조성물은 동결건조물이나 건조 제제로서 제공될 수 있고, 이것은 멸균 조건 하에 사용하기 직전에 공지의 주사용 용액으로 복원할 수 있다(예, 구성 성분들의 키트).

<103> 본 발명에 따른 조성물의 최종 제조물은 본 발명에 따른 페스티바이러스, 바람직하게는 BVDV를 멸균 생리적 허용성 용액과 혼합하여, 예컨대 주사용으로 제조한다. 상기 생리적 허용성 용액은 공지의 담체 물질 및/또는 첨가제(예, 혈청 알부민, 텍스트로스, 중아황산 나트륨, EDTA)로 보충될 수 있다. 이러한 용액은 생리적 허용성 용액, 예컨대 pH 7 내지 8 사이의 수용액을 주성분으로 할 수 있다. pH는 약학적 허용성 완충액으로 안정화시킬 수 있다. 또한, 상기 용액은 Tween 20, BSA(소 혈청 알부민)와 같은 혈청 알부민, 아스코르브산 및/또는 스퍼미딘과 같은 계면활성제 등의 추가 안정화제를 함유하여도 좋다. 또한, 상기 조성물은 수산화알루미늄, 광유 또는 여타 오일과 같은 보강제, 또는 이러한 추가 성분에 의해 각각 유도된 후 신체에서 발생되거나 백신에 첨가되는 보조 분자, 예컨대 인터페론, 인터류킨 또는 성장 인자(이에 국한되지 않는다)를 함유할 수도 있다.

<104> 예를 들어, 본 발명에 따른 조성물에서 상기 페스티바이러스, 특히 BVDV는 다음과 같은 용액으로 용해될 수 있다:

페스티바이러스(바람직하게는 BVDV)	10^2 내지 10^8 TCID ₅₀
SGS*	25% v/v
세포 배양액	qsp 1회 투여량
*SGS	조성물/2ml
슈크로스	75mg
젤라틴	20mg
수산화칼륨	0.274mg
L-글루탐산	0.72mg
인산이수소칼륨	0.516mg
인산이칼륨	1.254mg
주사용 물	qsp 2ml

<106> 상기 조성물이 먼저 동결건조되거나 다른 방법으로 탈수되면, 그 다음 백신접종에 앞서 상기 조성물은 수성(예, 식염수, PBS(인산염 완충 식염수) 또는 비수성 용액(예, 오일 에멀전(광유 또는 식물성/대사가가능한 오일계/단독 또는 이중 에멀전계), 알루미늄계, 카보머계 보강제)으로 재수화한다.

<107> 본 발명에 따른 조성물은 동물의 면역학적 반응을 유도하는 것이 바람직하다. 더욱 바람직한 본 발명에 따른 조성물은 백신이다. 본 명세서에 게시된 바와 같은 백신은 본 발명에 따른 페스티바이러스, 특히 BVDV를 함유하며, 앞서("용어 정의" 편) 정의한 바와 같다.

<108> 본 발명에 따른 조성물은 추가로 약학적 허용성 담체 또는 부형제를 함유하는 것이 가장 바람직하다. 몇몇 담체

또는 부형제는 앞서 게시한 바와 같다. 조성물은 주사제 또는 주입제가 목표라면 등장액 제조용 물질, p-하이드록시벤조에이트와 같은 방부제, 에틸렌디아민테트라아세트산의 알칼리 염과 같은 안정화제를 함유할 수 있고, 가능하다면 에멀션화제 및/또는 분산제도 함유할 수도 있다.

<109> 본 발명에 따른 조성물은 피내, 기관내 또는 질내로 적용될 수 있다. 이러한 조성물은 근육내 또는 비내로 적용하는 것이 바람직할 수 있다. 동물 신체에 대해서는, 정맥내 또는 표적 조직으로 직접 주사를 통해 전술한 약제학적 조성물을 적용하는 것이 유리한 것으로 증명되었다. 전신 투여용인 경우에는 정맥내, 혈관내, 근육내, 비내, 동맥내, 복강내, 경구 또는 경막내 경로가 바람직하다. 국소 투여는 피하, 피내, 피부내, 심장내, 골수내, 폐내 또는 치료받는 조직(결합 조직, 뼈 조직, 근육 조직, 신경 조직, 상피 조직)내 또는 그 부근에 직접 투여로 실시할 수 있다. 필요한 치료 기간 및 효과에 따라서 본 발명에 따른 조성물은 수일, 수주 또는 수개월 동안 예컨대 1일 기준으로 1회 또는 수회, 간헐적으로 여러 투약량으로 투여할 수 있다.

<110> 또한, 본 발명은 페스티바이러스 감염, 특히 BVDV 감염의 예방 및 치료를 위한 백신 제조에 사용되는 본 발명에 따른 페스티바이러스, 특히 BVDV의 용도에 관한 것이다.

<111> 본 발명의 또 다른 중요한 부분은 본 발명에 따른 페스티바이러스, 특히 BVDV를 암호화하는 핵산을 함유하는 폴리뉴클레오타이드 분자, 이의 단편, 기능성 변이체, 축퇴성 핵산 코드를 기반으로 한 변이체, 융합 분자 또는 화학적 유도체이다. 상기 폴리뉴클레오타이드 분자는 DNA인 것이 바람직하다. 또한, 상기 폴리뉴클레오타이드 분자는 RNA인 것이 바람직하다. 더욱 바람직한 양태에 따르면, 상기 폴리뉴클레오타이드 분자는 페스티바이러스, 특히 BVDV의 기능성 5' 및/또는 3' 비해독 영역의 뉴클레오타이드 서열도 함유한다.

<112> N^{pro} 의 암호화 서열에 적어도 하나의 돌연변이 및 당단백질 E^{rns} 의 암호화 서열에 적어도 하나의 돌연변이를 보유하고, 이러한 돌연변이가 당단백질 E^{rns} 에 존재하는 RNase 활성과 N^{pro} 에 존재하는 면역조절 활성을 모두 불활성화시키는, 본 발명에 따라 약독화된 페스티바이러스를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 분자 생산의 기본이 되는 뉴클레오타이드 서열은 다수가 당업계에서 공지되어 있다. 이러한 여러 군의 페스티바이러스의 야생형 핵산 서열의 예는 다음과 같다:

<113>	경계병 바이러스	
	BD31 종	NCBI GenBank 수탁번호 [U70263]
	X818 종	NCBI GenBank 수탁번호 [AF037405]
	소 바이러스성 설사병 바이러스 1	
	NADL 종	NCBI GenBank 수탁번호 [M31182]
	Osloss 종	NCBI GenBank 수탁번호 [M96687]
	SD-1 종	NCBI GenBank 수탁번호 [M96751]
	CP7 종	NCBI GenBank 수탁번호 [U63479]
	소 바이러스성 설사병 바이러스 2	
	890 종	NCBI GenBank 수탁번호 [U18059]
	C413 종	NCBI GenBank 수탁번호 [AF002227]
	통상적인 돼지 열병 바이러스	
	알포트/187 종	NCBI GenBank 수탁번호 [X87939]
	알포트-튜빙겐 종	NCBI GenBank 수탁번호 [J04358]
	브레시아 종	NCBI GenBank 수탁번호 [M31768]
	C 종	NCBI GenBank 수탁번호 [Z46258]

<114> N^{pro} 및 E^{rns} 의 암호화 서열에 관한 본 발명에 따른 돌연변이/변형은 앞에서 상세히 설명한 바와 같다. 당업자는 이러한 정보를 갖고 본 발명에 따른 페스티바이러스를 암호화하는 임의의 폴리뉴클레오타이드/폴리핵산을 제조할 수 있을 것이다. 뿐만 아니라, 당업자는 본 발명에 따른 약독화 페스티바이러스도 제조할 수 있을 것이다. 폴리뉴클레오타이드 서열에 돌연변이를 도입시키고, 이와 같이 돌연변이된 폴리뉴클레오타이드를 클로닝 및 증폭시키는 분자적 방법은 예컨대 문헌[참조: Sambrook et al. 1989 또는 Ausubel et al., 1994]에 제시되어 있다.

<115> 가장 바람직하게는, 본 명세서에 게시된 바와 같이 돌연변이되어야 하는 본 발명에 따른 야생형 BVDV는 서열번호 1의 핵산 서열(XIKE A라 한다) 또는 이의 기능성 변이체에 의해 암호화된다. 또한, 가장 바람직하게는, 본

발명에 따른 BVDV는 본 발명에 따른 N^{pro} 돌연변이를 보유하고 서열번호 2의 핵산 서열(XIKE-A-NdN 으로 표시함) 또는 이의 기능성 변이체에 의해 암호화된다. 이러한 기능성 변이체는 본 명세서에 게시된 핵산 서열과 적어도 65% 상동성인 것이 바람직하다. 핵산 수준에서의 상동성은 매우 대략적이다: BVDV-1/-BVDV-1: 80%; BVDV-1/-BVDV-2: 70%; BVDV-2/-BVDV-2: 96%. 따라서, 더욱 바람직하게는 상기 기능성 변이체는 본 명세서에 게시된 핵산 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89% 또는 90% 상동성이 있는 것이다. 더욱 바람직하게는, 그러한 기능성 변이체가 본 명세서에 게시된 핵산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% 또는 98% 상동성이 있는 것이다. 가장 바람직하게는, 그러한 기능성 변이체가 본 명세서에 게시된 핵산 서열과 적어도 99% 또는 99.9% 상동성이 있는 것이다.

<116> 가장 바람직하게는, 본 발명에 따른 BVDV는 코돈 H349가 결실된 본 발명에 따른 E^{rns} 돌연변이를 보유하고 서열번호 7의 핵산 서열(XIKE-B라 표시함) 또는 이의 기능성 변이체에 의해 암호화된다. 가장 바람직하게는 본 발명에 따른 BVDV는 E^{rns} 의 히스티딘 349를 암호화하는 코돈이 결실되고 코돈 1 내지 4를 제외한 전체 N^{pro} 암호화 영역도 결실되어 N^{pro} 의 아미노산 MELF만이 남아 있는, 본 발명에 따른 E^{rns} 돌연변이 및 N^{pro} 돌연변이를 모두 보유한 것이다. 이러한 돌연변이체는 서열번호 8의 핵산 서열(XIKE-B-NdN이라 표시함) 또는 이의 기능성 변이체에 의해 암호화된다. 이러한 기능성 변이체는 본 명세서에 게시된 핵산 서열과 적어도 65% 상동성인 것이 바람직하다. 더욱 바람직한 상기 기능성 변이체는 본 명세서에 게시된 핵산 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89% 또는 90% 상동성이 있는 것이다. 더욱 바람직하게는, 그러한 기능성 변이체가 본 명세서에 게시된 핵산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% 또는 98% 상동성이 있는 것이다. 가장 바람직하게는, 그러한 기능성 변이체가 본 명세서에 게시된 핵산 서열과 적어도 99% 또는 99.9% 상동성이 있는 것이다.

<117> 가장 바람직하게는, 본 발명에 따른 BVDV는 코돈 "H300"이 류신 코돈으로 치환된 본 발명에 따른 E^{rns} 돌연변이를 보유하고 서열번호 11(XIKE-C라 한다)의 핵산 서열 또는 이의 기능성 변이체에 의해 암호화된다. 가장 바람직하게는 본 발명에 따른 BVDV는 히스티딘 300을 암호화하는 코돈이 류신을 암호화하는 코돈으로 치환되고 코돈 1 내지 4를 제외한 전체 N^{pro} 암호화 영역도 결실되어 N^{pro} 의 아미노산 MELF만이 남아 있는, 본 발명에 따른 E^{rns} 돌연변이 및 N^{pro} 돌연변이를 모두 보유한 것이다. 이러한 돌연변이체는 서열번호 12의 핵산 서열(XIKE-C-NdN이라 표시함) 또는 이의 기능성 변이체에 의해 암호화된다. 이러한 기능성 변이체는 본 명세서에 게시된 핵산 서열과 적어도 65% 상동성인 것이 바람직하다. 더욱 바람직한 상기 기능성 변이체는 본 명세서에 게시된 핵산 서열과 적어도 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89% 또는 90% 상동성이 있는 것이다. 더욱 바람직하게는, 그러한 기능성 변이체가 본 명세서에 게시된 핵산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% 또는 98% 상동성이 있는 것이다. 가장 바람직하게는, 그러한 기능성 변이체가 본 명세서에 게시된 핵산 서열과 적어도 99% 또는 99.9% 상동성이 있는 것이다.

<118> 본 발명의 또 다른 중요한 관점은 당단백질 E^{rns} 암호화 서열의 적어도 하나의 돌연변이와 N^{pro} 암호화 서열의 적어도 하나의 돌연변이가 페스티바이러스 게놈에 생성된 것을 특징으로 하는 페스티바이러스의 약독화 방법이다. 바람직한 양태에 따르면, 상기 페스티바이러스는 BVDV이다.

<119> 더욱 바람직한 양태에 따르면, 상기 방법은

<120> a) 야생형 페스티바이러스 뉴클레오타이드 서열을 cDNA로 역전사하는 단계;

<121> b) 상기 cDNA를 클로닝하는 단계;

<122> c) 결실, 삽입 돌연변이 및/또는 치환 돌연변이로 이루어진 그룹 중에서 선택되는, 당단백질 E^{rns} 및 프로테아제 N^{pro} 를 암호화하는 암호화 서열에 위치한 돌연변이를 상기 cDNA 중에 도입시키는 단계; 및

<123> d) 상기 cDNA를 페스티바이러스 cDNA를 시험관내에서 또는 적당한 세포에 감염 시 RNA로 전사 유도할 수 있는 플라스미드 또는 DNA 바이러스 중에 혼입시키는 단계를 포함한다.

<124> 본 발명에 따른 BVDV 약독화 방법과 관련하여, 바람직한 방법은

<125> a) 야생형 BVDV 뉴클레오타이드 서열을 cDNA로 역전사하는 단계;

- <126> b) 상기 cDNA를 클로닝하는 단계;
- <127> c) 결실, 삽입 돌연변이 및/또는 치환 돌연변이로 이루어진 그룹 중에서 선택되는, 당단백질 E^{rns} 및 프로테아제 N^{pro}를 암호화하는 암호화 서열에 위치한 돌연변이를 상기 cDNA 중에 도입시키는 단계; 및
- <128> d) 상기 cDNA를, 시험관내에서 또는 적당한 세포에 감염 시 페스티바이러스 cDNA를 RNA로 전사 유도할 수 있는 플라스미드 또는 DNA 바이러스 중에 혼입시키는 단계를 포함한다.
- <129> 본 발명의 또 다른 중요한 양태는 본 발명에 따른 페스티바이러스 또는 본 발명에 따른 조성물을, 페스티바이러스 원인 질병의 치료를 필요로 하는 동물에게 당업자에게 공지된 적당한 투여량으로 투여하고 상기 페스티바이러스 감염의 증후군의 감소를 모니터링하는, 상기 페스티바이러스 원인 질병의 치료방법이다.
- <130> 본 발명의 또 다른 중요한 양태는 본 발명에 따른 BVDV 또는 본 발명에 따른 조성물을, BVDV 원인 질병의 치료를 필요로 하는 동물에게 당업자에게 공지된 적당한 투여량으로 투여하고 바이러스혈증 및 백혈구감소증 및/또는 발열 및/또는 설사와 같은 BVDV 감염의 증후군을 감소시키는, 상기 BVDV 원인 질병의 치료방법이다.

실시예

- <131> 이하 실시예는 본 발명을 더 상세히 설명하기 위한 것으로서, 본 명세서에 게시된 본 발명의 영역을 제한하는 것으로 간주되어서는 아니 된다.

<132> 실시예 1

<133> BVDV XIKE-B: 임신한 암소의 태아병원성 평가

- <134> 고병원성 BVDV 타입 2 분리체 New York'93/C의 RNase 음성 돌연변이체인 BVDV XIKE-B는 감염성 cDNA 클론 pKANE40B로부터 회수했고, 조직 배양 시 야생형(wt)에 증식 특징을 나타냈다. 동물 실험을 통해 상기 바이러스 돌연변이체가 약독화 생백신 바이러스 개발의 유망한 후보가 될 정도로 상당히 약독화된 것을 발견했다 (Meyer et al., 2002). 이러한 약독화 바이러스가 태반을 통과하여 태아를 감염시킬 수 있는지의 여부를 검사하기 위하여 임신한 암소를 XIKE-B로 감염시켰다. 대조군으로서, cDNA 클론 pKANE40A로부터 회수한 야생형 BVDV를 사용했다. XIKE-A로 표시한 각 바이러스는 감염된 세포에서 활성 E^{rns} RNase를 발현한다. 본 연구의 목표는 임신한 동물에서 XIKE-A 및 XIKE-B의 안전성을 평가하기 위한 것이다.

<135> 실험 설계

- <136> 임신한 암소 10마리를 BVDV 음성 소떼 중에서 선발했다. 본 실험에 다음과 같은 5마리 암소 그룹을 사용했다:

	수	접종	바이러스
그룹 1	5	콧구멍내 투여 1회, 각 콧구멍당 3ml	XIKE-A
그룹 2	5	콧구멍내 투여 1회, 각 콧구멍당 3ml	XIKE-B

- <138> 접종 8일 전에 암소를 실험 시설로 이동시켰다. 실험 시설로 이동 후 임신 상태를 확인했다. 접종 일에 암소의 임신 기간은 60일과 90일 사이였다. 접종은 모든 동물마다 한 시점에서 실시했다.

- <139> 관찰 기간 동안 유산을 비롯한 BVDV 감염의 임상 징후의 존재를 모니터링했다. 혈청검사, 항원 검출을 위해 동물의 혈액 시료를 채취하고 백혈구 세포를 계수했다. 본 실험은 감염 후 9주째 종결했다. 유산하지 않은 암소를 도살하고 자궁을 검사하고 수집했다. 태아 기관 시료는 통상의 부검 중에 수집하고 BVDV 감염에 대해 조사했다.

- <140> 태아 감염의 존재는 BVDV 관련 암소 사망 수, BVDV 관련 유산 수 및 실험 종결시 BVDV 양성 태아 수로 구성되는, 주요 평가 변수로 확인했다. 주요 변수외에, BVDV 감염의 특징적인 임상 징후, 바이러스혈증 및 항원 투여 후 암소의 백혈구 세포 수 및 직장 온도를 검사했다.

- <141> 동물

- <142> BVDV가 없는 농장에서 암소를 구입했다.

<143> 다음과 같은 사용 기준에 부합하는 동물만을 사용했다.

<144> 사용 기준

<145> - BVD 항체가 없는 것; 각 개체는 수술 전과 실험 초기(동물 검사 시설에서)에 혈청 항체 테스트로 검사한다.

<146> - BVDV가 없는 것; 각 개체의 혈장 및/또는 백혈구연층 제조물을 적당한 테스트로 검사한다.

<147> - 신체 검사 시 판단되는 연구 초기에 임상적으로 건강한 것. 동물의 건강 검사를 현재 일반적으로 허용되는 수의 실험 방식에 따라 실시했다.

<148> - 접종 전 신체 검사 시 임신이 확인된 것. 정액주입 기록으로 확인된 임신 기간이 접종 시점에 60일에서 90일 사이인 것.

<149> 시험 군주 A

<150>	설명:	XIKE A, 생 바이러스 BVDV 군주
	조성물:	저 계대배양성 XIKE-A의 세포 배양 상청액을 함유하는 실험 물질
	BVD 성분:	BVDV 타입 II 군주: XIKE-A
	제공원:	그레고르 메이어스 박사, "Bundesforschungsanstalt für Viruskkrankheiten der Tiere"(BFAV), Paul-Ehrlich-Strasse 28, 72076, Tübingen, Germany
	적용된 BVD 바이러스 투여량:	타입 1 군주: 10^5 TCID ₅₀ /6ml(TCID = 조직 배양물 감염 투여량)
	적용된 백신 용량:	코구멍당 3ml
	적용 경로:	비내
	투약 형태의 제조:	접종물은 예비희석된 동결 형태로 드라이아이스 상의 50ml 바이알에 넣고 접종전까지 -70℃에 보관했다. 그룹 1 암소에게 접종하기 직전에 접종물을 국소 온도가 37℃를 초과하지 않도록 하면서 해동시켰다. 유체 중에 얼음이 전혀 관찰되지 않으면 접종물을 부드럽게 교반하고 즉시 동물 접종에 사용했다.
	미사용 접종물:	사용하지 않은 접종물의 부피를 측정하고 2개의 일정량으로 분할한 후 드라이아이스 또는 액체 질소 중에서 직접 동결한 후 재역가 측정용으로 보관해두었다. 바이러스 및 오염된 플라스틱 또는 유리제품은 바이러스 불활성화를 위해 폐기하기 전에 적당한 용량의 8 내지 10% 포름알데하이드 용액 중에서 적어도 24시간 동안 실온에서 항온처리했다.

<151> 시험 군주 B

<152>	설명:	XIKE B, 생 바이러스 BVDV 군주
	조성물:	저 계대배양성 XIKE-B의 세포 배양 상청액을 함유하는 실험 물질
	BVD 성분:	BVDV 타입 II 군주: XIKE-B
	제공원:	그레고르 메이어스 박사, "Bundesforschungsanstalt für Viruskkrankheiten der Tiere"(BFAV), Paul-Ehrlich-Strasse 28, 72076, Tübingen, Germany
	적용된 BVD 바이러스 투여량:	타입 1 군주: 10^5 TCID ₅₀ /6ml(TCID = 조직 배양물 감염 투여량)
	적용된 백신 용량:	코구멍당 3ml
	적용 경로:	비내
	투약 형태의 제조:	접종물은 예비희석된 동결 형태로 드라이아이스 상의 50ml 바이알에 넣고 접종전까지 -70℃에 보관했다. 그룹 2 암소에게 접종하기 직전에 접종물을 국소 온도가 37℃를 초과하지 않도록 하면서 해동시켰다. 유체 중에 얼음이 전혀 관찰되지 않으면 접종물을 부드럽게 교반하고 즉시 동물 접종에 사용했다.
	미사용 접종물:	사용하지 않은 접종물의 부피를 측정하고 2개의 일정량으로 분할한 후 드라이아이스 또는 액체 질소 중에서 직접 동결한 후 재역가 측정용으로 보관해두었다. 바이러스 및 오염된 플라스틱 또는 유리제품은 바이러스 불활성화를 위해 폐기하기 전에 적당한 용량의 8 내지 10% 포름알데하이드 용액 중에서 적어도 24시간 동안 실온에서 항온처리했다.

<153>

- <154> 임신 기간 조절
- <155> 임신 기간은 접종 직전에 확인했다.
- <156> 암소 접종
- <157> 접종은 실험 0일째 실시했다.
- <158> 각 콧구멍마다 시험 물질 3ml을 주사바늘 없는 주사기로 비내로 투여했다. 매번 새로운 멸균 주사기를 사용했다. 투여는 달숨을 통한 유체의 손실을 최소화하기 위하여 흡인 중에 투여를 실시했다.
- <159> 접종 후 관찰
- <160> 혈액 시료의 수집 및 검사
- <161> 혈액을 표준 무균 절차(채혈 부위 소독)에 따라 수집했다. 각 동물마다 새로운 멸균 주사기와 주사바늘을 사용했다.
- <162> 혈청 제조를 위한 혈액 수집
- <163> 적어도 10ml 혈액을 접종 직전의 암소로부터, 그 다음 감염 후 매주, 그리고 연구 종결 시에 암소로부터 수집했다. 혈청은 사용 전까지 -20℃에 보관했다.
- <164> 백혈구 계수 및 백혈구연층 제조물을 위한 혈액 수집
- <165> 백혈구 계수를 위해, 혈액 3ml를 수집 후 즉시, EDTA(0.235mol/L) 0.06ml가 채워진 적당한 멸균 용기(Venoject, Terumo Europe N.V., Leuven, Belgium)로 옮겼다.
- <166> 백혈구연층 제조물을 위해, 혈액 적어도 15ml를 수집 후 즉시, 혈액 시료 중에 혈액 1ml당 적어도 20IU 헤파린을 제공하기 위해 0.1ml 헤파린 용액(주사용 Na-헤파린, 5000IU/ml lot. A7B163A 유효 기간: 11/2000: Gedeon Richter RT, Budapest, Hungary)이 미리 채워진 적당한 멸균 용기로 옮겼다. 그 다음, 내용물을 조심스럽게 혼합했다.
- <167> 백혈구연층 제조 및 백혈구 계수를 위한 혈액은
- <168> · 감염 후 0 내지 14일 동안 매일;
- <169> · 15일부터 40일까지 또는 3회 연속 시료채취 시점마다 모든 동물에서 바이러스 분리가 음성일 때까지는 이틀에 한번씩, 암소로부터 수집했다.
- <170> 혈청 제조
- <171> 혈액을 실온에서 응고시키고 원심분리하여 분리했다. 각 혈청 시료를 각각 적어도 2ml씩 2개의 부분표본으로 분리했다. 부분표본 1세트는 ELISA를 통해 BVDV 특이 항체에 대해 분석했다. 나머지 혈청은 동결하여, 이후 사용할 때까지 -20℃에 보관해두었다.
- <172> 백혈구 수
- <173> 백혈구 수는 정확도가 $0.1 \times 10^9 / 1,100 / \mu\text{l}$ 인 쿨터 계수기 반자동 전자 장치(Diatron Minicell-16; Messtechnik GmbH, Wien, Austria)로 측정했다. 이 기구는 제조자의 권장에 따라 사용했다(보정 및 백혈구 계수).
- <174> 백혈구연층의 제조
- <175> 헤파린 혈액 시료는 가능한 즉시 실험실로 옮겼다. 표준 실험 절차 후 백혈구연층 제조 절차를 무균 상태(멸균 피펫, 취급, 클린 벤치 등) 하에서 수행했다.
- <176> 수득한 백혈구연층은 소량(2ml)의 RPMI 1640에 재현탁시키고 0.5ml씩 2개의 부분표본으로 -70℃에서 동결시켰다. 나머지 1ml 백혈구연층은 증식허용 세포 배양물에서 공동 배양을 통해 혈액 세포 결합 BVDV 측정에 바로 사용했다.
- <177> BVD 혈청 항체 ELISA 테스트
- <178> 각 혈청 시료는 적당한 인증받은 ELISA 테스트(Svanovir™ BVDV 항체 검사 Cat# 10-2200-10)를 사용하여 BVDV 항체의 존재에 대해 검사했다. 테스트는 인증 받은 것으로서 제조자의 권장에 따라 수행했다. 양성 시료는 BVDV

항체 역가를 측정하기 위하여 $\log_2$ 스케일로 희석했다.

<179> BVD 항원 분석

<180> 각 백혈구연층 시료의 BVDV 존재는 새로 제조한 백혈구연층과 감수성 세포 또는 세포주와 공동 배양하여 분석했다. 공동 배양하기 전에는 동결시키지 않았다.

<181> 혈장을 수집하고 각 시료를 Man-Gene에 제공했다.

<182> 임상 관찰

<183> 암소 관찰

<184> 동물의 임상 증후군 존재는 충분히 훈련받은 수의사가 접종 후 0 내지 42일 동안 매일 검사했다.

<185> 모든 임상 징후를 기록하고, 그 특징, 일관성/축진, 병도(약, 중 또는 강) 위치 및 감염 부위 크기로 나타내었으며, 각 점수는 협정된 표준 정의에 따랐다. 호흡 징후(호흡, 호흡수; 콧물 또는 눈물; 결막염, 재채기, 기침 등) 및 설사에 특히 관심을 기울였다.

<186> 직장 온도

<187> 직장 온도는 각 암소마다 매일 같은 시간(바람직하게는 아침에)에 접종 5일전부터 감염 후 21일까지 측정했다.

<188> 매일 마다 직장 온도의 측정은 각 동물의 직장 온도가 적어도 연속 3일간 39°C 이하일 때까지 계속했다.

<189> 임신 중단 측정

<190> 임신 확인 및 태아 유산 또는 흡수의 기미는 직장 조사로 수행했다. 훈련된 수의사가 접종 시, 접종 후 1개월 및 접종 후 2개월에 모든 동물을 대상으로 조사했다. 이 조사는 일반적으로 인정받은 수의적 실습 방식에 따라 수행했다.

<191> 암소의 임의의 유산 징후는 연구 종결(항원접종 후 8 내지 12주) 시까지 매일 조사했다.

<192> 연구 종결

<193> 본 연구는 암소를 도살하고 태아를 적출하여 종결했다. 태아 및 태아 물질을 암소 번호와 날짜/시간을 표시한 밀폐 수송 용기로 옮겼다. 이 용기를 선택한 부검실로 이동시켰다.

<194> 암소 부검은 실시하지 않았다. 부검은 태아에 대해서만 실시하고 그 결과를 기록하고 시료 패널을 이하에 기술된 바와 같이 수집했다.

<195> 해부 검사

<196> 실험 동물의 세부 부검은 각 사망 케이스마다 수행했다.

<197> 해부 검사는 숙련된 수의사가 실시했고, 그 결과를 적당한 데이터 시트에 기록했다. 추가 실험 테스트는 관찰된 임상 징후 및 병변에 따라 수행했다. 부검 결과 미생물 인자에 의해 유발된 질병이라는 진단이 나오면, 그 진단을 그 미생물 인자에 특이적인 적당한 테스트로 검증했다.

<198> 각 조직 시료는 적어도 2개의 다른 표지된 용기에 수집하여, 액체 질소로 급속 동결시켰다. 시료는 필요할 때까지 -70°C 에 보관했다.

<199> 유산된 태아 및 연구 종결

<200> 적어도 다음과 같은 조직 시료를 태아로부터 수집했다:

<201> · 복강 또는 흉부(존재하는 경우) 삼출물,

<202> · 창자간막 림프절,

<203> · 비장,

<204> · 흉선,

<205> · 소뇌,

- <206> · 신장,
- <207> · 흉골 유래 골수
- <208> · 태반 유래 시료(이용가능한 경우).

<209> **사망하거나 도살된 암소**

- <210> 적어도 다음과 같은 조직 시료를 수집했다:
- <211> · 백혈구연층용 혈액(이용가능한 경우),
- <212> · 혈청용 혈액(이용가능한 경우),
- <213> · 페이에르판,
- <214> · 창자간막 림프절,
- <215> · 비장,
- <216> · 신장,
- <217> · 태반 유래 시료를 포함한 자궁(이용가능한 경우).

<218> **시료 보관 및 수송**

<219>	시료	보관
	혈청	-20℃
	백혈구연층	-70℃
	바이러스	-70℃
	암소 유래 조직	-70℃
	태아 유래 조직	-70℃

- <220> 시료는 후원자가 필요로 하는 경우 실험 분석을 위해 이송했다. 시료의 선택과 수송 시기는 연구 모니터 또는 프로젝트 매니저와 협의했다. 원칙주의로서 유산된 물질 유래의 시료 또는 신생 송아지 유래의 시료는 가능한 즉시 조사했다.

<221> **결과**

<222> **사망률**

- <223> 암소 626번(그룹 1)은 PI(접종 후) 13일째 사망했다. 다음 표는 관찰된 임상 징후 및 부검 동안 나타난 병변을 정리한 것이다.

<224>	암소	살아 있는 동안의 관찰 결과	부검 시 소견 결과
	626번	· 7 DPI 이후 질병 징후 · 7 내지 12 DPI째 눈물, 콧물 · 8 내지 12 DPI 이후 식욕 감퇴 · 11 내지 12 DPI째 설사 · 9 내지 10DPI 및 12DPI째 호흡수 상승 · 9DPI째 기침 · 12 DPI째 비정상적 호흡	· 탈수 · 장막 상의 출혈 · 페이에르판 충혈 · 폐부종

- <225> 이러한 임상 소견 및 육안 병리학적 소견은 BVDV 유도 손상과 일치하는 바, 사망 원인이 BVDV 감염이라고 결론 지을 수 있다.

<226> **감염 후 유산**

- <227> 각 그룹마다 암소 한 마리는 임상적 유산을 나타냈다. 암소 615번(그룹 1)은 PI 38일째 유산했고, 암소 469(그룹 2)는 PI 39일째 유산했다. 두 태아는 자가용해 징후를 나타냈고, 적어도 유산 3 내지 7일전에 사망한 것으로 추정되었다(약 32 내지 35 DPI).

<228> 그룹 1의 암소 526번은 종결 시 도살 검사에서 태아가 관찰되지 않았다. 자궁의 육안 병리학 검사 결과는 다음과 같다:

- <229> · 우측 자궁각이 약간 확장되었다.
- <230> · 자가용해가 진행되어 태반 잔류물이 내강에 남아 있었다.

<231> 암소 526번 자궁에 대한 소견 결과는 BVD 감염의 가능성이 가장 큰 "무증상" 유산과 일치했다.

<232> 암소의 임상적 관찰

<233> 임상적 관찰 데이터 및 그룹간 임상 징후의 지속 기간은 다음과 같다.

<234> 임상 징후 및 관찰된 때의 접종후 경과일(DPI)

<235> 그룹 1(XIKE-A)

임상 징후	동물 ID				
	526	598	615	618	626*
	DPI				
식욕 감퇴	8 - 13	8 - 18	8 - 18	8 - 16	8 - 12
눈물	7 - 10	7- 8, 10-12	8 - 10	8 - 10	7 - 8
결막염	9 - 10	9 - 12	9 - 11	9 - 11	-
콧물	7 - 13	7-9, 11-12	8 -13	8 - 12	7 - 12
구강 미란	-	-	-	-	-
구강 출혈	-	-	-	-	-
설사	-	11 - 16	10 - 15	11 - 15	11 - 12
기침	9	10, 15	9	8 - 9, 13	9
비정상 호흡	-	11 - 14	12 - 14	12 - 14	12
상승 호흡수	-	10 - 13	9 - 13	8 - 13	9 - 10, 12
발굽 미란	-	-	-	-	-

* 암소 626번은 PI 13일째 사망했다.

<236>

<237> 그룹 2(XIKE-B)

임상 징후	동물 ID				
	469	588	565	608	619
식욕 감퇴	-	-	-	-	-
눈물	-	-	-	-	-
결막염	-	-	-	-	-
콧물	-	-	-	-	-
구강 미란	-	-	-	-	-
구강 출혈	-	-	-	-	-
설사	-	-	-	-	-
기침	-	-	-	-	-
비정상 호흡	-	-	-	-	-
상승 호흡수	-	-	-	-	-
발굽 미란	-	-	-	-	-

<238>

<239> XIKE-1A로 감염된 그룹 1 동물은 모두 광범위한 임상 징후를 나타냈다. 호흡 징후는 먼저 식욕 감퇴를 동반했고, 몇일 후 암소 526번을 제외한 나머지 암소는 설사를 일으켰다. 감염 후 암소 한 마리가 사망했고, 다른 한 마리는 유산했다(상기 참조). 이러한 징후들은 모두 독성 BVDV 균주 감염 후에 예상되는 증후군과 일치한다.

<240> XIKE-B로 감염된 그룹 2 동물은 모두 임상 징후가 없었다. 이와 동시에, 암소 한 마리는 관찰 기간 동안 유사했다.

<241> 직장 온도

<242> 동물을 감염시키기 전에는 어떠한 비정상적 온도 변화가 검출되지 않았다.

<243> 그룹 2에서 0일부터 감염 후 21일까지 온도는 모두 생리적 범위 안에서 유지되었다.

<244> 그룹 1 동물은 PI 7일에서 11일 사이에 검출된 감염 후 직장 온도가 모두 상승된 것으로 관찰되었다.

<245> 연구 종결 시의 소견

<246> 연구 종결 시, 도살하여 태아를 조사했다.

<247> 암소 526번에서는 태아가 회수되지 않았다("감염 후 유산" 섹션 10.2 참조).

<248> 태아 부검 시 다음과 같은 소견이 관찰되었다:

동물 번호	소견	결론
그룹 1		
598	복수, 전신 부종, 자가용해	적어도 2주전에 사망함
618	복수, 전신 부종, 자가용해	적어도 3주전에 사망함
그룹 2		
565	복수, 전신 부종, 간 변성	태아가 생육하지 못한 것으로 간주됨
588	정상	-
608	정상, 신장주위 부종	-
619	전신 자가용해	3 내지 6주전에 사망함

<250> 이러한 소견들은 그룹 1 동물 2마리(암소 598번 및 618번)와 그룹 2 동물 1마리(암소 619번)가 적출 전 수주 전에 사망했고, 따라서 유산한 것으로 간주할 수 있음을 암시한다.

<251> **해부 소견에 의해 변조된 유산**

<252> 해부 검사 후 일부 암소들의 유산하지 않은 이유는 분명하지 않았다. 사망한 태아는 유산으로 간주되어야 한다. 따라서, 연구 종결 후 임상 영상이 다음과 같이 변조되었다:

<253> 그룹 1

동물 번호	결론
526	BVD 유산(사후 태반이 있는 자궁)
598	BVD 유산(사후 태아)
615	임상적 BVD 유산
618	BVD 유산(사후 태아)
626	BVD로 인해 사망

<255> 그룹 2

동물 번호	결론
469	임상적 BVD 유산
565	BVD 유산 추정; 태아 비생육
588	정상
608	정상
619	BVD 유산(사후 태아)

<257> **혈액 시료 검사**

<258> **백혈구 수**

<259> WBC 계수는 모든 동물에서 바이러스 분리가 음성이 된 PI 26일째 중단한다.

<260> DPI 0은 비교용의 개체 기준값으로 간주한다.

<261> 그룹 2에서, 백혈구 수는 관찰 기간 말(DPI 26)까지 기준값 보다 40% 이상까지 내려가지는 않았다.

<262> 그룹 1에서, 한 동물(암소 598)은 WBC 수가 어느 날 기준값 보다 40% 이하였다.

<263> **혈청학**

<264> 선택된 동물 중에서 감염 전 혈청 중에 BVDV 특이 항체를 보유한 동물은 없었다. 감염 후, 살아 있는 모든 그룹 1 암소는 BVDV 특이 항체를 발생시켜 PI 3주째부터 검출되었고, 모든 연구 동물에서 관찰 기간 말까지 지속되었

다. 그룹 2에서는, 암소 5마리 중 4마리가 PI 4주째부터 BVDV 특이 항체를 보이기 시작했다. 측정가능한 항체 반응은 3마리 동물에서만 관찰 기간 말기까지 지속되었다. 역가는 그룹 1보다 그룹 2에서 낮았다.

<265> 공동 배양에 의한 바이러스 검출

<266> 백혈구연층

<267> BVDV는 두 그룹에서 검출되었다. 바이러스 검출 기간은 다음과 같다. 모든 시료는 수집 후 즉시, 즉 동결 없이 공배양했다.

동물 번호	BVDV가 검출될 때의 DPI
그룹 1	
615	5-12
526	5-9
626	5-12
618	5-11, 14
598	5-11, 13
그룹 2	
565	7-9
588	8
608	6-9
469	8
619	5-11

<269> 조직 시료

<270> 사망한 암소 및 태아 중의 BVD 바이러스의 존재는 다음과 같다:

<271> 암소:

동물 번호	조직 시료 중의 BVDV
그룹 1	
626	존재 [#]

<273> 태아:

동물 번호	조직 시료 중의 BVDV
그룹 1	
615	존재하지 않음 [#]
526	NT
626	존재 [#]
618	존재하지 않음
598	존재
그룹 2	
565	존재
588	존재하지 않음
608	존재
469	존재하지 않음 [#]
619	존재하지 않음
NT = 검사 안됨	

<275> 시료는 수집 후 즉시(즉, 동결 없이) 공배양했다. 단 "#"표시된 동물은 동결 시료만을 이용할 수 있었다.

<276> BVD 관련 임상 데이터 및 실험 데이터 정리

그룹 1

동물 번호	결론	BVD
526	BVD 유산(자궁에 사후 태반 보유)	NT(시료 찾지 못함)
598	BVD 유산(사후 태아)	+(태아)*
615	임상적 BVD 유산	-(태아)*
618	BVD 유산(사후 태아)	-(태아)*
626	BVD로 인해 사망	+(태아)/(암소)
NT: 검사되지 않음		

그룹 2

동물 번호	결론	BVD
469	임상적 BVD 유산	-(태아)*
565	BVD 유산 추정; 태아 비생육	+(태아)
588	정상	-(태아)
608	정상	+(태아)
619	BVD 유산(사후 태아)	-(태아)*
* 태아는 시료 채취 시에 자가용해되었다.		

결론:

본 연구는 임신한 동물에서의 XIKE-A 및 XIKE-B의 안전성을 평가하기 위한 것이었다. 임신한 암소는 BVDV 음성 그룹중에서 선발했다. 2 그룹의 5마리 암소를 본 실험에 사용했다: 그룹 1에는 XIKE-A를 접종했고, 그룹 2에는 XIKE-B 바이러스 종을 접종했다. 접종일에 암소의 임신 기간은 60 내지 90일 사이였다.

암소의 관찰 기간 동안 유산을 비롯한 BVDV 감염의 임상 징후를 모니터링했다. 혈청학, 항원 검출 검사를 위해 동물의 혈액 시료를 수집하고, 백혈구 세포를 계수했다. 본 실험은 감염 9주 후에 종결했다. 유산하지 않은 암소는 도살하고, 자궁을 검사하고 수집했다. 태아 기관 시료는 통상의 부검 중에 수집하고 BVDV 감염을 검사했다.

태아 감염의 존재는 BVDV 관련 암소 사망률 수, BVDV 관련 유산 수 및 종결 시 BVD 양성 태아 수로 구성된 주요 평가 변수였다. 주요 변수 외에도, BVDV 감염의 특징적인 임상 징후, 바이러스혈증 및 암소의 백혈구 세포 수 및 항원투여 후의 직장 온도를 평가했다.

XIKE-B 바이러스는 XIKE-A보다 병원성이 낮은 것으로 확인되었지만, XIKE-B 그룹에서도 역시 BVD 관련 유산 및 태아 감염이 관찰되었다. 따라서, E^{rns} RNase의 불활성화가 태아 감염을 차단하지 못한다고 결론지을 수 있다.

실시예 2

BVDV XIKE-A-NdN: 임신한 암소의 태아병원성 평가

N^{pro} 유전자는 조직 배양에서 CSFV의 증식에 비필수 요소인 것으로 밝혀져 있다(Tratschin et al., 1998). BVDV 약독화가 N^{pro} 결실의 결과라는 증거는 아직 없지만, 바이러스와 숙주 사이의 상호작용에서 상기 단백질이 역할을 할 것으로 추정되며, 실제 최근 CSFV 실험에서 시사된 바 있다(Mayer et al., 2004; Ruggli et al., 2003). 이에 따라 본 발명자들은 N^{pro} 암호화 서열의 주요 부분의 결실이 임신한 암소의 태아를 더 이상 감염시키지 않는 바이러스를 유도하는지의 여부를 조사하기를 원했다. 이에, 5' 말단의 4개 코돈을 제외한 N^{pro} 유전자를 표준 절차에 따라 전장의 cDNA 클론 pKANE40A로부터 결실시켰다. 그 결과 수득되는 돌연변이 전장 클론은 시험관내 전사의 주형으로 사용했고, 그 결과 수득되는 cRNA로 문헌(Meyer et al., 2002)에 기술된 바와 같이 MDBK 세포를 형질감염시켰다. 회수된 바이러스를 조직 배양을 통해 증폭시킨 후 다음과 같은 동물 실험에 사용했다. BVDV XIKE-B는 앞에서 확인된 바와 같이 태반을 통과할 수 있는 바 대조군으로 사용했다(실시예1).

연구 목표/목적

<290> 본 연구의 목표는 계놈에서 N^{pro} 암호화 영역의 대부분이 결실된 생 약독화 BVDV가 임신한 동물에서 안전한지의 여부를 평가하기 위한 것이다.

<291> 사용된 재료 및 방법은 실시예 1에 기술된 바와 같다.

<292> 연구 설계

<293> 임신한 암소 8마리를 2 그룹으로 무작위로 나누었다. 이 암소들을 다음과 같은 스케줄에 따라 처리하고 관찰했다:

	그룹 1	그룹 2
N	5	3
처리	XIKE-A-NdN	XIKE-B/대조군
경로	근육내	
백신접종 시기	임신 60 내지 90일 사이(연구 0일째)	
백신접종 후 관찰(살아 있는 동안)	· 임상 징후 · 0일, 14일, 28일, 42일 및 종결 시의 혈청 · 0일 및 그 후 14일간 매일의 WBC · 0일 및 그 후 14일간 매일의 백혈구연층	
사후(60일)	· 육안 병리상태 · 바이러스 분리용 기관 패널	

<295>	연구 형태:	개방 조절식 임상 연구
	실험 유닛:	각 동물
	맹검법:	부분맹검. 맹검 및 처리 스케줄 개시에 대한 세부 절차는 알리지 않았다. 연구 위치에서의 관찰 수의사와 병리학자는 처리를 인식하지 못했다. 이들은 오로지 자신들의 임무에 관한 프로토콜 초본을 받았다. 백신접종은 연구자 또는 이의 수탁자에 의해서 수행되었다. 바이러스 분리용 시료는 모든 결과가 나올 때까지 연구자의 코드로 표시되었다.

<296> 결과

<297> 모든 암소는 건강했고 연구 개시 시 임신 상태였다. 모든 동물은 연구 개시 전에는 BVDV 및 BVDV 항체가 없는 것으로 확인되었다.

<298> 감염에 사용된 바이러스의 제조 및 대조 조사

<299> 시료는 희석 단계를 통해 수집하고, 적당한 조직 배양으로 공배양하여 제조일, 즉 동결없이 분석했다. 바이러스 역가의 결과는 다음과 같다.

시료 ID	바이러스 균주	희석/설명	Log10 역가/ml
VT1a	XIKE-A/NdN (S)	1:2(4℃)	4.4
VT1b		열지 않고 얼음상에서 #2a	4.0
VT1c		#2b 복귀	2.8
VT2a	XIKE-B	1:2.2(4℃)	2.3
VT2b		열지 않고 얼음상에서 #3a	2.8
VT2c		#3b 복귀	음성

<301> BVDV 감염의 임상적 증상

<302> 이하 표는 관찰 기간 동안의 임상 징후를 나타낸 동물에 대하여 정리한 것이다.

<303> 임상 징후 및 이 징후가 관찰될 때의 접종후 경과일(DPI)

<304>

그룹 1(XIKE-A NdN)

그룹 2(XIKE-B)

임상 징후	동물 ID
	1583
식욕 감퇴	8
눈물	-
결막염	-
코물	-
구강 미란	-
구강 출혈	-
설사	-
기침	-
비정상 호흡	-
상승 호흡수	-
발굽 미란	-

동물 ID	
1438	1585
-	10
-	-
-	-
-	-
-	-
-	-
12	10-13
-	-
-	-
-	-

<305>

<306>

각 그룹의 일부 동물에서만 약한 일시적인 임상 징후가 관찰되었다. 그룹 1의 경우, 암소 5마리 중 1마리에서 PI 8일째 식욕 감퇴가 나타났다. 그룹 2의 경우, 암소 3마리 중 2마리에서 임상 징후가 나타났다. 즉, 암소 2마리는 PI 21일경에 기침을 했고, 이 중 1마리는 식욕 감퇴도 동반했다.

<307>

직장 온도

<308>

동물에게 접종하기 전에는 비정상적 온도 변화가 검출되지 않았다. 접종 후 측정된 온도 상승의 몇몇 증례는 다음 표에 정리한 바와 같다.

<309>

그룹	동물 ID	온도(℃)	PI 경과일
1	1583	39.9	8
	1621	39.0	5
2	1438	39.0	2
	1585	40.8	9

<310>

각 그룹의 동물 1마리에서 약간 상승된 온도가 관찰되었고, 또한 각 그룹의 동물 1마리는 열이 있었다. 열은 PI 8일 또는 9일째 검출되었다. 온도는 항상 다음 날 정상 수치로 돌아왔다.

<311>

백혈구 수

<312>

PI 3일 내지 8일 사이에 모든 그룹에서 약간의 백혈구감소증이 관찰되었다. 백혈구 세포 수가 40% 이상 감소한 동물 수는 다음과 같다:

<313>

그룹	백혈구감소증이 있는 동물 수/전체 수
1	3/5(60%)
2	1/3(33%)

<314>

혈청학(BVDV 항체)

<315>

연구 프로토콜에 따르면, 백신접종 전 모든 암소에는 BVDV 항체가 없었다. 그룹 1(XIKE-A NdN 접종) 및 그룹 2(XIKE-B 접종)에서는 연구 종결(접종 후 2개월 후) 시에만 완전한 혈청전환이 검출되었다.

<316>

백혈구연충으로부터의 BVD 바이러스 분리

<317>

바이러스혈증은 전혀 검출되지 않았다.

<318>

태아 조직 시료로부터의 BVD 바이러스 분리

<319>

	그룹 1	그룹 2
N	5	3
처리	XIKE-A-NdN	XIKE-B/대조군
경로	근육내	근육내
태아 전파가 검출된 태아 수	태아 5마리 중 4마리가 감염됨	태아 3마리 중 2마리가 감염됨

처리에 사용된 바이러스에 대한 결론은 태반을 통해 전파될 가능성이 있다는 점이다.	XIKE-A-NdN의 태아 전파 관찰	XIKE-B의 태아 전파 관찰
---	----------------------	------------------

<320> **결론**

<321> N^{pro} 결실은 고병원성(Meyer et al., 2002)으로 확인된 모 바이러스 XIKE-A에 비해 상당히 약독화된 BVDV였다. 하지만, N^{pro} 결실만으로는 임신한 암소 접종 후 NY93계 바이러스 재조합체의 태아로의 전파가 차단되지 않았다.

<322> **실시예 3**

<323> **BVDV XIKE-B-NdN: 임신한 암소의 태아병원성 평가**

<324> BVDV 약독화 및 태아 전파와 관련하여 RNase 불활성화 및 N^{pro} 결실의 조합의 가능성을 검사하기 위하여 N^{pro} 암호화 영역에 결실이 있는 여러 BVDV-2 돌연변이체를, 코돈 349가 결실된 pKANE40A의 RNase 음성 돌연변이체인 감염성 cDNA 클론 pKANE40B를 기반으로 제조했다. 회수된 바이러스를 목적인 돌연변이의 존재, 도입된 변화 인접 영역에 제2 부위 돌연변이의 부재 및 조직 배양에서의 증식 특징에 대하여 분석했다. 코돈 1 내지 4를 제외한 전체 N^{pro} 암호화 영역이 결실되고 뿐만 아니라 코돈 349의 RNase 불활성화 결실을 함유하는 변이체인 XIKE-B-NdN(V-pK88C)는 적당한 증식 특징과 목적인 돌연변이가 조합되어 있기 때문에 동물 실험에 사용했다. 본 연구의 목적은 임신한 동물에서의 생 약독화 BVDV 분리체의 안전성을 평가하는 것이다.

<325> BVDV 음성의 임신한 암소 5마리에게 감염 용량의 10^5 TCID₅₀/동물 XIKE-B-NdN(역 역가 타이터는 표 3.1에 정리한 바와 같다)을 비내로 접종했다. 임상 데이터는 매일 기록했다. 백혈구 세포 계수, 백혈구연층 제조 및 혈청학 검사를 위해 혈액 시료를 수집했다. 연구 종결 후 바이러스 분리를 위해 태아 조직을 수집했다.

<326> **재료 및 방법**

<327> 세부 내용은 실시예 1과 같다.

<328> **결과**

<329> 임상 데이터는 관찰하지 않았다(데이터 미제시). 백혈구 수는 암소 1015에서 어느 날(p.i. 6일) 기준값보다 약 40% 정도 현저히 감소한 것을 제외하고는 사실상 변화가 없었다(데이터 미제시).

<330> **백혈구연층 제조물 분석:**

<331> 약 10^6 백혈구를 24웰 조직 배양판에서 MDBK 세포와 2회 5일 동안 배양했다. 시료는 2회 동결 해동시켰다. 해동된 시료 100 μ l 부분표본을 새로 접종된 24웰 조직 배양판에 접종하고 간접 면역형광 염색법(비구조 단백질 NS3 중의 보존성 에피토프에 대하여 지향성인 mAb Code 4)으로 바이러스를 검사했다. 양성 대조군이 검사의 정확한 유도작용을 분명히 나타낸 반면, 동물 921번, 1013번, 1015번, 1055번 및 1075번의 백혈구연층 제조물에서는 BVDV가 전혀 분리되지 않았다(표 3.2).

<332> **b) 태아 조직의 해부 검사**

<333> 연구 종결후, 바이러스 분리를 위해 다음과 같은 태아 조직을 수집했다: 비장, 신장, 흉선, 흉골, 소뇌, 태반, 소장 및 복수. 간략히 설명하면, 조직 현탁액은 Ca^{2+} 와 Mg^{2+} 가 없는 빙냉한 PBS 및 멸균 해사를 이용하여 모르타르에서 제조했다. 모르타르는 Ca^{2+} 와 Mg^{2+} 가 없는 빙냉 PBS 1ml로 세척하고, 현탁액은 2000xg(4°C)에서 10분 동안 원심분리했다. 상층액은 먼저 일회용 0.45 μ m 필터 홀더를 통해 통과시킨 후 그 다음 필터(0.2 μ m 세공 크기)를 통과시켰다. 바이러스 분리는 24웰 조직 배양판(37°C, 7% CO₂) 중의 MDBK 세포 단층 상에서 2회(태아 조직 현탁액 400 μ l 또는 태아 복수 100 μ l) 수행했다. 조직 시료는 세포 병원성 효과 또는 세균 오염에 대해 매일 대조 조사하고, 5일간 항온배양한 후 평판을 2회 동결 및 해동시켰다. 시료 100 μ l를 새로 접종된 MDBK 세포에 계대배양했다. 바이러스 검출은 간접 면역형광 염색법(mAb 코드 4)으로 수행했다. 조직 시료 또는 태아 복수에서는 어떠한 BVDV도 검출되지 않았다(표 3.3).

c) 혈청학적 소견

혈청 중화 역가는 접종 전, 접종 후 1개월 후 및 연구 종결 시에 측정했다. 모든 동물의 혈청은 NY93/C에 대한 중화성 항체에 대하여 3회 검사하고, 최종 회식물을 간접 면역형광 염색법으로 판독했다. 결과는 약 100 TCID₅₀을 중화시키고 케버(Kaerber)법으로 계산한 최종 회식률로서 나타났다. 혈청은 최고 1:16의 회식률에서 MBDK 세포에 대해 독성이었고 이보다 높은 회식률에서는 중화 반응을 전혀 검출할 수 없었는 바, 감염 0일, 1주 및 2주 후에는 어떠한 명확한 데이터를 취득할 수 없었다. 백신접종 3주 후부터 모든 동물에서 실험 말까지 지속되는 상동성 BVDV-2 바이러스 NY'93/C에 대한 중화 항체가 형성되었다(표 3.4 및 도 1).

d) 결론

동물 연구에서 취득된 데이터를 보면, BVDV XIKE-B-NdN이 고도로 약독화된 바이러스임을 분명히 알 수 있다. 임신한 암소에서 높은 비율로 태아 전파를 나타내는 야생형 바이러스 또는 단독 돌연변이체 XIKE-B 또는 XIKE-A-NdN과 대조적으로, 이중 돌연변이체는 태반을 통과하지 못했다. BVDV XIKE-B-NdN은 물론 이와 유사한 이중 돌연변이체는 생 약독화 백신에 사용하기에 매우 적합하다.

연구 번호: B01 BIVI020 및 B01 BIVI022

[표 3.1]

바이러스 역적정

시료 ID	바이러스 균주	회식	역가
1a	XIKE-B-NdN	농축 바이러스	$10^{5.44}$ TCID ₅₀ /ml
1		1:4	$10^{4.86}$ TCID ₅₀ /ml
6		감염 잔여물(#1)	$10^{4.27}$ TCID ₅₀ /ml

백신접종 후 검파일

동물 ID번호	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
0921	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	1. 분리 2. 분리
1013	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	1. 분리 2. 분리
1015	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	1. 분리 2. 분리
1055	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	1. 분리 2. 분리
1075	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	1. 분리 2. 분리
날짜	13.12 2001	14.12 2001	15.12 2001	16.12 2001	17.12 2001	18.12 2001	19.12 2001	20.12 2001	21.12 2001	22.12 2001	23.12 2001	24.12 2001	25.12 2001	26.12 2001	27.12 2001	

- 시료 유형

[표 3.2]

<342>

<343>

BVDV 존재에 대한 태아 조직 시료의 분석

동물 번호	부수	흉수	황자 간막 염포절	비장	신장	흉선	골수 (흉골)	소뇌	태반	소장	조직 수집일	분리
0921	---	NC	NC	---	---	---	---	---	---	---	12.02.02	1. 분리 2. 분리
1013	---	NC	NC	---	---	---	---	---	---	---	12.02.02	1. 분리 2. 분리
1015	---	NC	NC	---	---	---	---	---	---	---	12.02.02	1. 분리 2. 분리
1055	---	NC	NC	---	---	---	---	---	---	---	12.02.02	1. 분리 2. 분리
1075	---	NC	NC	---	---	---	---	---	---	---	12.02.02	1. 분리 2. 분리

NC = 수질 안렴
- = 시료 양성

[표 3.3]

[표 3.4]

동물 ID 번호	전달시	ACC 동안	암소 유래							
			1 wPV	2 wPV	3 wPV	4 wPV	5 wPV	6 wPV	7 wPV	8 wPV
0921		*	*	*	1:40 ⁽²⁾	1:161 ⁽¹⁾	1:256 ⁽¹⁾	1:323 ⁽¹⁾	1:128 ⁽¹⁾	1:256 ⁽¹⁾
1013		*	*	*	1:3 ⁽²⁾	NA	1:161 ⁽¹⁾	1:323 ⁽¹⁾	1:406 ⁽¹⁾	1:256 ⁽¹⁾
1015		*	*	*	1:64 ⁽²⁾	1:161 ⁽¹⁾	1:256 ⁽¹⁾	1:323 ⁽¹⁾	1:406 ⁽¹⁾	1:323 ⁽¹⁾
1055		*	*	*	1:32 ⁽²⁾	1:40 ⁽²⁾	1:256 ⁽¹⁾	1:323 ⁽¹⁾	1:406 ⁽¹⁾	1:406 ⁽¹⁾
1075		*	*	*	NA	1:128 ⁽²⁾	1:102 ⁽¹⁾	1:203 ⁽¹⁾	1:161 ⁽¹⁾	1:406 ⁽¹⁾
날짜		06.12.2001	20.12.2001	27.12.2001	03.01.2002	10.01.2002	17.01.2002	24.01.2002	31.01.2002	07.02.2002

B01 BIV1022 / BVDV XIKE-B-NdN; 태아 방어 연구
혈청 중화 분석

(1) 1456 Nase(=NY93/C) $10^{2.03}$ TCID₅₀/50 μ l에 대한 SNT

(2) 1456 Nase(=NY93/C) $10^{1.57}$ TCID₅₀/50 μ l에 대한 SNT

* 최고 1:16 희석률에서 MBDK 세포에 대해 독성인 혈청 ⇒ 데이터 유효하지 않음

NA : 데이터 유효하지 않음.

NY93/C에 대한 혈청 중화 분석 결과는 도 1에 도시했다.

효능 및 교차방어 연구

약독화 바이러스 돌연변이체 BVDV XIKE-B 또는 BVDV XIKE-B-NdN을 이용한 백신접종과 관련하여 2가지 가능한 문제점에 직면해야 했다. 그 하나는 BVDV-1 및 BVDV-2 사이의 교차 방어에 대한 일반적인 문제다. 최소한 불활성화된 BVDV-1 백신을 이용한 백신접종은 임신한 동물의 태아로의 BVDV-2의 전파를 차단하지 못했다. 태아 감염에 대한 방어는 항BVDV 백신접종의 주요 목적인 바, 이러한 백신은 광범위하게 방어 면역을 유도하는 것이라 간주될 수 없다. 따라서, 생 약독화 BVDV-2의 백신접종은 태아로의 바이러스 전파를 차단할 수 있는지 여부가 의문시된다. 다른 하나는, BVDV XIKE-B-NdN의 증식을 감소가 임신한 암소의 태아로의 태반을 통과한 감염을 차단할 수 없을 정도로 단지 낮은 방어율을 제공할 뿐일 수 있다는 점이다. 이러한 문제를 해결하기 위해 동물 연구를 시작했다. 동물(각각 10마리씩 2 그룹)에게 BVDV XIKE-B 또는 XIKE-B-NdN(의도 투여량: 10^5 TCID₅₀ 바이러스 상청액 1ml; 역적정은 표 3.5에 제시한 바와 같다)을 백신접종했다. 백신접종되지 않은 대조 그룹의 1마리가 어느

날 약한 기침을 하는 것을 제외하고는 백신접종 후 유의적인 임상 징후를 나타내는 동물은 없었다. 직장 온도 역시 백신접종되지 않은 대조 그룹의 1마리가 어느 날 39.1℃인 것을 제외하고는 모두 39℃ 이하였다. 백신접종 후 제조된 백혈구연충 시료도 바이러스 존재에 대해 전술한 바와 같이 분석했다. 이 실험에서는 동물 20마리 중 5마리만이 감염 후 4 내지 8일 후에 1 또는 2일 동안 혈액에 바이러스를 함유한 것으로 관찰되었다(표 3.6).

[표 3.5]

백신접종에 사용된 바이러스의 역적정

시료 ID	바이러스 균주	희석	역가
1a	XIKE-B-NdN	농축 바이러스	$10^{5.44}$ TCID ₅₀ /ml
1		1:4	$10^{4.86}$ TCID ₅₀ /ml
6		감염 잔여물 (#1)	$10^{4.27}$ TCID ₅₀ /ml
3	XIKE-B	1:11	$10^{5.76}$ TCID ₅₀ /ml
4		1:110	$10^{4.92}$ TCID ₅₀ /ml
5		감염 잔여물 (#4)	$10^{4.27}$ TCID ₅₀ /ml

[표 3.6]

동물 ID 번호	백신접종 후 경과일														결과
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1134 ⁽²⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리
1141 ⁽¹⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리
1142 ⁽¹⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2. 분리
1145 ⁽²⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리
1149 ⁽¹⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2. 분리
1151 ⁽²⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리
1152 ⁽²⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2. 분리
1156 ⁽²⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리
1158 ⁽¹⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2. 분리
1160 ⁽²⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리
날짜	13.12.2001	14.12.2001	15.12.2001	16.12.2001	17.12.2001	18.12.2001	19.12.2001	20.12.2001	21.12.2001	22.12.2001	23.12.2001	24.12.2001	25.12.2001	26.12.2001	27.12.2001

연구 번호/ID.: B01 BIV1020 / BVDV Tm XIKE-B/XIKE-B-NdN; 태아 방어 연구
백신접종 후 수집한 백혈구 세포(백혈구연충) 제조물 접종

동물 ID 번호	백신접종 후 경과일															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
1197 ⁽¹⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리 2. 분리
1200 ⁽¹⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리
	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2. 분리
1206 ⁽²⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리
	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0+	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2. 분리
1210 ⁽²⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리
1212 ⁽¹⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0+	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리
	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2. 분리
1214 ⁽¹⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리
	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2. 분리
1216 ⁽²⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리
	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2. 분리
1217 ⁽¹⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0+	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리
1218 ⁽¹⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리
	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2. 분리
1225 ⁽²⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리
	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2. 분리
합계	13.12 2001	14.12 2001	15.12 2001	16.12 2001	17.12 2001	18.12 2001	19.12 2001	20.12 2001	21.12 2001	22.12 2001	23.12 2001	24.12 2001	25.12 2001	26.12 2001	27.12 2001	

<359>

<360> 면역형광 염색법: 코드 4

<361> □ 시료 음성

<362> + 시료 양성

<363> B 웰에 세균 오염

<364> 동물 번호 코드:

<365> ⁽¹⁾ BVDV XIKE-B(RNase 돌연변이체) 백신접종

<366> ⁽²⁾ BVDV XIKE-B-NdN(RNase 및 N^{pro} 이중 돌연변이체) 백신접종

<367> 백신접종 4주 후, 동물 수정을 실시했다. 항원투여 감염은 BVDV-1 균주(BVDV KE-9, 이중 항원투여, XIKE-B 백신 접종된 동물) 또는 이중 BVDV-2 균주(BVDV KE-13, 동종 항원투여, XIKE-B-NdN 백신접종된 동물)(의도 투여량: 10⁵ TCID50 6ml, 역적정은 표 3.7에 정리한 바와 같다)를 사용하여 60일 내지 90일 후에 실시했다. 백신접종된 동물 각 그룹 중에서 5마리 임신한 암소를 항원투여 감염을 위해 무작위로 선발했다. BVDV XIKE-B 백신접종된 동물은 BVDV-1 균주 KE-9로 항원투여하고, BVDV XIKE-B-NdN 백신접종된 암소는 BVDV-2 KE-13으로 항원투여했다. 또한, 백신접종하지 않은 대조군 동물 2마리는 각 항원투여 바이러스로 감염시켰다.

연구 번호/Id: B01 BIVE020/BVDV Tu XIKE-B-NdN; 태아 방어 연구

[표 3.7]

항원투여 바이러스 역적정

바이러스 균주	시료 ID	역가 (TCID ₅₀ / ml)	평균 역가 (TCID ₅₀ / ml)
KE 9	1	10 ^{4.44}	10 ^{4.94}
		10 ^{5.10}	
	2	10 ^{4.69} *	10 ^{4.44}
	3	**	
KE13	1	10 ^{4.69}	10 ^{4.76}
		10 ^{4.82}	
	2	10 ^{4.57}	10 ^{4.63}
		10 ^{4.69}	
	3***	10 ^{3.5}	10 ^{3.5}

시료 1: 접종물 스탁

시료 2: 안정화 후 접종물 스탁

시료 3: 과량의 접종물

* KE9 2차 접종, 시료 2는 세포 사망으로 인해 해독이 불가능했다.

** KE9, 시료 3은 세포 사망 또는 세균 오염으로 인해 해독이 불가능했다.

*** KE13 1차 접종, 시료 3은 세균 오염으로 인해 해독이 불가능했다.

백신접종된 동물은 항원투여 감염 시 바이러스혈증 또는 임상 증후군을 나타내지 않았다. 항원투여는 백신접종되지 않은 대조군이 모두 BVDV 양성이었던 바 성공적이었다(표 3.8). 대조군에서는 약한 질병 징후만이 관찰되었다. 백혈구 세포 수는 거의 정상이었다(제시하지 않음).

연구 번호/Id : B01 BIV1020 / BVDY TH XIKE-B/XIKE-B-NDN: 데이 망어 연구
항원투여 후 수집된 배월구 세포(배월구연중) 계조물의 검출

동물 ID 번호	백신접종 후 경과일																분리
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	
1104 ⁽¹⁾	00	00	00	0+	++	++	0+	00	00	00	00	00	00	00	00	00	1. 분리 2. 분리
1108 ⁽³⁾	00	00	00	00	++	++	0+	00	00	00	00	00	00	00	00	00	1. 분리 2. 분리
1126 ⁽³⁾	00	00	++	0+	++	0+	00	0+	0+	00	00	00	00	00	00	00	1. 분리 2. 분리
1145 ⁽²⁾	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	1. 분리 2. 분리
1151 ⁽²⁾	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	1. 분리 2. 분리 3. 분리
1152 ⁽²⁾	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	1. 분리 2. 분리 3. 분리
1156 ⁽²⁾	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	1. 분리 2. 분리 3. 분리
날짜	04.22 2002	04.25 2002	04.27 2002	04.29 2002	05.01 2002	05.03 2002	05.05 2002	05.07 2002	05.09 2002	05.11 2002	05.13 2002	05.15 2002	05.17 2002	05.19 2002	05.21 2002	05.23 2002	

동물 ID 번호	백신접종 후 경과일																
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	
1197 ⁽¹⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리 2. 분리 3. 분리
1200 ⁽¹⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리 2. 분리
1214 ⁽¹⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리 2. 분리 3. 분리
1216 ⁽²⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0 0/0 0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리 2. 분리 3. 분리
1217 ⁽¹⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리 2. 분리 3. 분리
1218 ⁽¹⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리 2. 분리
1249 ⁽³⁾	0/0	0/0	0/0	0/0	++	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1. 분리 2. 분리
날짜	04.22 2002	04.25 2002	04.27 2002	04.29 2002	05.01 2002	05.03 2002	05.05 2002	05.07 2002	05.09 2002	05.11 2002	05.13 2002	05.15 2002	05.17 2002	05.19 2002	05.21 2002	05.23 2002	

<380>

<381> 면역형광 염색법: 코드 4

<382> □ 시료 음성

<383> + 시료 양성

<384> B 웰에 세균 오염

<385> 동물 번호 코드:

<386> ⁽¹⁾ BVDV XIKE-B(RNase 돌연변이체) 백신접종

<387> ⁽²⁾ BVDV XIKE-B-NdN(RNase 및 N^{pro} 이중 돌연변이체) 백신접종

<388> ⁽³⁾ 백신접종되지 않은 대조군

<389> 혈청 중화 역가는 접종 전, 접종 후 1개월 후, 항원투여 전, 항원투여 1개월 후 및 연구 종결 시에 측정했다. 모든 동물의 혈청은 KE9 및 NY93/C(1456Nase)에 대한 중화 항체에 대해 3회 시험하고, 최종 희석물을 간접 면역형광 염색법으로 판독했다. 결과는 약 100 TCID₅₀을 중화시키고 케버(Kaerber)법으로 계산된 최종 희석물로서 나타냈다. 더 높은 항체 역가 일부에서는 사용된 최종 희석물이 그다지 높지 않았다. KE9에 대하여 XIKE-B 백신접종된 동물은 유일하게 약 4주부터 낮은 항체 역가를 발생시켰다. 항원투여 시, 모든 동물은 항체 역가를 나타냈

고, 항원투여 4주경부터 상당히 증가되었다. XIKE-B 백신접종된 동물은 XIKE-B-NdN 백신접종된 동물보다 높은 항체 역가를 나타냈다. 모든 동물은 백신접종 4주 후에 NY93/C에 대한 거의 동일한 중화 역가를 발생시켰고, XIKE-B-NdN 백신접종된 동물에서 최저 역가가 나타났다. 항원투여 후, 모든 동물은 높은 항체 역가를 나타냈다. 도 2는 KE9(BVDV-1)에 대한 혈청 중화 분석을 도시한 것이고, 도 3은 NY93/C(BVDV-2)에 대한 혈청 중화 분석을 도시한 것이다.

연구 종결 시 태아로부터 수득한 조직 시료의 분석 결과, 백신접종된 동물에서 수득된 시료는 음성 결과를 나타내는 반면 대조 동물 4마리에서 모두 전파가 발생된 것으로 확인되었다(표 3.9). 즉, 확립된 BVDV-2 돌연변이는 효율적인 교차 방어 백신 바이러스로서 매우 적합하다는 것이 분명하다.

[표 3.9]

동물 번호	복수	홍수	청지 간막 림프절	소장	비장	흉선	신장	골수 (골)	소뇌	태반	조직 수집일
1214 ⁽¹⁾	NA	NA	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	17.06.02
1126 ⁽³⁾	++	***	++	++	++	++	++	++	++	++	17.06.02
1249 ⁽³⁾	++	NA	++	++	++	++	++	++	++	Ø+	17.06.02
1218 ⁽¹⁾	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	ØØ**	17.06.02
1197 ⁽¹⁾	ØØ	NA	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	17.06.02
1217 ⁽¹⁾	ØØ	NA	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	17.06.02
1200 ⁽¹⁾	ØØ	NA	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	17.06.02

연구 번호/Id.: B01 BVT020 / BVDV-TU XIKE-B/XIKE-B-NdN; 태아 방어 연구
BVDV 존재에 대한 태아 조직 시료 분석

동물 번호	복수	홍수	창자 간막 염프렐	소장	비장	흉선	신장	골수 (홍수)	소녀	태반	조직 수집일
1145 ⁽²⁾	00	NA	00	00	00	00	00	00	00	00	21.06.02
1108 ⁽³⁾	+0	NA	++	++	++	++	++	++	++	00	21.06.02
1156 ⁽²⁾	00	NA	00	00	00	00	00	00	00	00	21.06.02
1104 ⁽³⁾	++	NA	++	++	++	++	++	++	++	+	21.06.02
1216 ⁽²⁾	00	NA	00	00	00	00	00	00	00	00	21.06.02
1151 ⁽²⁾	NA	NA	00	00	00	00	00	00	00	00	21.06.02
1152 ⁽²⁾	00	NA	00	00	00	00	00	00	00	00	21.06.02

NA = 유효하지 않음.

* 암소 1218번의 자궁에서는 태아가 발견되지 않았다.

** 자궁내막(조직 검사를 위해 수집함)

*** BFA 튜빙젠으로 보내지 않은 시료

동물 번호 코드:

(1) BVDV XIKE-B(RNase 돌연변이체) 백신접종

(2) BVDV XIKE-B-NdN(RNase 및 N^{pro} 이중 돌연변이체) 백신접종

(3) 백신접종되지 않은 대조군

결론

항원투여는 백신접종되지 않은 대조군이 모두 BVDV 바이러스혈증이고 백신접종되지 않은 대조군의 태아가 모두 BVDV 양성이었던 바 성공적이었다.

- <404> 두 분리체는 본 시험 및 분석 조건 하에서 완전한 방어를 부여했다. 단독 유전자 마커를 보유한 분리체 XIKE-B는 항원투여 후 BVD 바이러스혈증 및 태아로의 전파를 통해 타입 1 BVDV 항원투여에 대하여 교차방어하는 것을 알 수 있었다. 이중 유전자 마커를 보유한 분리체 XIKE-B-NdN은 항원투여 후 BVD 바이러스혈증 및 태아로의 전파를 통해 이중 타입 2 BVDV 항원투여에 대하여 완전히 방어할 수 있었다.
- <405> 1. 분리체 XIKE-B(타입 2 분리체)는 본 시험 및 분석 조건 하에서 항원투여 후 BVD 바이러스혈증 및 태아로의 전파를 통해 타입 1 BVDV 항원투여에 대하여 교차 방어하는 것으로 나타났다(n=4).
- <406> 2. 분리체 XIKE-B-NdN(타입 2 분리체)는 본 시험 및 분석 조건 하에서 항원투여 후 BVD 바이러스혈증 및 태아로의 전파를 통해 이중 타입 2 BVDV 항원투여에 대하여 완전히 방어했다(n=5).
- <407> **실시예 4**
- <408> **N^{pro} 돌연변이체의 구축**
- <409> N^{pro} 결실된 BVDV-2 돌연변이체의 추가 분석. 계놈의 N^{pro} 암호화 영역이 결실된 다른 돌연변이체를 구축했다. 먼저, 순수 결실 또는 점 돌연변이를 수반한 결실을 도입시켰다.
- <410> A: [N^{pro}]₁-[C 말단];
- <411> B: [N^{pro}]₃-[C 말단];
- <412> C: [N^{pro}]₄-[C 말단];
- <413> D: [N^{pro}]₆-[C 말단];
- <414> E: [N^{pro}]₄-[C 말단*]
- <415> 상기 식에서, [N^{pro}]_x는 변이된 다단백질 아미노산에 남아 있는 N^{pro} 의 아미노말단 잔기 수를 나타내고, [C 말단]은 N^{pro} 를 제외한 완전한 다단백질이며(C 단백질에서 시작해서 NS5B로 끝난다), [C 말단*]은 [C 말단]과 동일하나 C 단백질의 2번 위치에 돌연변이(D 대신에 N)를 보유한 것이다.
- <416> 회수된 바이러스의 증식률은 야생형 XIKE-A 또는 RNase 음성 돌연변이체 XIKE-B에 비해 상당히 낮았다. 이러한 현상에 대하여 2가지 설명이 가능하다: (i) 바이러스 군주에 따라 N^{pro} 암호화 영역 중 다양한 길이의 서열이 효과적인 해독 개시에 필수적이다(Myers et al., 2001; Tautz et al., 1999); (ii) 캡시드 단백질의 아미노말단과 추가 서열의 융합은 캡시드 단백질 기능을 방해한다.
- <417> N^{pro} 결실 돌연변이의 증식 속도를 높이기 위하여, N^{pro} 유전자의 대부분 대신에 소 LC3 암호화 서열의 단편 또는 소 유비퀴틴 유전자를 사용하여 제2 돌연변이 세트를 제조했다. 이들 작제물은 효과적인 해독을 허용하고 정확한 아미노 말단을 보유한 캡시드 단백질을 생성했다.
- <418> [N^{pro}]₂₂-[PS]-[C 말단]
- <419> (여기서, PS는 유비퀴틴 또는 LC3이고, C 말단은 N^{pro} 을 제외한 전체 다단백질(C 단백질부터 NS5B까지)이다.
- <420> 이러한 돌연변이체의 증식률은 XIKE-A와 매우 유사했다. 식 [N^{pro}]₂₂-[PS]-[C 말단]에 따른 두 RNase 양성 바이러스, V-pK87F 및 V-pK87G는 심지어 증식 지연을 전혀 나타내지 않는 것으로 보인 반면, RNase 음성 상응체인 V-pK88G는 또 다시 앞서 기술된 돌연변이보다는 적은 정도지만 전파가 다소 방해되었다.
- <421> N^{pro} 결실 돌연변이체의 또 다른 예는 다음과 같다:
- <422> MESDEGSK...
- <423> MELFSSDEGSK...

- <424> *MELFSNESDEGSK...*
 <425> *MELFSNELSDEGSK...*
 <426> *MELFSNELLSDGSK...*
 <427> *MELFSNELLYSDEGSK...*
 <428> *MELFSNELLYKSDGSK...*
 <429> *MELFSNELLYKTSDEGSK...*

<430> *MELFSNELLYKT*는 BVDV 분리체 New York93/C의 N^{pro}의 아미노말단 서열이다.

<431> 또한, 이 서열에 하나 또는 여러 돌연변이를 보유한 변이체를 사용할 수도 있다. 특히 다른 페스티바이러스에서 발견되듯이 자연 발생의 변이는 기능성인 것으로 예상된다. 따라서, N^{pro}의 아미노말단 단부의 여러 부분을 보유한 시험 또는 제안된 변이체의 전체 목록은 아미노산 교환이 있는 동등 세트까지도 포함할 수 있다. 다음은 여러 페스티바이러스들에 대한 각 서열의 전형적인 예를 제시한 것이지만 가능한 변이가 이들 예에만 국한되는 것은 아니다.

- | | |
|--------------------------|---------------------|
| BVDV NewYork93/C: | <i>MELFSNELLYKT</i> |
| BVDV CP13: | <i>MELISNELLYKT</i> |
| BVDV SD1: | <i>MELITNELLYKT</i> |
| CSFV Brescia: | <i>MELNHFELLYKT</i> |
| BDV X818: | <i>MELNKFELLYKT</i> |

<432> 즉, 이러한 변이체에는 예컨대 다음과 같은 것이 포함될 수 있다:

- MELIS*-[PS]₀-[C-말단];
MELISN-[PS]₀-[C-말단];
MELISNE-[PS]₀-[C-말단];
MELISNEL-[PS]₀-[C-말단];
MELISNELL-[PS]₀-[C-말단];
MELISNELLY-[PS]₀-[C-말단];
MELISNELLYK-[PS]₀-[C-말단];
MELISNELLYKT-[PS]₀-[C-말단];
MELIT-[PS]₀-[C-말단];
MELITN-[PS]₀-[C-말단];
MELITNE-[PS]₀-[C-말단];
MELITNEL-[PS]₀-[C-말단];
MELITNELL-[PS]₀-[C-말단];
MELITNELLY-[PS]₀-[C-말단];
MELITNELLYK-[PS]₀-[C-말단];
MELITNELLYKT-[PS]₀-[C-말단];

<434>

<435> 이러한 식들은 또한 [PS]₁을 보유할 수 있다. 즉 PS는 전술한 PS 중 하나일 수 있다. N^{pro} 단백질에 속하는 서열은 이탤릭체로 표시했다. BVDV New York93/C의 서열과 관련한 아미노산 교환은 진하게 표시했다.

<436> 또 다른 예는 문헌[Becher et al., 2003]에 제시된 GenBank 수탁 번호를 사용하거나 또는 표준 서열 데이터 검색을 통해 찾을 수 있다.

<437> 또한, (잔여) N^{pro} 서열과 캡시드 단백질의 아미노말단 사이에 삽입된 프로세싱 시그널(PS)의 사용도 가능할 수 있다. PS는 기능성 캡시드 단백질을 생산하는 절단 부위를 유도한다. 이러한 작제물의 형태는 다음과 같을 수 있다:

<438> $[N^{pro}]_{22}$ -PS[C 말단]

<439> PS: 프로세싱 시그널. 이것은 프로테아제의 표적이거나(예컨대, 유비퀴틴, 본 명세서에 명시된 바와 같은 LC3), 또는 자신의 카복시말단의 프로세싱을 유도하는 프로테아제 또는 불안정한 펩타이드, 예컨대 인테인(Chong et al., 1998 및 여기에 인용된 문헌) 또는 피코나바이러스의 3C, 카디오바이러스 또는 아프토바이러스의 2A, 토끼 출혈병 바이러스의 p15 또는 다른 칼리시바이러스의 상응 프로테아제(Proter 1993, 및 여기에 인용된 문헌; Meyers et al., 2000 및 여기에 인용된 문헌)의 표적일 수 있다.

<440> PS를 사용하면 PS가 캡시드 단백질 C의 정확한 아미노 말단이 생성되게 해주는 바 다수의 다른 변이체가 가능하다. 즉, PS 작제물을 사용하면 N^{pro} 서열의 모든 종류의 결실 또는 돌연변이가 관독 프레임이 이동되지 않거나 프레임 종결 코돈에 의해 해독이 정지되지 않는 한 생육성 돌연변이체가 제공될 것으로 예상된다. 일 예로서, 다음 식에 따른 생육성 CSFV N^{pro} 결실 돌연변이체를 구축했다.

<441> $[N^{pro}]_{29}$ -PS[C 말단]

<442> 특히 흥미로운 것은 단백질의 단백질분해 활성을 차단하는 N^{pro} 돌연변이이다. 루메나프 등(Rumenapf et al., 1998)은 CSFV 알포트 튜빙겐의 프로테아제의 활성 부위 잔기를 동정했다. 각 아미노산(위치 22의 글루탐산, 위치 49의 히스티딘 및 위치 69의 시스테인)은 다른 페스티바이러스에서도 보존성이었다. 즉, 위치 69에 시스테인 대신에 세린이나 트레오닌 등의 임의의 아미노산 교환은 프로테아제 활성을 파괴할 것이다. 이와 마찬가지로, 위치 22의 글루탐산의 변화도 새 아미노산이 아스파르트산이 아닌 한 프로테아제를 불활성화시킬 가능성이 크다. 또한, 위치 49에서의 대부분의 교환도 불활성 프로테아제를 유도할 것이다.

<443>

참조문헌

- Ausubel, F.M. et al., Current Protocols in molecular biology. New York : Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience. 1994 (updated)
- Baker, J.C. 1987. Bovine viral diarrhea virus: a review. J. Am. Vet. Med.Assoc. 190: 1449-1458.
- Becher, P., König, M., Paton, D.J., Thiel, H.J., 1995, Further characterization of border disease virus isolates: evidence for the presence of more than three species within the genus pesivirus. Virology 209 (1), 200-206.
- Chong, S., Williams, K.S., Wotkowicz, C., and Xu, M.Q.1998. Modulation of Protein Splicing of the *Saccharomyces cerevisiae* Vacuolar Membrane ATPase Intein. J. Biol. Chem. 273: 10567 - 10577.
- Donis, R.O., Corapi, W., and Dubovi, E.J. 1988. Neutralizing monoclonal antibodies to bovine viral diarrhea virus bind to the 56K to 58K glycoprotein. J. Gen. Virol. 69: 77-86.
- Fuerst T.R. et al. 1986. Eukaryotic transient expression system based on recombinant vaccinia virus that synthesizes bacteriophage T7 RNA polymerase. Proc. Natl. Acad. Sci. 83: 8122-8126.
- Heinz, F.X., Collett, M.S., Purcell, R.H., Cold, E.A., Howard, C.R., Houghton, M., Moormann, R.J.M., Rice, C.M., and Thiel, H.-J. 2000. Family Flaviviridae. PP 859-878. In: Virus Taxonomy (van Regenmortel, H.H.V., Fauquet, C.M., and Bishop, D.H.L, Eds.). Academic Press, San Diego.
- Hulst, M.M., Himes, G., Newbiggin, E., Moormann, R.J.M. 1994. Glycoprotein E2 of classical swine fever virus: expression in insect cells and identification as a ribonuclease. Virology 200: 558-565.
- Hulst, M.M., F.E. Panoto, A. Hooekmann, H.G.P. van Gennip., and Moormann, R.J.M. 1998. Inactivation of the RNase activity of glycoprotein E^{ms} of classical swine fever virus results in a cytopathogenic virus. J. Virol. 72: 151-157.
- Kit, M. and S. Kit. 1991. Sensitive glycoprotein gIII blocking ELISA to distinguish between pseudorabies (Aujeszky's disease) -infected and vaccinated pigs. Veterinary Microbiology 28:141-155.
- Kunkel, T. A., J. D. Roberts, and R. A. Zakour. 1987. Rapid and efficient site-specific mutagenesis without phenotypic selection. Methods Enzymol. 154:367-392.

<444>

König, Matthias, 1994, Virus der klassischen Schweinepest: Untersuchungen zur Pathogenese und zur Induktion einer protektiven Immunantwort. Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover, Germany.

Lindenbach, B.D., and Rice, C. M. 2001. The pestiviruses. In Fields Virology, eds. Knipe, D.M., & Howley, P.M. (Lippincott-Raven, Philadelphia), pp. 991-1042. Mayer, D., Hofmann, M.A., and Tratschin, J.D. 2004. Attenuation of classical swine fever virus by deletion of the viral N(pro) gene. *Vaccine*. 22:317-328.

Meyers, G., Rümenapf, T. and Thiel, H.-J. 1989. Molecular cloning and nucleotide sequence of the genome of hog cholera virus. *Virology* 171: 555-567.

Meyers, G., Saalmüller, A., and Büttner, M. (1999). Mutations abrogating the RNase activity in glycoprotein e(ms) of the pestivirus classical swine fever virus lead to virus attenuation. *J Virol* 73: 10224-10235.

Meyers, G., Tautz, N., Becher, P., Thiel, H.-J., & Kümmerer, B.M. 1996b. Recovery of cytopathogenic and noncytopathogenic bovine viral diarrhea viruses from cDNA constructs. *J. Virol.*, 70: 8606-8613.

Meyers, G., Thiel, H.-J., and Rümenapf, T. 1996a. Classical swine fever virus: Recovery of infectious viruses from cDNA constructs and generation of recombinant cytopathogenic swine fever virus. *J. Virol.* 67:7088-709526.

Meyers, G., Wirblich, C., Thiel, H.-J. and Thumfart, J.O. 2000. Rabbit hemorrhagic disease Virus: genome organization and polyprotein processing of a calicivirus studied after transient expression of cDNA constructs. *Virology* 276: 349-363.

Moennig, V. and Plagemann, J. 1992. The pestiviruses. *Adv. Virus Res.* 41: 53-91.

Paton, D.J., Lowings, J.P., Barrett, A.D. 1992. Epitope mapping of the gp53 envelope protein of bovine viral diarrhea virus. *Virology* 190: 763-772.

Pellerin, C. et. al. Identification of a new group of bovine viral diarrhea virus strains associated with severe outbreaks and high mortalities, *Virology* 203, 1994:260-268.

Porter, A.G. (1993). Picornavirus nonstructural proteins: emerging roles in virus replication and inhibition of host cell functions. *J. Virol.* 67, 6917-6921.

Rüggli, N., Tratschin, J.D., Schweizer, M., McCullough, K.C., Hofmann, M.A., Summerfield, A. 2003. Classical swine fever virus interferes with cellular antiviral defense: evidence for a novel function of N(pro). J. Virol. 77:7645-7654.

Rümenapf, T., Stark, R., Heimann, M., and Thiel, H.-J. 1998. N-terminal protease of pestiviruses: identification of putative catalytic residues by site directed mutagenesis. J. Virol. 72: 2544-2547.

Rümenapf, T., Unger, G., Strauss, J.H., and Thiel, H.-J. 1993. Processing of the envelope glycoproteins of pestiviruses. J. Virol. 67: 3288-3294. Schneider, R., G. Unger, R. Stark, E. Schneider-Scherzer, and H.-J. Thiel. 1993. Identification of a structural glycoprotein of an RNA virus as a ribonuclease. Science 261: 1169-1171.

Sambrook, J., Fritsch, E.F. & Maniatis, T., Molecular Cloning: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 1989

Stark, R., Meyers, G., Rümenapf, T., and Thiel, H.-J. (1993): Processing of pestivirus polyprotein: Cleavage site between autoprotease and nucleocapsid protein of classical swine fever virus. J. Virol., 67, 7088-7095. Thiel, H.-J., Plagemann, G.W., & Moennig, V. 1996. The pestiviruses. In Fields Virology, eds. Fields, B.N., Knipe, D.M., & Howley, P.M. (Lippincott-Raven, Philadelphia), pp.1059-1073.

Thiel, H.-J., Stark, R., Weiland, E., Rümenapf, T. & Meyers, G. 1991. Hog cholera virus: molecular composition of virions from a pestivirus. J. Virol. 65: 4705-4712.31.

Tratschin, J.-D., Moser, C., Ruggli, N., and Hofmann, M.A. 1998. Classical swine fever virus leader proteinase Npro is not required for viral replication in cell culture. J. Virol. 72, 7681-7684. van Rijn, P.A., van Gennip, H.G., de Meijer, E.J., Moormann, R.J. 1993. Epitope mapping of envelope glycoprotein E1 of hog cholera virus strain Brescia. J. Gen. Virol. 74: 2053-2060.

Weiland, E., Thiel, H.-J., Hess, G., and Weiland, F. (1989). Development of monoclonal neutralizing antibodies against bovine viral diarrhea virus after pretreatment of mice with normal bovine cells and cyclophosphamide. J. Virol. Methods 24: 237-244.

Weiland, E., Stark, R., Haas, B., Rümenapf, T., Meyers, G. and Thiel, H.-J. (1990). Pestivirus glycoprotein which induces neutralizing antibodies forms part of a disulfide-linked heterodimer. J. Virology 64, 3563-3569.

<446>

Weiland, E., Ahl, R., Stark, R., Weiland, F. and Thiel, H.-J. (1992). A second envelope glycoprotein mediates neutralization of a pestivirus, hog cholera virus. J. Virology 66, 3677-3682.

Windisch, J.M., Schneider, R., Stark, R., Weiland, E., Meyers, G., and Thiel, H.-J. 1996. RNase of classical swine fever virus: biochemical characterization and inhibition by virus-neutralizing monoclonal antibodies. J. Virol. 70: 352-358

Wiskerchen, M., Belzer, S.K., and Collett, M. S. 1991. Pestivirus gene expression: the first protein product of the bovine viral diarrhea virus large open reading frame, p20, possesses proteolytic activity J. Virol. 65:4508-4514.

<447>

<448>

도면의 간단한 설명

<13>

도 1은 NY93/C(BVDV 타입 II)에 대한 혈청 중화반응을 도시한 것이다.

<14>

도 2는 KE9(BVDV 타입 I)에 대한 혈청 중화반응 분석을 도시한 것이다.

<15>

도 3은 NY93/C(BVDV 타입 II)에 대한 혈청 중화반응 분석을 도시한 것이다.

<16>

후속되는 모든 서열은 번호 매겨진 결실 영역을 점선으로 표시하고 있는 반면, 첨부된 서열 목록 중의 서열은 결실 영역 또는 아미노산 코돈 없이 연속하여 번호를 매겨서 나타냈다.

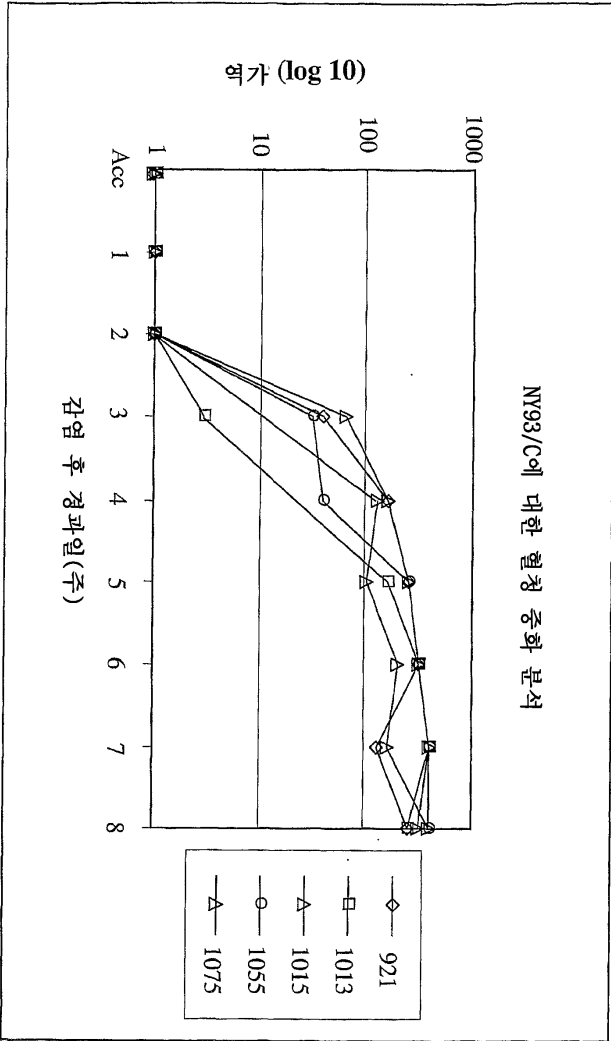
<17>	서열번호 1	XIKE-A-cDNA 서열
<18>	서열번호 2	XIKE-A-NdN-cDNA 서열
<19>	서열번호 3	XIKE-B-cDNA 서열
<20>	서열번호 4	XIKE-B-NdN-cDNA
<21>	서열번호 5	XIKE-A 아미노산 서열
<22>	서열번호 6	XIKE-A-NdN 아미노산 서열
<23>	서열번호 7	XIKE-B 아미노산 서열
<24>	서열번호 8	XIKE-B-NdN 아미노산 서열
<25>	서열번호 9	XIKE-C-NdN 아미노산 서열
<26>	서열번호 10	XIKE-C-NdN-cDNA 서열
<27>	서열번호 11	XIKE-C-cDNA 서열
<28>	서열번호 12	XIKE-C 아미노산 서열

<29> **발명의 개요**

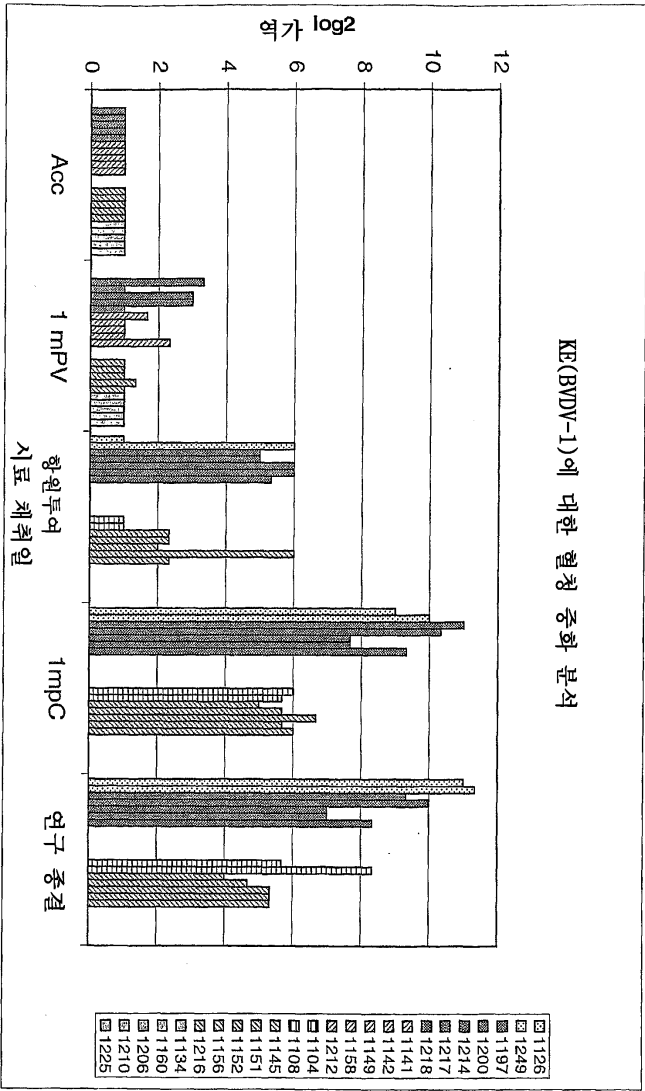
<30> 본 발명은 당단백질 E^{rns}의 암호화 서열에 적어도 하나의 돌연변이가 존재하고 N^{pro}의 암호화 서열에 적어도 다른 하나의 돌연변이가 존재하여, 바람직하게는 당단백질 E^{rns}에 존재하는 RNase 활성의 불활성화 및 N^{pro}에 존재하는 면역조절 활성(가설)의 불활성화가 복합적으로 유도된 약독화 페스티바이러스, 바람직하게는 약독화 BVDV에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 그러한 약독화가 전술한 바와 같은 약독화 페스티바이러스, 바람직하게는 약독화 BVDV를 생산하도록 페스티바이러스를 약독화하는 방법에 관한 것이다. 더욱이, 본 발명은 상기 약독화된 페스티바이러스, 바람직하게는 약독화된 BVDV를 암호화하는 핵산 분자, 본 명세서에 게시된 바와 같은 약독화된 페스티바이러스, 바람직하게는 BVDV를 포함하는 조성물 및 백신에 관한 것이다.

도면

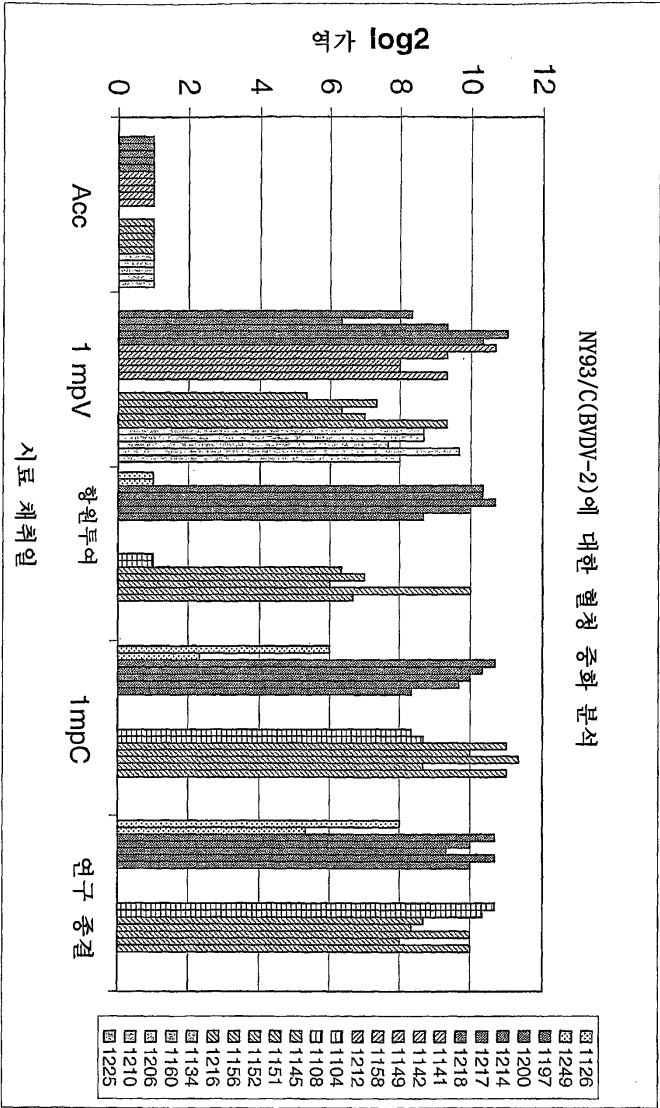
도면1



도면2



도면3



서열 목록

- <110> Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH
- <120> Vaccine comprising an attenuated pestivirus
- <130> Case 1/1716
- <150> DE 10 2004 025 452.4
- <151> 2004.05.19
- <160> 12
- <170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 12332

<212> DNA

<213> Wildtyp BVDV: XIKE-A

<400> 1

gtatacgaga ttagctaaag aactcgtata tggattggac gtcaacaaat ttttaattgg	60
caacgtaggg aaccttcccc tcagcgaagg ccgaaaagag gctagccatg cccttagtag	120
gactagcaaa agtaggggac tagcggtagc agtgagttcg ttggatggcc gaaccctga	180
gtacagggga gtcgtcaatg gttcgacact ccattatgctg aggagtctcg agatgcatg	240
tggacgaggg catgcccacg gcacatctta acccatgcgg gggttgcatg ggtgaaagcg	300
ctattcgtgg cgttatggac acagcctgat aggggtgtagc agagacctgc tattccgcta	360
gtaaaaaactc tgctgtacat ggcacatgga gttgttttca aatgaacttt tataaaaaac	420
atataaacia aaaccagcag gcgtcgtgga acctgtttac gacgtcaacg ggcgcccact	480
gtttggagag agcagtgact tgcacccgca gtcaacacta aaactaccac accaacgagg	540
cagcgccaac atcctgacca atgctaggtc cctaccgagg aaaggtgact gccggagagg	600
taatgtgtat ggaccgggta gtggcatcta tatcaaacca ggaccgatct actaccagga	660
ttatgtgggc cccgtctatc atagagcccc actggaacta ttagggagg caagtatgtg	720
cgaacaact aggagagttg gcagagtac cggtagtgtat gggaaattat atcatatcta	780
catctgcata gatgggtgta tcctcctgaa gagggcgact aggaaccaac cagaagtcct	840
gaaatgggta tacaacagat taaattgtcc ttatgggtc accagctgct ccgatgaagg	900
gagcaagggt gctacaagta agaagcagcc taagccagat aggatagaaa aaggtaatg	960

gaaaatagcc ccaaaagaga cagaaaaaga ttgcaaaacc agaccccccg acgcgactat 1020

agtagtagaa ggggttaagt accaggtgaa gaaaaaagga aaggttaagg gaaaaaatac 1080

tcaagatggg ttatatcaca acaagaataa gccccctgaa tcaagaaaaa aattggaaaa 1140

ggcactgctg gcttgggccca tcttagcagc ggtcctgctt cagctggtaa caggagagaa 1200

tatcacccag tggaacttga tggacaacgg caccgaggga atacagcaag cgatgttcct 1260

aagaggggtg aacaggagtc tacatggaat ttggccagag aaaatttgca ccggagtacc 1320

aactcactta gcaacagact atgagcttaa agagatagtg gggatgatgg acgcgagtga 1380

gaagaccaac tacacgtgtt gcaggttgca aagacatgag tggaataaac atggttggtg 1440

taactggttt catatagaac cgtggatatg gttgatgaac aaaacccaaa acaacctgac 1500

agaagggcaa ccgcttaggg agtgtgctgt gactttagg tatgacaagg aaacagaatt 1560

gaacatcgtg acacaggcta gggacagacc tacaactctg acagtttgca agaaaggcaa 1620

gaatttctct ttgcaggtg ttatactgga tgggccctgt aactttaag tatcggttga 1680

agatgtgctg ttcaaggagc acgattgcgg caacatgctg caagagaccg cgatacagct 1740

actcgatggg gcaaccaaca ccattgaggg agcaagggtg gggacggcca agttgacaac 1800

ctggttaggg aagcaattag ggatccttgg taagaagttg gagaacaaaa gcaaagcatg 1860

gtttggtgca catgcagcaa gtccatactg cggagtggag aggaagatcg gttacgtatg 1920

gtatacaaaa aactgcactc cagcttgctt tccaagaaac actagaataa taggccccgg 1980

gaaatttgat accaacgccg aagatggaaa aatactccat gagatggggg ggcacctctc 2040

agaatttgtc ctattgtcct tgggtggttct gtctgacttt gccccgaaa ccgcgagcgt 2100

catctacttg gttctacatt ttgcgatccc gcaaagccac gttgatgtag acacatgcga 2160

caagaaccag ctgaatttaa cggtagcaac cacagtagca gaggtcatac caggacaggt 2220

gtggaaccta gggaagtatg tctgcataag accagactgg tggccatatg agacgacgac 2280

agtcttcgtc atagaggaag cagggaagt aatcaaattg atgctaaggg ccatcagaga 2340

cttaactagg atatggaatg ctgccactac cacagctttc ttaatctttt tagtaaaagc 2400

actgagggga caactaatcc aagggtctatt gtggctgatg ctaataacag gagcacaggg 2460

cttcctgaa tgcaaagagg gcttccaata tgccatatct aaagacagga aaatgggggtt 2520

attggggcca gagagcttaa ctacaacatg gcacctcccc accaaaaaaa tagtggattc 2580

catggtgcat gtatggtgtg aaggaaaaga cttgaaaata ttaaaaatgt gcacaaagga 2640

agagagggtat ctagtggctg tgcacgagag agccttatca accagtgcgg agtttatgca 2700

gatcagtgat gggacaatag gccagacgt gatagatatg cctgatgact ttgagtttgg 2760

actctgccct tgtgactcaa aaccagtgat aaagggcaaa tttaatgcca gcttactgaa 2820

tggaccagct ttccagatgg tatgccaca ggggtggact ggtacaatag aatgcacctt 2880

agcgaaccaa gacaccttg acacaactgt cattaggaca tatagaagaa ctacccattt 2940

tcagcggaga aaatggtgta cctatgaaaa aataataggg gaagatatct atgaatgcat 3000

tctaggtgga aactggacat gcataaccgg tgacatagc aggttgaaag acggacctat 3060

caagaagtgt aagtgggtg gccatgactt cgtcaactca gaggggtac cacactaccc 3120

aataggcaag tgcattgctca tcaacgagag tgggtacagg tatgtatag acacctcttg 3180

cgataggggt ggtgtagcca tagttccatc tggcaccgta aagtgtagaa taggtaacgt 3240

cacggtgcaa gttatcgeta ctaacaatga tctgggaccc atgccttgca gccagctga 3300

agtgatagca agtgaaggac cagtggaaaa gactgcatgc acattcaact attcaaggac 3360
 tctacctaata aagtattatg agccaaggga ccggtacttc caacaataca tgttaaaagg 3420
 ggagtggcaa tattggttcg acctggattc tctagaccac cacaagact acttctcaga 3480
 gtccataatc atagcagtgg tgccttgtt ggttggttaag tacgtactgt ggctcttgat 3540
 aacatacaca atactgtctg agcagatggc tatgggtgct ggagtgaata ctgaagagat 3600
 agtcatgata ggcaatttgc tgacagacag tgatattgag gttgtggttt atttccttct 3660
 tctgtactta atagttaaag aggaactggc gaggaatgg attatactgg tataccacat 3720
 cctttagtgc aaccctatga aaacaattgg ggtcgtctta ctaatgctag ggggagtgg 3780
 gaaggccagc agaatacatg ctgatgacca aagtgtatg gacctatgt ttcttctcgt 3840
 gacaggcgta gtggctgttt tgatgatcgc tagaagagaa cctgccacat taccactgat 3900
 tctagcattg ctagcaataa gaacatcagg attcctactg cccgctagca ttgatgtaac 3960
 tctagcagta gtattaattg tacttttgtt ggctagctac ataacagact actttagata 4020
 taaaaagtgg ctcaactct tatttagtct gatagctggg atctttatta taaggagctt 4080
 aaaacatatc aaccagatgg aggtaccaga aatatctatg ccaagttgga gacctctagc 4140
 tctggtcctt ttctatataa catctacagc aataaccact aattgggaca ttgacttagc 4200
 aggtctcttg ctgcaatggg cgccagcagt gatcatgatg gctaccatgt gggcagactt 4260
 ttgactctg atcatagtcc tgcccagtta cgagttatct aagctttact tcctaaagaa 4320
 cgtcaggaca gacgtggaaa agaactggct cggcaaagtg aaatacagac agatcagttc 4380
 agtttatgac atctgtgaca gtgaggaagc agtgtaccta ttccatcaa ggcataagag 4440

tggagcagg ccagatttca tattaccttt ttgaaagcc gtgttaataa gctgcatcag 4500
 cagccaatgg caagtgggtt acatttctta cctaatactg gaaattacat actatatgca 4560
 caggaaaatc atagatgagg tgtcaggagg agcaaatTTT ctatcaagac tcatagcagc 4620
 catcatagaa ttaaattggg ccatagatga tgaggaatgt aaaggactga agaaactgta 4680
 tctcttgtca gggagagcga agaatttgat agttaacat aaggtlaagaa atgaagccgt 4740
 ccacagatgg ttgggtgagg aggaaatata cggggcaccc aaggtagatca ctatcataaa 4800
 agctagtacc ctaagtaaaa acaggcactg cataatctgc acgatctgtg aagggaaga 4860
 atggaatgga gccaaactgcc caaagtgtgg aagacaagga aagcccataa catgtggaat 4920
 gacactcgca gactttgagg agaaacatta caaaaagata ttataagag aagaatcttc 4980
 ttgtcctgtg ctttttgatc cttcttgcca ttgtaattat tttcgccacg atgggccttt 5040
 caggaaagag tataagggtt acgtccaata cacagccaga ggacaactct ttctgaggaa 5100
 cctaccaatt ctacgacga agatgaagct attaatgggtg ggaaacctcg gcgcagaaat 5160
 tggcgacctg gaacatctag gatgggtact gagaggcca gccgtgtgca aaaaaattac 5220
 caacatgag aagtgccacg taaacatcat ggataagcta actgcatttt ttggaatcat 5280
 gcctagaggc acgacccta gggcacctgt gaggttcccc acagcactac taaaagttag 5340
 aagggggcta gagacgggat gggcttacac gcaccaagga gggatcagct cggtagacca 5400
 tgtcacagcc ggaaaggatt tactagtgtg tgacagtatg ggcaggacca gggttgtctg 5460
 tcatagtaac aataagatga ctgatgagac tgagtatggc atcaagaccg actcagggtg 5520
 tcccgaaggt gcgaggtgtt acgtgctaaa ccagaagct gttaacattt ctggcacaaa 5580
 aggagctatg gtacacctcc agaaaacggg gggggagttc acatgtgtca ctgcctcagg 5640

gaccccggtt ttcttcgata tgaaaaatct aaaaggtctgg tccgggtac caatttttga 5700

agcatccagt ggcagggtgg ttggtagggt gaaagtcggc aagaatgagg attccaagcc 5760

cacaaaacta atgagcggaa tccagacagt gtctaagaac cagacagacc tagcggacat 5820

cgtaaaaaa ttgactagta tgaacagagg agagttcaaa cagataacat tagccactgg 5880

ggcaggaaaa actacggaac tgccaaggtc cgatcatagag gagataggga ggcacaaaag 5940

ggtcttagtc ctgataccat tgagagcagc agcagagtca gtgtatcagt atatgagagt 6000

gaagtacca agtatatctt tcaatttgag aataggagat atgaaggaag gtgacatggc 6060

cactggtatc acctacgcct catatgggta cttttgtcag cttcctcagc ccaaactgag 6120

agctgccatg gtagagtact catatatatt cttagatgag taccactgtg ctacaccga 6180

gcaattagca ataattggaa agatacacag gtttgctgaa aatcttagag tggtagcaat 6240

gacagcaacc ccagctggaa cggtcacaac gactggtcag aaacacccta tagaggagtt 6300

catagcccca gaggtgatga aagggaaga tctaggtagt gaatacttgg atattgcagg 6360

gttgaagata ccgactgaag agatgaaagg caacatgctc gtgttcgctc caactaggaa 6420

catggcagta gaaacagcta agaaattgaa ggctaaggga tacaactctg gatactatta 6480

cagtggggaa aaccagaga acttgagggt ggtaacctcg caatccccgt atgtggtagt 6540

agccaccaat gccatagagt cagggtgtgac attaccagac ttagacacag ttgtagacac 6600

tggactaaag tgtgagaaga gggtaggat ttcttcaaaa atgcccttca ttgtaacagg 6660

acttaagaga atggcagtc caatcgga gcaagcccag cgcaggggta gagtaggaag 6720

agtcaagcca ggtaggtact ataggagtca agaaacagct tcagggtcaa aagattacca 6780

ttacgaccta ctgcaagccc agaggtacgg aatagaagat ggaattaatg taacaaagtc 6840

attcaggag atgaactatg attggagcct ttacgaagag gacagcttga tgataactca 6900

actcgaggtc cttacaacc tccttataatc agaagacctg cctgccgcag tgaagaacat 6960

catggcccg accgatcacc cagaacccat acaactggcc tataacagtt atgaaaacca 7020

aattccagt ctgttccaa agatcaaaaa tggtaggtg acagacagtt atgagaatta 7080

cacatatctc aatgaagaa aattaggaga ggacgtgccg gcatatgtgt acgccacaga 7140

ggatgaggat ctagcagtg atcttctggg tatggattgg ccggaccag gcaaccaaca 7200

ggtggtagag acaggagg cattaaca agtaactggc ttatccacag cagaaaacgc 7260

cctcttgata gccctattcg gctacgtcgg gtaccagaca ctttcaaaa ggcacatacc 7320

catgattact gacatctata cacttgaaga ccacagctt gaggacaca cccacctcca 7380

gtttcccca aacgctataa ggaccgacgg caaggactca gattgaagg aattagctgt 7440

gggagacctt gataaatatg tggacgcact gtagactac tccaacaag gtagaaatt 7500

catcaaagtc caagctgaaa aggtcagaga ctcccagctt acgaaggaag gcttgcaaac 7560

cattaaggag tatgtggata agtttataca atcactaaca gagaataagg aggagatcat 7620

caggtatgga ctatggggag ttacacggc actctacaaa agcttggcag cgagactggg 7680

gcatgaaaca gcttttgcaa ctttagtggg aaaatggtt gcttttggg gcgaaacgt 7740

atctgtcac atcaagcaag tagcagttga tctagtagta tattatatca tcaacaacc 7800

atcttttct ggagatacag agaccaaca agaggggagg aagtttgtg ctagtctttt 7860

tatatctgca ctagcaacat acacatataa aacctggaat tacaacaatc tgcaacgggt 7920

tgtegaacct gccttagctt acctccata tctacaagt gccttgaagt tttcacacc 7980

cacaagatta gagagtgtgg tcatactcag ttctacaatt tacaagacat acctctctat 8040

aaggaagggt aagagtgcag gcttgtagg tacaggcata agtgcagcca tggagatctt 8100

aaacaaaac ccaatctcag taggtatc tgtgatgctg ggggtagggtg ccatcgccgc 8160

ccataatgca atagaatcta gtgaacagaa aagaactttg ctgatgaagg tctttgtaaa 8220

aaacttctta gaccaagcag caacagatga gctagtcaaa gagaaccctg aaaaaataat 8280

catggctcta ttgaagcag tccagacat aggaaacccc ctaagactca tctaccatct 8340

gtacggggtg tactataagg ggtgggaagc aaaagaactc gcagagaaaa ctgctggccg 8400

caacttattc acattgatca tgtttgaggc ctttgagctt ttaggtatgg actcagaagg 8460

aaagataaga aacttgtcag gcaactacat actggactta atcttcaact tgcataataa 8520

attaaacaag gggctcaaaa aactagtctt tgggtgggct cctgcacctt tgagctgtga 8580

ttggacacca agtgatgaga gaataagcct acctcataac aactacttaa gggtagaaac 8640

caggtgtcct tgggctatg agatgaaggc aataaaaaat gttgctggta aattgacaaa 8700

agttgaagaa aagggtcct tcctatgcag gaatagatta gggagaggac ctccaaactt 8760

caaagtaaca aagtctatg atgataactt gatagaagtc aagccagtag ctaggctaga 8820

aggccagggtg gacctctatt acaagggagt aacagctaag ttagactaca acaatgggaa 8880

agtactgtta gctaccaaca agtgggaggt ggaccacgct ttctgacca gactagtaaa 8940

gaagcacaca gggataggtt ttaaagggtc atatttgggt gaccgaccag accatcaaga 9000

tcttgctgat agagattgtg caactataac gaagaactca gtacagttcc taaaaatgaa 9060

gaagggttgc gctttcacat atgacctaac aatctctaac cttgtcaggc ttattgaact 9120

agtcataag aataatttac aagaaagaga gatccctacc gtgacagtaa ctacttggct 9180
 tgcataattct tttgtcaatg aagacctggg gactatcaag cctgtattgg gggagaaagt 9240
 catcccagaa cccccgagg agttgagtct ccaaccacc gtgagactag tcaccactga 9300
 aacagcaata accataacag gggaggctga agt gatgacg acagggatca caccagtgg 9360
 agagatgaaa gaagaacctc agctggacca ccagtcaact accctaaagg tagggttgaa 9420
 ggaaggggaa tatccagggc caggagttaa ccctaaccat ttagcagagg tgatagatga 9480
 gaaagatgac aggccttttg tcctaatacat cgtaacaaa ggttctacct cgaacagagc 9540
 aagaacggcc aagaatatac ggctgtacaa aggaaacaac ccaagagaga tcagggatct 9600
 gatgagccaa ggaagaatat tgacggttgc tctaaaagag ttggacccgg aattaaaaga 9660
 attagtagat tacaaggga cttttctcaa tagggaagct ttagaagccc taagcttagg 9720
 taagccaatc aagaggaaaa ccacaacagc aatgatcagg aggttaatag agccagaggt 9780
 tgaggaggaa ctaccagatt ggttccaagc ggaagaaccc ctatttttgg aagcaaaaat 9840
 acagaatgac ttataccacc taattggcag ttagatagat ataaaaagca aagcaaagga 9900
 attaggggcc acagataaca caaagatagt gaaggaagtt ggggctagga cctatacgat 9960
 gaaattgagc agctggagca cacaagttac aaaaaaacag atgagtctag ccctctctt 10020
 tgaagagctg ttattaaagt gccctccatg tagtaaaatt tcaaaggac atatggtgtc 10080
 agcataccaa ctggctcaag gaaactggga accctcggg tgtgggtctc atatgggaac 10140
 cataccagct aggcgtctca agatccacc ttatgaggt taccttaaac tcaaagagct 10200
 ggtggaagtt gaatcttcga gggccactgc aaaagaatcc atcataagag aacataacac 10260
 ctggatcctg cggaaggtga gacatgaagg gaacctaaga accaaatcaa tgatcaacc 10320

tgggaaaata tcagatcagc tatgcagaga tggacacaaa agaaacatat ataataagat 10380
 cataggctca acaatggcct ctgctgggtat taggctggag aaactgccag tagtccgagc 10440
 ccaaactgac acaaccagtt tccaccaagc cataagagaa aaaattgata aaacagaaaa 10500
 caagcagacc ccigaattgc atgaagaact aatgaaggtc ttcgactgct taaagatccc 10560
 agagctgaag gaatcgtatg atgaagtttc atgggaacaa ttagaagccg ggataaacg 10620
 taagggtgca gcaggctatc tagagagcaa gaacataggg gaagtcctag acacagagaa 10680
 acacatagta gagcagctga tcaaggatct gaggaagggg aagaagatta ggtactatga 10740
 aacagccatc cccaagaatg agaagagaga cgtcagcgac gactgggaag ccggagagtt 10800
 cgttgatgaa aagaaaccaa gagtaatcca gtacccggac gccaaagtga gactggccat 10860
 tacaaaagtg atgtacaaat gggtaaagca aaaaccagtg gtgatacccg gctatgaagg 10920
 taaaacacct ctatttgaca tattcaacaa agtgaagaag gaatgggatt cattccagga 10980
 ccccgtagca gtgagctttg acaccaaagc gtgggataca caagtcacca gtagagacct 11040
 aatgttgata aaggatatcc agaaatattia tttcaagaga agtatacaca aatttttaga 11100
 tacaataaca gaacacatgg tggaggtacc tgtcattaca gcagacggtg aagtttacct 11160
 aaggaatggt cagaggggta gtggccaacc cgacacaagt gctggttaata gtatgttgaa 11220
 tgtcctaacc atgatatatg ctttctgtaa aagtacaggc ataccttaca ggggattcag 11280
 cagagtggca agaattcatg tgtgtgggtga tgatggcttt ttgataacag agagaggact 11340
 gggactgaaa ttctctgaga agggtatgca gatattacat gaggccggga agccccagaa 11400
 aataactgaa ggggacaaaa tgaaagtggc atacagattc gaggacatag agttttgttc 11460

ccatactccc gtgccagtca gatgggcaga taacaccagt agttacatgg cagggaggag 11520

cacagccact atactagcta agatggcaac caggctggat tccagcggag agaggggtag 11580

cacagcttat gagaaggccg tagccttcag cttccttttg atgtactcat ggaatcccgt 11640

agttagaagg atctgcttac tgggtgtgtc acagtttcca gaaatatccc catccaaaaa 11700

cacaatatac tactaccaag gggatcccat agctgcgtac agagaagtga tagggaaaca 11760

gctgtgtgaa ctgaaaagaa caggatttga gaagctggct ggtctgaatt tgagtatgac 11820

cactctaggc atctggacaa aacatactag taaaagacta atccaagcct gtgtagaaat 11880

aggtaagaga gaaggtacct ggtagttaa tgctgacaga ctgattgcag gaaagactgg 11940

gaagttttac atcccaagca ctggtgtcac tctgttggga aaacactatg aggaaattaa 12000

cttaaagcaa aaggcggcac aaccgccgat agaggggggtt gacagatata agttgggccc 12060

catagttaat gttatcttga gaagctgag ggtgatgctg atgacagtgt ccagcgggaag 12120

ctggtgaatc cgtccggagc gtcgtgccct cactcaaggt ttttaattgt aaatattgta 12180

aatagacagc taagatatat attgtagtgt gatagtaatg cagtgatagt aaatacccca 12240

atttaacact acctccaatg cactaagcac tttagctgtg tgaggttaac tcgacgtcca 12300

cggttggact agggaagacc tctaacagcc cc 12332

<210> 2 <211> 11840 <212> DNA <213> Artificial Sequence: Mutated BVDV: XIKE- A-NdN <400> 2
gtatacgaga ttagctaaag aactcgtata tggattggac gtcaacaaat ttttaattgg 60

caacgtlaggg aaccttcccc tcagcgaagg ccgaaaagag gctagccatg cccttagtag 120

gactagcaaa agtaggggac tagcggtagc agtgagtctg ttggatggcc gaaccctga 180

gtacagggga gtcgtcaatg gttcgacact ccattagtcg aggagtctcg agatgccatg 240

tggacgaggg catgccacg gcacatctta acccatgcgg gggttgcag ggtgaaagcg 300

ctattcgtgg cgttatggac acagcctgat aggggtgtagc agagacctgc tattccgcta 360

gtaaaaactc tgctgtacat ggcacatgga gttgttttcc gatgaaggga gcaagggtgc 420

tacaagtaag aagcagccta agccagatag gatagaaaaa ggtaagatga aaatagcccc 480

aaaagagaca gaaaaagatt gcaaaaccag accccccgac gcgactatag tagtagaagg 540

ggttaagtac caggtgaaga aaaaaggaaa ggtaaggga aaaaatactc aagatgggtt 600

atatcacaac aagaataagc cccctgaatc aagaaaaaaa ttggaaaagg cactgctggc 660

ttgggccatc ttagcagcgg tcttgcctca gctggtaaca ggagagaata tcaccagtg 720

gaacttgatg gacaacggca ccgaggggaat acagcaagcg atgttcctaa gaggggtgaa 780

caggagtcta catggaattt ggccagagaa aatttgcacc ggagtaccaa ctacttagc 840

aacagactat gagcttaaag agatagtggg gatgatggac gcgagtgaga agaccaacta 900

cactgtttgc aggttgcaaa gacatgagtg gaataaacat ggttgggtga actggtttca 960

tatagaaccg tggatatggt tgatgaacaa aacccaaaac aacctgacag aagggaacc 1020

gcttagggag tgtgctgtga cttgtaggta tgacaaggaa acagaattga acatcgtgac 1080

acaggctagg gacagaccta caactctgac aggttgcaag aaaggcaaga atttctcttt 1140

cgcaggtgtt atactggatg ggccctgtaa ctttaaagta tcggttgaag atgtgctgtt 1200

caaggagcac gattgcggca acatgctgca agagaccgag atacagctac tcgatggggc 1260

aaccaacacc attgaggag caagggtagg gacggccaag ttgacaacct ggttagggaa 1320

gcaattaggg atccttggtga agaagtggga gaacaaaagc aaagcatggt ttggtgcaca 1380

tgagcaagt ccatactgcg gagtggagag gaagatcggt tacgtatggt atacaaaaaa 1440

ctgcactcca gcttgccttc caagaacac tagaataata ggccccggga aatttgatac 1500

caacgccgaa gatggaaaaa tactccatga gatggggggg cacctctcag aatttgcct 1560

attgtccttg gtggttctgt ctgactttgc cccgaaacc gcgagcgtca tctacttgg 1620

tctacatttt gcgatccgc aaagccacgt tgatgtagac acatgcgaca agaaccagct 1680

gaatttaacg gtagcaacca cagtagcaga ggtcatacca gggacagtgt ggaacctagg 1740

gaagtatgtc tgcataagac cagactgggt gccatatgag acgacgacag tcttcgtcat 1800

agaggaagca gggcaagtaa tcaaattgat gctaagggcc atcagagact taactaggat 1860

atggaatgct gccactacca cagctttctt aatcttttta gtaaaagcac tgaggggaca 1920

actaatccaa gggtatttgt ggctgatgct aataacagga gcacagggt tccctgaatg 1980

caaagagggc ttccaatatg ccatacttaa agacaggaaa atggggttat tggggccaga 2040

gagcttaact acaacatggc acctccccac caaaaaata gtggattcca tgggtgatgt 2100

atggtgtgaa ggaaaagact tgaaaatatt aaaaatgtgc acaaaggaag agaggatct 2160

agtggctgtg cacgagagag ccttatcaac cagtgccgag tttatgcaga tcagtgatgg 2220

gacaataggc ccagacgtga tagatatgcc tgatgacttt gagtttgac tctgcccttg 2280

tgactcaaaa ccagtataa agggcaaatt taatgccagc ttactgaatg gaccagcttt 2340

ccagatggta tgccacagg ggtggactgg tacaatagaa tgcaccctag cgaaccaaga 2400

cacctggac acaactgtca ttaggacata tagaagaact accccatttc agcggagaaa 2460

atggtgtacc tatgaaaaa taataggga agatatctat gaatgcattc taggtggaaa 2520

ctggacatgc ataaccgtg accatagcag gttgaaagac ggacctatca agaagtgtaa 2580

gtggtgtggc catgacttcg tcaactcaga ggggctacca cactacccaa taggcaagt 2640

catgctcadc aacgagagtg ggtacaggta tgtagatgac acctcttgcg ataggggtgg 2700

tgtagccata gticcatctg gcaccgtaaa gtgtagaata ggtaacgtca cggtgcaagt 2760

tatcgctact aacaatgacg tgggacccat gccttgacgc ccagctgaag tgatagcaag 2820

tgaaggacca gtggaaaaga ctgcatgcac attcaactat tcaaggactc tacctaataa 2880

glattatgag ccaagggacc ggtacttcca acaatacatg ttaaaagggg agtggcaata 2940

ttggttcgac ctggattctg tagaccacca caaagactac ttctcagagt tcataatcat 3000

agcagtggtc gccttgttgg gtggttaagta cgtactgtgg ctcttgataa catacacaat 3060

actgtctgag cagatggcta tgggtgctgg agtgaatact gaagagatag tcatgatagg 3120

caatttgctg acagacagtg atattgaggt tgtggtttat ttcttcttc tgtacttaat 3180

agttaaagag gaactggcga ggaaatggat tatactggta taccacatcc ttgtagccaa 3240

ccctatgaaa acaattgggg tcgtcttact aatgctaggg ggagtggga aggccagcag 3300

aatcaatgct gatgacaaa gtgctatgga cccatgcttt cttctcgtga caggcgtagt 3360

ggctgttttg atgatcgcta gaagagaacc tgccacatta ccactgattg tagcattgct 3420

agcaataaga acatcaggat tcctactgcc cgctagcatt gatgtaactg tagcagtagt 3480

attaattgta cttttgttgg ctagctacat aacagactac tttagatata aaaagtggct 3540

tcaactctta tttagtctga tagctggtat ctttattata aggagcttaa aacatatcaa 3600

ccagatggag gtaccagaaa tatctatgcc aagttaggaga cctctagctc tggtcctttt 3660

ctatataaca tctacagcaa taaccactaa ttgggacatt gacttagcag gcttctctgct 3720

gcaatgggcg ccagcagtga tcatgatggc taccatgtgg gcagactttt tgactctgat 3780

catagtcctg cccagttacg agttatctaa gctttacttc ctaaagaacg tcaggacaga 3840

cgtggaaaag aactggctcg gcaaagtga atacagacag atcagttcag tttatgacat 3900

ctgtgacagt gaggaagcag tgtacctatt tccatcaagg cataagagtg gaagcaggcc 3960

agatttcata ttaccttttt tgaaagccgt gtttaataagc tgcatcagca gccaatggca 4020

agtggtttac atttcttacc taatactgga aattacatac tataatgcaca ggaaatcat 4080

agatgaggtg tcaggaggag caaatcttct atcaagactc atagcagcca tcatagaatt 4140

aaattgggcc atagatgatg aggaatgtaa aggactgaag aaactgtatc tcttgtcagg 4200

gagagcgaag aatttgatag ttaaacataa ggtaagaaat gaagccgtcc acagatggtt 4260

tggtgaggag gaaatatacg gggcacccaa ggtgatcact atcataaaag ctagtacctt 4320

aagtaaaac aggcactgca taatctgcac gatctgtgaa gggaaagaat ggaatggagc 4380

caactgccc aagtgtggaa gacaaggaaa gcccataaca tgtggaatga cactcgcaga 4440

ctttgaggag aaacattaca aaaagatatt tataagagaa gaatcttctt gtcctgtgcc 4500

ttttgatcct tcttgccatt gtaattatit tcgccacgat gggcctttca ggaaagagta 4560

taagggttac gtccaataca cagccagagg acaactcttt ctgaggaacc taccaattct 4620

agcgacgaag atgaagctat taatggtggg aaacctcggc gcagaaattg gcgacctgga 4680

acatctagga tgggtactga gagggccagc cgtgtgcaaa aaaattacca accatgagaa 4740

gtgccacgta aacatcatgg ataagctaac tgcatttttt ggaatcatgc ctagaggcac 4800

gaccctagg gcacctgiga gggtcccccac agcactacta aaagtgagaa gggggctaga 4860

gacgggatgg gcttacacgc accaaggagg gatcagctcg gtagaccatg tcacagccgg 4920

aaaggattta ctagtgtgtg acagtatggg caggaccagg gttgtctgtc atagtaacaa 4980
 taagatgact gatgagactg agtatggcat caagaccgac tcagggtgtc ccgaaggtgc 5040
 gaggtgttac gtgctaaacc cagaagctgt taacatttct ggcacaaaag gagctatggt 5100
 acacctccag aaaacggggg gggagtgcac atgtgtcact gcctcaggga ccccggttt 5160
 ctctgatctg aaaaatctaa aaggctgttc cgggctacca attttgaag catccagtgg 5220
 cagggtggtt ggtagggtga aagtcggcaa gaatgaggat tccaagcca ccaaactaat 5280
 gagcggaatc cagacagtgt ctaagaacca gacagaccta gcggacatcg taaaaaatt 5340
 gactagtatg aacagaggag agttcaaaca gataacatta gccactgggg caggaanaac 5400
 tacggaactg ccaaggtccg tcatagagga gataggagg caaaaaggg tcttagtcct 5460
 gataaccattg agagcagcag cagagtcagt gtatcagtat atgagagtga agtacccaag 5520
 tatatcttc aatttgagaa taggagatat gaaggaaggt gacatggcca ctggtatcac 5580
 ctacgcctca tatgggtact tttgtcagct tcctcagccc aaactgagag ctgcatggt 5640
 agagtactca tatatattct tagatgagta cactgtgct acacccgagc aattagcaat 5700
 aattggaaag atacacaggt ttgctgaaaa tcttagagtg gtagcaatga cagcaacccc 5760
 agctggaacg gtcacaacga ctggtcagaa acaccctata gaggagtta tagccccaga 5820
 ggtgatgaaa ggtgaagatc taggtagtga atacttgat attgcagggt tgaagatacc 5880
 gactgaagag atgaaaggca acatgctcgt gttcgcgcca actaggaaca tggcagtaga 5940
 aacagctaag aaattgaagg ctaagggata caactctgga tactattaca gtggggaaaa 6000
 cccagagaac ttgagggtgg taacctcgca atccccgtat gtggtagtag ccaccaatgc 6060
 catagagtca ggtgtgacat taccagactt agacacagtt gtagacactg gactaaagtg 6120

tgagaagagg gtgaggattt cttcaaaaat gcccttcatt gtaacaggac ttaagagaat 6180
 ggcagtcaca atcggagagc aagcccagcg caggggtaga gtaggaagag tcaagccagg 6240
 taggtactat aggagtcaag aaacagcttc aggggtcaaaa gattaccatt acgacctact 6300
 gcaagcccag aggtacggaa tagaagatgg aattaatgta acaaagtcac tcaggagat 6360
 gaactatgat tggagccttt acgaagagga cagcttgatg ataactcaac tcgaggtcct 6420
 taacaacctc cttatatcag aagacctgcc tgccgcagtg aagaacatca tggcccgagc 6480
 cgatcaccca gaaccatac aactggccta taacagttat gaaaaccaa ttccagtgt 6540
 gtcccaaag atcaaaaatg gtgaggtgac agacagttat gagaattaca catatctcaa 6600
 tgcaagaaaa ttaggagagg acgtgccggc atatgtgtac gccacagagg atgaggatct 6660
 agcagtggat cttctgggta tggattggcc ggacccaggc aaccaacagg tggtagagac 6720
 agggagggca ttaaaacaag taactggcct atccacagca gaaaacgccc tcttgatagc 6780
 cctattcggc tacgtcgggt accagacact ttcaaaaagg cacatacca tgattactga 6840
 catctataca ctigaagacc acaggcttga ggacacaacc cacctccagt ttgccccaaa 6900
 cgctataagg accgacggca aggactcaga gttgaaggaa ttagctgtgg gagaccttga 6960
 taaatatgtg gacgcactgg tagactactc caaacaaggg atgaaattca tcaaagtcca 7020
 agctgaaaag gtcagagact ccagctctac gaaggaaggc ttgcaaacca ttaaggagta 7080
 tgttgataag tttatacaat cactaacaga gaataaggag gagatcatca ggtatggact 7140
 atggggagtt cacacggcac tctacaaaag ctgggcagcg agactggggc atgaaacagc 7200
 ttttgcaact ttagtggtaa aatggttggc ttttgggggc gaaacggtat ctgctcacat 7260

caagcaagta gcagttgac tagtagtata ttatatcacc aacaaacat cttttcctgg 7320

agatacagag acccaacaag aggggaggaa gtttgtggct agtcttttta tatctgcact 7380

agcaacatac acatataaaa cctggaattta caacaatctg caacgggttg tcgaacctgc 7440

cttagcttac ctcccatatg ctacaagtgc cttgaagttg ttcacacca caagattaga 7500

gagtgtggtc atactcagtt ctacaattta caagacatac ctctctataa ggaagggtaa 7560

gagtgcggc ttgttaggta caggcataag tgcagccatg gagatcttaa accaaaacc 7620

aatctcagta ggtatatctg tgatgctggg gtaggtgcc atcgccgcc ataatgcaat 7680

agaatctagt gaacagaaaa gaactttgct gatgaagtc tttgtaaaaa acttcttaga 7740

ccaagcagca acagatgagc tagtcaaaga gaaccctgaa aaaataatca tggctctatt 7800

tgaagcagtc cagacatag gaaacccct aagactcacc taccatctgt acgggtgta 7860

ctataagggg tgggaagcaa aagaactgc agagaaaact gctggccgca acttattcac 7920

attgatcatg tttaggcct ttgagctttt aggtatggac tcagaaggaa agataagaaa 7980

cttgtcaggc aactacatac tggacttaat cttcaacttg cataataaat taaacaagg 8040

gctcaaaaaa ctatgccttg ggtgggctcc tgcaccttg agctgtgatt ggacaccaag 8100

tgatgagaga ataagcctac ctcataacaa ctacttaagg gtagaaacca ggtgtccttg 8160

tggctatgag atgaaggcaa taaaaatgt tgctggtaaa ttgacaaaag ttgaagaaaa 8220

ggggtccttc ctatgcagga atagattagg gagaggacct ccaaacttca aagtaacaaa 8280

gttctatgat gataacttga tagaagtcaa gccagtagct aggctagaag gccaggtgga 8340

cctctattac aaggagtaa cagctaagtt agactacaac aatgggaaag tactgttagc 8400

taccaacaag tgggaggtgg accacgcttt cctgaccaga ctagtaaga agcacacagg 8460

gataggtttt aaagtgcat atttgggtga ccgaccagac catcaagatc ttgtcgatag 8520
agatttgca aciataacga agaactcagt acagttccta aaaatgaaga agggttgcgc 8580
tttcacatat gacctaacaa tctctaacct tgtcaggctt attgaactag tccataagaa 8640
taatttaciaa gaaagagaga tccctaccgt gacagtaact acttggcttg catattcttt 8700
tgtcaatgaa gacctgggga ctatcaagcc tgtattgggg gagaaagtca tcccagaacc 8760
ccccaggag ttgagtcctc aaccaccgt gagactagtc accactgaaa cagcaataac 8820
cataacaggg gaggtgaag tgatgacgac agggatcaca ccagtggtag agatgaaaga 8880
agaacctcag ctggaccacc agtcaactac cctaaaggta gggttgaagg aagggaata 8940
tccagggccca ggagttaacc ctaaccattt agcagagggtg atagatgaga aagatgacag 9000
gccttttgtc ctaatcatcg gtaacaaagg ttctacctcg aacagagcaa gaacggccaa 9060
gaatatacgg ctgtacaaag gaaacaacc aagagagatc agggatctga tgagccaagg 9120
aagaatattg acggttgctc taaaagagtt ggacccggaa ttaaaagaat tagtagatta 9180
caaggggacc ttctcaata gggaagcttt agaagcccta agcttagta agccaatcaa 9240
gagggaaacc acaacagcaa tgatcaggag gttaatagag ccagaggttg aggaggaact 9300
accagattgg ttccaagcgg aagaaccct atttttggaa gcaaaaatac agaatgactt 9360
ataccaccta attggcagtg tagatagtat aaaaagcaaa gcaaaggaat taggggccac 9420
agataacaca aagatagtg aggaagttgg ggctaggacc tatacgatga aattgagcag 9480
ctggagcaca caagttacia aaaaacagat gagtctagcc cctctctttg aagagctgtt 9540
attaaagtgc cctccatgta gtaaaatttc aaagggacat atggtgtcag cataccaact 9600

ggctcaagga aactgggaac ccctcgggtg tgggtctat atgggaacca taccagctag 9660

gcgtctcaag atccaccctt atgaggctta ccttaaactc aaagagctgg tggagttga 9720

atcttcgagg gccactgcaa aagaatccat cataagagaa cataacacct ggatcctgcg 9780

gaaggtgaga catgaaggga acctaagaac caaatcaatg atcaaccctg ggaaaatc 9840

agatcagcta tgcagagatg gacacaaaag aaacatatat aataagatca taggctcaac 9900

aatggcctct gctggtatta ggctggagaa actgccagta gtccgagccc aaactgacac 9960

aaccagtttc caccaagcca taagagaaaa aattgataaa acagaaaaca agcagacccc 10020

tgaattgcat gaagaactaa tgaaggcttt cgactgctta aagatcccag agctgaagga 10080

atcgtatgat gaagtttcat gggaacaatt agaagccggg ataaaccgta aggggtgcagc 10140

aggctatcta gagagcaaga acatagggga agtcctagac acagagaaac acatagtaga 10200

gcagctgac aaggatctga ggaaggggaa gaagattagg tactatgaaa cagccatccc 10260

caagaatgag aagagagacg tcagcgacga ctgggaagcc ggagagttag ttgatgaaaa 10320

gaaaccaaga gtaatccagt acccgacgc caaggtgaga ctggccatta caaaagtat 10380

gtacaaatgg gtaaagcaaa aaccagtgtt gataccggc tatgaagta aaacacctct 10440

attgacata ttcaacaaag tgaagaagga atgggattca ttccaggacc ccgtagcagt 10500

gagctttgac accaaagcgt gggatacaca agtcaccagt agagacctaa tgttgataaa 10560

ggatatccag aaatattatt tcaagagaag tatacacaaa ttttagata caataacaga 10620

acacatggtg gaggtacctg tcattacagc agacggtgaa gtttacataa ggaatggtca 10680

gaggggtagt ggccaaccg acacaagtgc tgtaaatagt atgttgatg tcctaaccat 10740

gatatatgct ttctgtaaaa gtacaggcat accttacagg ggattcagca gagtggcaag 10800

aatccatgtg tgtggtgatg atggcttttt gataacagag agaggactgg gactgaaatt 10860

ctctgagaag ggatgcaga tattacatga ggccgggaag cccagaaaa taactgaagg 10920

ggacaaaatg aaagtggcat acagattcga ggacatagag tttgttccc atactccgt 10980

gccagtcaga tgggcagata acaccagtag ttacatggca gggaggagca cagccactat 11040

actagctaag atggcaacca ggctggattc cagcggagag aggggtagca cagcttatga 11100

gaaggccgta gccttcagct tccttttgat gtactcatgg aatcccgtag ttagaaggat 11160

ctgcttactg gtgtgtcac agtttcaga aatatcccca tccaaaaaca caatatacta 11220

ctaccaaggg gatcccatag ctgcgtacag agaagtgata gggaaacagc tgtgtgaact 11280

gaaaagaaca ggatttgaga agctggctgg tctgaatttg agtatgacca ctctaggcat 11340

ctggacaaaa catactagta aaagactaat ccaagcctgt gtagaaatag gtaagagaga 11400

aggtacctgg ttagttaatg ctgacagact gattgcagga aagactggga agttttacat 11460

cccaagcact gggtgcactc tgttgggaaa aactatgag gaaattaact taaagcaaaa 11520

ggcggcacia ccgccgatag agggggttga cagatataag ttgggcccc tagttaatgt 11580

tatcttgaga aggctgaggg tgatgctgat gacagttgcc agcgggaagct ggtgaatccg 11640

tccggagcgt cgtgccctca ctcaaggttt ttaattgtaa atattgtaa tagacagcta 11700

agatatattat ttagtttga tagtaatgca gtgatagtaa atacccaat ttaacactac 11760

ctccaatgca ctaagcactt tagctgtgtg aggttaactc gacgtccagc gttggactag 11820

ggaagacctc taacagcccc 11840

<210> 3 <211> 12329 <212> DNA <213> Artificial Sequence: Mutated BVDV: XIKE-B <400> 3

gtatacgaga ttagctaaag aactcgtata tggattggac gtcaacaaat ttttaattgg	60
caacgtaggg aaccttcccc tcagcgaagg ccgaaaagag gctagccatg cccttagtag	120
gactagcaaa agtaggggac tagcggtagc agtgagttcg ttggatggcc gaaccctga	180
gtacagggga gtcgtcaatg gttcgacact ccattagtgc aggagtctcg agatgcatg	240
tggacgaggg catgcccacg gcacatctta acccatgcgg gggttgcag ggtgaaagcg	300
ctattcgtgg cgttatggac acagcctgat aggggtgtgc agagacctgc tattccgcta	360
gtaaaaactc tgctgtacat ggcacatgga gttgttttca aatgaacttt tataaaaaac	420
atataaaca aaaccagcag gcgtcgtgga acctgtttac gacgtcaacg ggcgcccact	480
gtttggagag agcagtgact tgcacccgca gtcaacacta aaactaccac accaacgagg	540
cagcgccaac atcctgacca atgctaggtc cctaccgcgg aaagtgact gccggagagg	600
taatgtgtat ggaccggiga gtggcatcta tatcaaacca ggaccgatct actaccagga	660
ttatgtgggc cccgtctatc atagagcccc actggaacta tgtagggagg caagtatgtg	720
cgaacaact aggagagttg gcagagtgc cggtagtgc gggaaattat atcatatcta	780
catctgcata gatgggtgta tcctcctgaa gagggcgact aggaaccaac cagaagtct	840
gaaatgggta tacaacagat taaattgtcc tttatgggtc accagctgct ccgatgaagg	900
gagcaagggt gctacaagta agaagcagcc taagccagat aggatagaaa aaggtgaagat	960
gaaaatagcc caaaagaga cagaaaaaga ttgcaaaacc agacccccg acgcgactat	1020
agtagtagaa ggggttaagt accaggtgaa gaaaaaagga aaggtlaagg gaaaaaatac	1080
tcaagatggg ttatatcaca acaagaataa gccccctgaa tcaagaaaaa aattggaaaa	1140
ggcactgctg gcttgggcca tcttagcagc ggtcctgctt cagctggtaa caggagagaa	1200

tatcaccag tggaacttga tggacaacgg caccgagga atacagcaag cgatgttctt 1260

aagaggggtg aacaggagtc tacatggaat ttggccagag aaaatttgca cggagtacc 1320

aactcactta gcaacagact atgagcttaa agagatagtg gggatgatgg acgcgagtga 1380

gaagaccaac tacacgtgtt gcaggttgca aagacatgag tggaataaag gttggtgtaa 1440

ctggtttcat atagaaccgt ggatatggtt gatgaacaaa acccaaaaca acctgacaga 1500

agggaacccg cttaggagtg gtgctgtgac ttgtaggtat gacaaggaaa cagaattgaa 1560

catcgtgaca caggctaggg acagacctac aactctgaca ggttgcaaga aaggcaagaa 1620

tttctctttc gcaggtgtta tactggatgg gccctgtaac tttaaagtat cggttgaaga 1680

tgtgctgttc aaggagcacg attgcggcaa catgctgcaa gagaccgca tacagctact 1740

cgatggggca accaacacca ttgaggagc aagggtaggg acggccaagt tgacaacctg 1800

gttagggaag caattagga tccttggtta gaagttggag aacaaaagca aagcatggtt 1860

tggtgcacat gcagcaagtc catactgcgg agtggagagg aagatcggtt acgtatggtt 1920

tacaaaaaac tgactccag ctgtccttcc aagaaacact agaataatag gccccgggaa 1980

atttgatacc aaccccgaag atggaaaaat actccatgag atgggggggc acctctcaga 2040

attgtccta ttgtccttgg tggttctgtc tgactttgcc ccggaaccg cgagcgtcat 2100

ctacttggtt ctacattttg cgatcccga aagccacgtt gatgtagaca catgcgacaa 2160

gaaccagctg aatttaacgg tagcaaccac agtagcagag gtcataccag ggacagtgtg 2220

gaacctaggg aagtatgtct gcataagacc agactggtgg ccatatgaga cgacgacagt 2280

cttcgtcata gaggaagcag ggcaagtaat caaattgatg ctaagggccca tcagagactt 2340

aactaggata tggaatgctg ccactaccac agctttctta atcttttttag taaaagcact 2400

gaggggacaa ctaatccaag ggctattgtg gctgatgcta ataacaggag cacagggctt 2460

ccctgaatgc aaagagggtt tccaatatgc catatctaaa gacaggaaaa tggggttatt 2520

ggggccagag agcttaacta caacatggca cctccccacc aaaaaaatag tggattccat 2580

ggtgcatgta tgggtggaag gaaaagactt gaaaatatta aaaatgtgca caaaggaaga 2640

gaggtatcta gtggctgtgc acgagagagc cttatcaacc agtgccgagt ttatgcagat 2700

cagtgatggg acaataggcc cagacgtgat agatatgcct gatgactttg agtttggact 2760

ctgcccttgt gactcaaaac cagtataaa gggcaaattt aatgccagct tactgaatgg 2820

accagctttc cagatgggat gccacagggt gtggactggt acaatagaat gcaccctagc 2880

gaaccaagac accttggaac caactgtcat taggacatat agaagaacta cccatttca 2940

gcgagaaaaa tgggtgtacct atgaaaaaat aataggggaa gatatctatg aatgcattct 3000

aggtggaaac tggacatgca taaccggtga ccatagcagg ttgaaagacg gacctatcaa 3060

gaagtgtgaa tgggtgtggc atgacttcgt caactcagag gggctaccac actaccaat 3120

aggcaagtgc atgctcatca acgagagtgg gtacaggtat gtagatgaca cctcttgca 3180

taggggtggt gtagccatag ttccatctgg caccgtaaag tgtagaatag gtaacgtcac 3240

ggtgcaagtt atcgctacta acaatgatct gggacccatg ccttcagcc cagctgaagt 3300

gatatgaagt gaaggaccag tggaaaagac tgcattgaca ttcaactatt caaggactct 3360

acctaataag tattatgagc caagggaccg gtacttccaa caatacatgt taaaagggga 3420

gtggcaatat tggttcgacc tggattctgt agaccaccac aaagactact tctcagagtt 3480

cataatcata gcagtggctg ccttgttggg tggtaagtac gtactgtggc tcttgataac 3540

atacacaata ctgtctgagc agatggctat gggctgctgga gtgaatactg aagagatagt	3600
catgataggc aatttgctga cagacagtga tattgaggtt gtggtttatt tcctttctct	3660
gtacttaata gttaaagagg aactggcgag gaaatggatt atactggtat accacatcct	3720
tgtagccaac cciatgaaaa caattggggt cgtcttacta atgctagggg gagtggtgaa	3780
ggccagcaga atcaatgctg atgaccaaag tgctatggac ccatgcttcc ttctcgtgac	3840
aggcgtagtg gctgttttga tgatcgctag aagagaacct gccacattac cactgattgt	3900
agcattgcta gcaataagaa catcaggatt cctactgccc gctagcattg atgtaactgt	3960
agcagtagta ttaattgtac tttgtttggc tagctacata acagactact ttagatataa	4020
aaagtggctt caactcttat ttagtctgat agctggctac ttattataa ggagcttaaa	4080
acatatcaac cagatggagg taccagaaat atctatgcca agttggagac ctctagctct	4140
ggtccttttc tatataacat ctacagcaat aaccactaat tgggacattg acttagcagg	4200
cttctctgct caatgggcgc cagcagtgat catgatggct accatgtggg cagacttttt	4260
gactctgac atagtcctgc ccagttacga gttatctaag ctttacttcc taaagaacgt	4320
caggacagac gtggaaaaga actggctcgg caaagtgaaa tacagacaga tcagttcagt	4380
ttatgacatc tgtgacagtg aggaagcagt gtacctatct ccatcaaggc ataagagtgg	4440
aagcaggcca gatttcatat tacctttttt gaaagccgtg ttaataagct gcatcagcag	4500
ccaatggcaa gtggtttaca tttcttacct aatactggaa attacatact atatgcacag	4560
gaaaatcata gatgaggtgt caggaggagc aaattttcta tcaagactca tagcagccat	4620
catagaatta aattgggcca tagatgatga ggaatgtaaa ggactgaaga aactgtatct	4680

cttgtcaggg agagcgaaga atttgatagt taaacataag gtaagaaatg aagccgtcca 4740

cagatggttt ggtgaggagg aaatatacgg ggcaccaag gtgatcacta tcataaaagc 4800

tagtaccta agtaaaaaca ggcactgcat aatctgcacg atctgtgaag ggaaagaatg 4860

gaatggagcc aactgccaa agtgtggaag acaaggaaag ccataacat gtggaatgac 4920

actcgagac tttagaggaga aacattaca aaagatattt ataagagaag aatcttcttg 4980

tcctgtgctt ttgatcctt ctgccattg taattattt cgccacgatg ggcctttcag 5040

gaaagagtat aagggttacg tccaatacac agccagagga caactctttc tgaggaaact 5100

accaattcta gcgacgaaga tgaagctatt aatggtggga aacctcgcg cagaaattgg 5160

cgacctggaa catctaggat gggactgag agggccagcc gtgtgcaaaa aaattacaa 5220

ccatgagaag tgccacgtaa acatcatgga taagctaact gcattttttg gaatcatgcc 5280

tagaggcacg acccctaggg cacctgtgag gttccccaca gcactactaa aagtgagaag 5340

ggggctagag acgggatggg cttacacgca ccaaggaggg atcagctcgg tagacatgt 5400

cacagccgga aaggatttac tagtgtgtga cagtatgggc aggaccaggg ttgtctgtca 5460

tagtaacaat aagatgactg atgagactga gtatggcatc aagaccgact cagggtgtcc 5520

cgaaggtgcg aggtgttacg tgctaaacc agaagctgtt aacatttctg gcacaaaagg 5580

agctatggta cacctccaga aaacgggggg ggagttcaca tgtgtcactg cctcaggac 5640

cccggctttc ttgatctga aaaatctaaa aggtgtgtcc gggctacaa tttttgaagc 5700

atccagtggc aggtgtgttg gtaggtgaa agtcggcaag aatgaggatt ccaagcccac 5760

caactaatg agcggaatcc agacagtgtc taagaaccag acagacctag cggacatcgt 5820

aaaaaaattg actagtatga acagaggaga gttcaaacag ataacattag cactggggc 5880

aggaaaaact acggaactgc caaggtccgt catagaggag atagggaggc aaaaaagggt 5940

cttagtcctg atacattga gagcagcagc agagtcagtg tatcagtata tgagagtga 6000

gtaccaagt atatctttca atttgagaat aggagatatg aaggaagggtg acatggccac 6060

tggtatcacc tacgcctcat atgggtactt ttgtcagctt cctcagccca aactgagagc 6120

tgccatggta gagtactcat atatattctt agatgagtac cactgtgcta cacccgagca 6180

attagcaata attggaaga tacacaggtt tgctgaaaat cttagagtgg tagcaatgac 6240

agcaacccca gctggaacgg tcacaacgac tggtcagaaa caccctatag aggagttcat 6300

agccccagag gtgatgaaag gtgaagatct aggtagtga tacttggata ttgcagggtt 6360

gaagataccg actgaagaga tgaaaggcaa catgctcgtg ttgcgcgcaa ctaggaacat 6420

ggcagtagaa acagctaaga aattgaaggc taagggatac aactctggat actattacag 6480

tggggaaaac ccagagaact tgagggtggt aacctcgcaa tccccgtatg tggtagtagc 6540

caccaatgcc atagagtcag gtgtgacatt accagactta gacacagttg tagacactgg 6600

actaaagtgt gagaagaggg tgaggatttc ttcaaaaatg cccttcattg taacaggact 6660

taagagaatg gcagtcacaa tcggagagca agcccagcgc aggggtagag taggaagagt 6720

caagccaggt aggtactata ggagtcaaga aacagcttca gggtcaaaag attaccatta 6780

cgacctactg caagcccaga ggtacggaat agaagatgga attaattgaa caaagtcatt 6840

caggagatg aactatgatt ggagccttta cgaagaggac agcttgatga taactcaact 6900

cgaggtcctt aacaacctcc ttatatcaga agacctgcct gccgcagtga agaacatcat 6960

ggcccgacc gatcaccag aaccataca actggcctat aacagttatg aaaaccaaat 7020

tccagtgtg ttcccaaaga tcaaaaatgg tgaggtgaca gacagttatg agaattacac 7080

atatctcaat gcaagaaaat taggagagga cgtgccggca tatgtgtacg ccacagagga 7140

tgaggatcta gcagtggatc ttctgggtat ggattggccg gaccacaggca accaacaggt 7200

ggtagagaca gggagggcat taaaacaagt aactggctta tccacagcag aaaacgccct 7260

cttgatagcc ctattcggtc acgtcgggtta ccagacactt tcaaaaaggc acatacccat 7320

gattactgac atctatacac ttgaagacca caggcttgag gacacaacc acctccagtt 7380

tgccccaaac gctataagga ccgacggcaa ggactcagag ttgaaggaat tagctgtggg 7440

agaccttgat aaatatgtgg acgcactggt agactactcc aaacaaggga tgaaattcat 7500

caaagtccaa gctgaaaagg tcagagactc ccagtctacg aaggaaggct tgcaaaccat 7560

taaggagtat gtggataagt ttatacaatc actaacagag aataaggagg agatcatcag 7620

glatggacta tggggagttc acacggcact ctacaaaagc ttggcagcga gactggggca 7680

tgaaacagct ttigcaactt tagtggtaaa atggttggct tttgggggcg aaacggtatc 7740

tgctcacatc aagcaagtag cagtigatct agtagtatat tataatcatca acaaaccatc 7800

ttttctgga gatcacagaga cccaacaaga ggggaggaag tttgtggcta gtccttttat 7860

atctgcacta gcaacatata catataaac ctggaattac aacaatctgc aacgggttgt 7920

cgaacctgcc ttagcttacc tcccatatgc tacaagtgcc ttgaagttgt tcacaccac 7980

aagattagag agtgtgtgca tactcagttc tacaatttac aagacatacc tctctataag 8040

gaagggtaa agtgacggct tgtaggttac aggcataagt gcagccatgg agatcttaaa 8100

ccaaaacca atctcagtag gtatatctgt gatgctgggg gtaggtgcc tgcgcccca 8160

taatgcaata gaatctagt aacagaaaag aactttgctg atgaaggtct ttgtaaaaa 8220

cttcttagac caagcagcaa cagatgagct agtcaaagag aacctgaaa aaataatcat 8280

ggctctatTT gaagcagTcc agaccatagg aaaccccta agactcatct accatctgta 8340

cggggTgtac tataaggggt gggaagcaaa agaactcgca gagaaaactg ctggccgcaa 8400

cttattcaca ttgatcatgt ttgagccctt tgagctTTta ggtatggact cagaaggaaa 8460

gataagaaac ttgtcaggca actacatact ggacttaatc ttcaactTgc ataataaatt 8520

aaacaagggg ctcaaaaaac tagtccttgg gtgggctcct gcaccttTga gctgtgattg 8580

gacaccaagt gatgagagaa taagcctacc tcataacaac tacttaaggg tagaaaccag 8640

gtgtccttgt ggctatgaga tgaaggcaat aaaaaatgtt gctggtaaat tgacaaaagt 8700

tgaagaaaag gggTcctTcc tatgcaggaa tagattaggg agaggacctc caaactTcaa 8760

agtaacaaag ttctatgatg ataactTgat agaagtcaag ccagtagcta ggctagaagg 8820

ccaggTggac ctctattaca agggagtaac agctaagtta gactacaaca atgggaaagt 8880

actgttagct accaacaagt gggaggTgga ccacgctTtc ctgaccagac tagtaaagaa 8940

gcacacaggg ataggTttta aaggTgcata ttTgggtgac cgaccagacc atcaagatct 9000

Tgtcgataga gattgtgcaa ctataacgaa gaactcagta cagtTcctaa aatgaagaa 9060

gggtTgcgct ttacatatg acctaacaat ctctaacctt gtcaggctta ttgaactagt 9120

ccataagaat aattTacaag aaagagagat ccctaccgtg acagtaacta ctTggctTgc 9180

atattctTTT gtcaatgaag acctggggac tatcaagcct gtattggggg agaaagTcat 9240

cccagaacc cccgaggagt tgagtctcca acccaccgtg agactagtca ccaTgaaac 9300

agcaataacc ataacagggg aggctgaagt gatgacgaca gggatcacac cagtggtaga 9360

gatgaaagaa gaacctcagc tggaccacca gtcaactacc ctaaaggtag ggttgaagga 9420

aggggaatat ccagggccag gagttaacct taaccattta gcagaggtga tagatgagaa 9480

agatgacagg ccttttgc taatcatcgg taacaaaggt tctacctga acagagcaag 9540

aacggccaag aatatacggc tgtacaaagg aaacaacca agagagatca gggatctgat 9600

gagccaagga agaatatga cggttgctct aaaagagttg gaccggaat taaaagaatt 9660

agtagattac aaggggacct ttctcaatag ggaagcttta gaagccctaa gcttaggtaa 9720

gccaatcaag aggaaaacca caacagcaat gatcaggagg ttaatagagc cagaggttga 9780

ggaggaacta ccagatttgt tccaagcgga agaacccta tttttggaag caaaaatata 9840

gaatgactta taccaccta ttggcagtgt agatagtata aaaagcaaag caaaggaatt 9900

aggggccaca gataacacaa agatagtga ggaagttggg gctaggacct atacgatgaa 9960

attgagcagc tggagcacac aagttacaaa aaaacagatg agtctagccc ctctctttga 10020

agagctgtta ttaaagtgcc ctccatgtag taaaatttca aaggacata tgggtgcagc 10080

ataccaactg gctcaaggaa actgggaacc cctcgggtgt ggggtctata tgggaacat 10140

accagctagg cgctcaaga tccaccctta tgaggcttac cttaactca aagagctgg 10200

ggaagttgaa tcttcgagg ccactgcaaa agaatccatc ataagagaac ataacacctg 10260

gatcctgcgg aaggtgagac atgaaggga cctaagaacc aatcaatga tcaaccctgg 10320

gaaaatatca gatcagctat gcagagatgg acacaaaaga aacatatata ataagatcat 10380

aggctcaaca atggcctctg ctggtattag gctggagaaa ctgccagtag tccgagccca 10440

aactgacaca accagtttcc accaagccat aagagaaaaa attgataaaa cagaaaacaa 10500

gcagaccct gaattgcatg aagaactaat gaaggtcttc gactgcttaa agatccaga 10560

gctgaaggaa tcgtatgatg aagtttcatg ggaacaatta gaagccggga taaaccgtaa 10620

gggtgcagca ggctatctag agagcaagaa cataggggaa gtcctagaca cagagaaaca 10680

catagtagag cagctgatca aggatctgag gaaggggaag aagattaggt actatgaaac 10740

agccatcccc aagaatgaga agagagacgt cagcgacgac tgggaagccg gagagttcgt 10800

tgatgaaaag aaaccaagag taatccagta cccggacgcc aaggtagac tggccattac 10860

aaaagtgatg tacaaatggg taaagcaaaa accagtgggtg ataccggct atgaaggtaa 10920

aacacctcta ttgacatat tcaacaaagt gaagaaggaa tgggattcat tccaggaccc 10980

cgtagcagtg agctttgaca ccaaagcgtg ggatacaca gtcaccagta gagacctaat 11040

gttgataaag gatatccaga aatattatit caagagaagt atacacaaat ttttagatac 11100

aataacagaa cacatgggtg aggtacctgt cattacagca gacggtgaag ttacataag 11160

gaatggtcag aggggtagtg gccaacccga cacaagtgt ggtaatagta tgttgaatgt 11220

cctaaccatg atatatgctt tctgtaaaag tacaggcata ccttacaggg gattcagcag 11280

agtggaaga atccatgtgt gtggtgatga tggctttttg ataacagaga gaggactggg 11340

actgaaattc tctgagaagg gtatgcagat attacatgag gccgggaagc cccagaaaat 11400

aactgaagg gacaaaatga aagtggcata cagattcgag gacatagagt ttgttccca 11460

tactccctg ccagtcagat gggcagataa caccagtagt tacatggcag ggaggagcac 11520

agccactata ctagctaaga tggcaaccag gctggattcc agcgagaga ggggtagcac 11580

agcttatgag aaggccgtag ccttcagctt ccttttgatg tactcatgga atcccgtagt 11640

tagaaggatc tgcttactgg tgtttgcaca gtttcagaa atatcccat ccaaaaacac 11700

aatatactac taccaagggg atcccatagc tgcgtacaga gaagtgatag gaaacagct 11760

gtgtgaactg aaaagaacag gatttgagaa gctggctggg ctgaatttga gtaggaccac 11820

tctaggcatc tggacaaaac atactagtaa aagactaatc caagcctgtg tagaaatagg 11880

taagagagaa ggiacctggg tagttaatgc tgacagactg attgcaggaa agactgggaa 11940

gttttacatc ccaagcactg gtgtcactct gtgggaaaa cactatgagg aaattaactt 12000

aaagcaaaag gcggcacaac cgccgataga gggggttgac agatataagt tgggccccat 12060

agttaatgtt atcttgagaa ggctgagggt gatgctgatg acagttgcca gcggaagctg 12120

gtgaatccgt ccggagcgtc gtgccctcac tcaaggtttt taattgtaa tattgtaat 12180

agacagctaa gatatttatt gtagttggat agtaatgcag tgatagtaa taccaccaatt 12240

taacactacc tccaatgcac taagcacttt agctgtgtga ggtaactcg acgtccacgg 12300

ttggactagg gaagacctct aacagcccc 12329

<210> 4 <211> 11837 <212> DNA <213> Artificial Sequence: Mutated BVDV: XIKE-B-NdN <400> 4
 gtatacgaga ttagctaaag aactcgtata tggattggac gtcaacaaat ttttaattgg 60

caacgtaggg aaccttcccc tcagcgaagg ccgaaaagag gctagccatg cccttagtag 120

gactagcaaa agtaggggac tagcggtagc agtgagtctg ttggatggcc gaaccctga 180

gtacagggga gtcgtcaatg gttcgacact ccattagtctg aggagtctcg agatgccatg 240

tggacagagg catgccacg gcacatctta acccatgcgg gggttgcatg ggtgaaagcg 300

ctattcgtgg cgttatggac acagcctgat aggggtgtagc agagacctgc tattccgcta 360

gtaaaaactc tgctgtacat ggcacatgga gttgttttcc gatgaaggga gcaagggtgc 420

tacaagtaag aagcagccta agccagatag gatagaaaaa ggtaagatga aaatagcccc 480

aaaagagaca gaaaaagatt gcaaaaccag accccccgac gcgactatag tagtagaagg 540
 ggттааgtac caggтgaаga ааааaggааа ggтаagggga аааааtactc ааgatgggtт 600
 atatcacaac ааgaataаgc cccctgaatc ааgааааааа ttggаааagg cactgctggc 660
 ttgggccatc ttagcagcgg tcctgcttca gctggtaaca ggagagaata tcaccцagtг 720
 gaacttgatg gacaacggca ccgagggaat acagcaagcg atgttcctaa gaggggtgaa 780
 caggagtcta catggaattt ggccagagaa aatttgcacc ggaglacca ctcacttagc 840
 ааcagactat gagctтааag агatagtggg gatgatggac gcgagtгaga агaccaacta 900
 cactgtttgc aggttgcaaa gacatgagtг gaataаaggт tggтgтаact ggtttcatat 960
 agaaccgtgg atatggtтga tgaacaaaac ccaaaacaac ctgacagaag ggcaaccgct 1020
 tagggagtgt gctgtgactт gtaggtatga caaggaaaca gaattgaaca tcgtgacaca 1080
 ggctagggac агacctaca cтctgacagg ttgcaagaaa ggcaagaatt tctctttcgс 1140
 aggtgttata ctggatgggc cctgтаactт тааagtatcg gttgaagatg tgctgttcaa 1200
 ggagcacgat tgcggcaaca tgctgcaaga gaccgсgata cagctactcg atggggcaac 1260
 caacaccatt gagggagcaa gggtagggac ggccaagtтg аcaacctggt tagggaaгca 1320
 attagggatc ctiggтааga агttggagaa caaaagcaaa гcatggttтg gtgcacatgc 1380
 агcaagtcca tactgсggag tggagaggaa gatcggttac gtatggtata caaaaaactg 1440
 cactccagct tgccttccaa gaaacactag атаataggc cccgggaaat ttgataccaa 1500
 gсccgaagat ggaaaaatac tccatgagat gggggggсac ctctcagaat ttgtcctatt 1560
 gtctttggtg gttctgtctg actttgcccc ggaaaccгg agcgtcatct acttggttct 1620
 acattttгcg atccгcaaa gccacgtтga tгtagacaca tгcгacaaga accagctgaa 1680

tttaacggta gcaaccacag tagcagaggt cataccaggg acagtgtgga acctagggaa 1740
 gtatgtctgc ataagaccag actgggtggc atatgagacg acgacagtct tcgtcataga 1800
 ggaagcaggg caagtaatca aattgatgct aagggccatc agagacttaa ctaggatatg 1860
 gaatgctgcc actaccacag ctttcttaat ctttttagta aaagcactga ggggacaact 1920
 aatccaaggg ctattgtggc tgatgctaataac aacaggagca cagggttcc ctgaatgcaa 1980
 agagggttc caatatgcca tatctaaaga caggaaaatg gggttattgg gccagagag 2040
 cttactaca acatggcacc tccccacaa aaaaatagtg gattccatgg tgcattatg 2100
 gtgtgaagga aaagacttga aaatattaaa aatgtgcaca aaggaagaga ggtatctagt 2160
 ggctgtgcac gagagagcct tatcaaccag tgccagttt atgcagatca gtgatgggac 2220
 aataggccca gacgtgatag atatgcctga tgactttgag tttggactct gcccttgtga 2280
 ctcaaaaacca gtgataaagg gcaaatata tgccagctta ctgaatggac cagctttcca 2340
 gatggtatgc ccacaggggt ggacttggtac aatagaatgc accctagcga accaagacac 2400
 ctggacaca actgtcatta ggacatatag aagaactacc ccatttcagc ggagaaaatg 2460
 gtgtacctat gaaaaataa taggggaaga tatctatgaa tgcatcttag gtggaaactg 2520
 gacatgcata accggtgacc atagcaggtt gaaagacgga cctatcaaga agtctaagt 2580
 gtgtggccat gacttcgtca actcagaggg gctaccacac taccaatag gcaagtgc 2640
 gctcatcaac gagagtgggt acaggtatgt agatgacacc tcttgcgata ggggtggtgt 2700
 agccatagtt ccatctggca ccgtaaagt tagaataagt aacgtcacgg tgcaagtat 2760
 cgctactaac aatgatctgg gacctatgcc ttgcagccca gctgaagtga tagcaagtga 2820

aggaccagtg gaaaagactg catgcacatt caactattca aggactctac ctaataagta 2880

ttatgagcca agggaccggt acttccaaca atacatgtta aaaggggagt ggcaatattg 2940

gttcgacctg gattctgtag accaccacaa agactacttc tcagagttca taatcatagc 3000

agtggtcgcc ttgttgggtg gtaagtacgt actgtggctc ttgataacat acacaatact 3060

gtctgagcag atggctatgg gtgctggagt gaatactgaa gagatagtca tgataggcaa 3120

tttgctgaca gacagtgata ttgaggttgi ggtttatttc cttcttctgt acttaatagt 3180

taaaggaggaa ctggcgagga aatggattat actggtatac cacatccttg tagccaaccc 3240

tatgaaaaca attggggtcg tcttactaat gctaggggga gtggtgaagg ccagcagaat 3300

caatgctgat gaccaaagtg ctatggacc atgctttctt ctcgtgacag gcgtagtggc 3360

tgttttgatg atcgctagaa gagaacctgc cacattacca ctgattgtag cattgctagc 3420

aataagaaca tcaggattcc tactgcccgc tagcattgat gtaactgtag cagtagtatt 3480

aattgtactt ttgttggcta gctacataac agactacttt agatataaaa agtggcttca 3540

actcttattt agictgatag ctggiatctt tattataagg agcttaaaac atatcaacca 3600

gatggaggta ccagaaatat ctatccaag ttggagacct ctagctctgg tccttttcta 3660

tataacatct acagcaataa ccactaattg ggacattgac ttagcaggct tctgtctgca 3720

atgggcgcca gcagtgatca tgatggctac catgtgggca gactttttga ctctgatcat 3780

agtcctgccc agttacgagt tatctaagct ttacttccta aagaacgtca ggacagacgt 3840

ggaaaagaac tggtcggca aagtgaata cagacagatc agttcagttt atgacatctg 3900

tgacagtgag gaagcagtgt acctatttcc atcaaggcat aagagtggaa gcaggccaga 3960

tttcatatta ccttttttga aagccgtgtt aataagctgc atcagcagcc aatggcaagt 4020

ggtttacatt tcttacctaa tactggaaat tacatactat atgcacagga aaatcataga 4080
 tgagggtgtca ggaggagcaa attttctatc aagactcata gcagccatca tagaattaaa 4140
 ttgggccata gatgatgagg aatgtaaagg actgaagaaa ctgtatctct tgtcaggag 4200
 agcgaagaat ttgatagtta aacataaggt aagaaatgaa gccgtccaca gatggtttgg 4260
 tgaggaggaa atatacgggg cacccaaggt gatcactatc ataaaagcta gtaccctaag 4320
 taaaaacagg cactgcataa tctgcacgat ctgtgaaggg aaagaatgga atggagccaa 4380
 ctgccccaaag tgtggaagac aaggaaagcc cataacatgt ggaatgacac tcgcagactt 4440
 tgaggagaaa cattacaaaa agatatattat aagagaagaa tcttcttgtc ctgtgccttt 4500
 tgatccttct tgccattgta attatitttcg ccacgatggg cctttcagga aagagtataa 4560
 gggttacgtc caatacacag ccagaggaca actctttctg aggaacctac caattctagc 4620
 gacgaagatg aagctattaa tgggtgggaaa cctcggcgca gaaattggcg acctggaaca 4680
 tctaggatgg gtactgagag ggccagccgt gtgcaaaaaa attaccaacc atgagaagtg 4740
 ccacgtaaac atcatggata agctaactgc attttttga atcatgccta gaggcacgac 4800
 ccctagggca ccgtgaggt tccccacagc actactaaaa gtgagaaggg ggctagagac 4860
 gggatgggct tacacgcacc aaggagggat cagctcggta gaccatgtca cagccggaaa 4920
 ggatttacta gtgtgtgaca gtatgggcag gaccagggtt gtctgtcata gtaacaataa 4980
 gatgactgat gagactgagt atggcatcaa gaccgactca ggggtgcccg aaggtgcgag 5040
 gtgttacgtg ctaaaccag aagctgttaa catctctggc aaaaaggag ctatgttaca 5100
 cctccagaaa acgggggggg agttcacatg tgcactgcc tcagggaccc cggctttctt 5160

cgatctgaaa aatctaaaag gctggtccgg gctaccaatt tttgaagcat ccagtggcag 5220

ggtggttggg aggtgaaaag tcggcaagaa tgaggattcc aagcccacca aactaatgag 5280

cggaatccag acagtgtcta agaaccagac agacctagcg gacatcgtaa aaaaattgac 5340

tagtatgaac agaggagagt tcaaacagat aacattagcc actggggcag gaaaaactac 5400

ggaactgcca aggtccgtca tagaggagat agggaggcac aaaagggtct tagtcctgat 5460

accattgaga gcagcagcag agtcagtgtg tcagtatatg agagtgaagt acccaagtat 5520

atctttcaat ttgagaatag gagatatgaa ggaaggtgac atggccactg gtatcaccta 5580

cgctcatat ggttactttt gtcagcttcc tcagcccaaa ctgagagctg ccatggtaga 5640

gtactcatat atattcttag atgagtacca ctgtgctaca cccgagcaat tagcaataat 5700

tggaaagata cacaggtttg ctgaaaatct tagagtggta gcaatgacag caaccccagc 5760

tggaacggtc acaacgactg gtcagaaaca ccctatagag gatttcatag ccccagaggt 5820

gatgaaaggt gaagatctag gtagtgaata cttggatatt gcagggttga agataccgac 5880

tgaagagatg aaaggcaaca tgctcgtgtt cgcgccaact aggaacatgg cagtagaaac 5940

agctaagaaa ttgaaggcta agggatacaa ctctggatac tattacagtg gggaaaaccc 6000

agagaacttg aggttggtta cctcgcaatc cccgtatgtg gtagtagcca ccaatgccat 6060

agagtcaggt gtgacattac cagacttaga cacagttgta gacactggac taaagtgtga 6120

gaagaggggtg aggttttctt caaaaatgcc ctfcattgta acaggactta agagaatggc 6180

agtcacaatc ggagagcaag cccagcgcag gggtagagta ggaagagtca agccaggtag 6240

gtactatagg agtcaagaaa cagcttcagg gtcaaaagat taccattacg acctactgca 6300

agcccagagg tacggaatag aagatggaat taatgtaaca aagtcattca gggagatgaa 6360

ctatgattgg agcctttacg aagaggacag cttgatgata actcaactcg aggtccttaa 6420

caacctcctt atatcagaag acctgcctgc cgcagtgaag aacatcatgg cccggaccga 6480

tcaccagaa ccatacaac tggcctataa cagttatgaa aaccaaattc cagtgcctgtt 6540

cccaaagatc aaaaatggtg aggtgacaga cagttatgag aattacacat atctcaatgc 6600

aagaaaatta ggagaggacg tgccggcata tgtgtacgcc acagaggatg aggatctagc 6660

agtggatctt ctgggtatgg attggccgga cccaggcaac caacaggtgg tagagacagg 6720

gagggcatta aaacaagtaa ctggcttatt cacagcagaa aacgccctct tgatagccct 6780

attcggctac gtcgggtacc agacactttc aaaaaggcac atacccatga ttactgacat 6840

ctatacactt gaagaccaca ggcttgagga cacaaccac ctccagtttg ccccaaacgc 6900

tataaggacc gacggcaagg actcagagtt gaaggaatta gctgtgggag accttgataa 6960

atatgtggac gcactggtag actactccaa acaagggatg aaattcatca aagtccaagc 7020

tgaaaaggtc agagactccc agtctacgaa ggaaggcttg caaaccatta aggagiatgt 7080

ggataagttt atacaatcac taacagagaa taaggaggag atcatcaggt atggactatg 7140

gggagttcac acggcactct acaaaagcct ggacagcaga ctggggcatg aaacagcttt 7200

tgcaacttta gtggtaaaat ggttggcttt tgggggcgaa acggtatctg ctcacatcaa 7260

gcaagtagca gttgatctag tagtatatta tatcatcaac aaaccatctt ttcctggaga 7320

tacagagacc caacaagagg ggaggaagtt tgtggctagt ctttttatat ctgcactagc 7380

aacatacaca tataaaacct ggaattacaa caatctgcaa cgggttgtcg aacctgcctt 7440

agcttacctc ccatatgeta caagtgcctt gaagttgttc acaccacaa gattagagag 7500

tgtggtcata ctcaattcta caatttacia gacatacttc tctataagga agggtaagag 7560
 tgacggcttg ttaggtacag gcataagtgc agccatggag atcttaaacc aaaaccaat 7620
 ctcaagtaggt atatctgtga tgctgggggt aggtgccatc gccgcccata atgcaataga 7680
 atctagtga cagaaaagaa ctttctgat gaaggtcttt gtaaaaaact tcttagacca 7740
 agcagcaaca gatgagctag tcaaagagaa cctgaaaaa ataactcatg ctctatttga 7800
 agcagtcag accataggaa acccctaag actcatctac catctgtacg ggtgtacta 7860
 taaggggtg gaagcaaaag aactcgcaga gaaaactgct ggccgcaact tattcacatt 7920
 gatcatgttt gaggccttg agcttttagg tatggactca gaaggaaaga taagaaactt 7980
 gtcaggcaac tacatactgg acttaactct caacttgcac aataaattaa acaaggggt 8040
 caaaaaacta gtccttgggt gggctcctgc acctttgagc tgtgattgga caccaagtga 8100
 tgagagaata agcctactc ataacaacta cttagggtg gaaaccaggt gtccttgtg 8160
 ctatgatg aaggcaataa aaaatgttgc tggtaaattg acaaaagtg aagaaaagg 8220
 gtccttccta tgcaggaata gattaggag aggacctcca aacttcaaag taacaaagt 8280
 ctatgatgat aacttgatag aagtcaagcc agtagctagg ctagaaggcc aggtggacct 8340
 ctattacaag ggagtaacag ctaagttaga ctacaacaat gggaaagtac tgtagctac 8400
 caacaagtgg gaggtggacc acgctttcct gaccagacta gtaagaagc acacaggat 8460
 aggtttttaa ggtgcatatt tgggtgaccg accagacct caagatcttg tcgatagaga 8520
 ttgtgcaact ataacgaaga actcagtaca gtctctaaaa atgaagaagg gttgcgctt 8580
 cacatatgac ctaacaatct ctaacctgt caggttatt gaactagtcc ataagaataa 8640
 tttaacagaa agagagatcc ctacctgac agtaactact tggttgcat attctttgt 8700

caatgaagac ctggggacta tcaagcctgt attgggggag aaagtcaccc cagaaccccc 8760

cgaggagttg agtctccaac ccaccgtgag actagtcacc actgaaacag caataacccat 8820

aacaggggag gctgaagtga tgacgacagg gatcacacca gtggtagaga tgaaagaaga 8880

acctcagctg gaccaccagt caactaccct aaaggtaggg ttgaaggaag gggaatatcc 8940

agggccagga gttaaccta accatttagc agaggtgata gatgagaaag atgacaggcc 9000

ttttgtccta atcatcggtg acaaaggttc tacctcgaac agagcaagaa cggccaagaa 9060

tatacggctg tacaaaggaa acaacccaag agagatcagg gatctgatga gccaaggaag 9120

aatattgacg gttgctctaa aagagttgga cccggaatta aaagaattag tagattacaa 9180

ggggaccttt ctcaataggg aagctttaga agccctaagc ttaggtaagc caatcaagag 9240

gaaaaccaca acagcaatga tcaggagggtt aatagagcca gaggttgagg aggaactacc 9300

agattgggtc caagcggaag aaccctatt tttggaagca aaaatacaga atgacttata 9360

ccacctaatt ggagtgtag atagtataaa aagcaaagca aaggaattag gggccacaga 9420

taacacaaag atagtgaagg aagttggggc taggacctat acgatgaaat tgagcagctg 9480

gagcacacaa gttacaaaaa aacagatgag tctagccctt ctctttgaag agctgttatt 9540

aaagtgccct ccatgtagta aaatttcaa gggacatatg gtgtcagcat accaactggc 9600

tcaaggaaac tggaacccc tcgggtgtgg ggtctatatg ggaaccatac cagctaggcg 9660

tctcaagatc cacccttatg aggtttacct taaactcaaa gagctggtgg aagttgaatc 9720

ttcgagggcc actgcaaaag aatccatcat aagagaacat aacacctgga tcctgcggaa 9780

ggtgagacat gaagggaacc taagaaccaa atcaatgac aacctggga aaatatcaga 9840

tcagctatgc agagatggac acaaaagaaa catatataat aagatcatag gctcaacaat 9900

ggcctctgct ggtattaggc tggagaaact gccagtagtc cgagcccaaa ctgacacaac 9960

cagtttccac caagccataa gagaaaaaat tgataaaaca gaaaacaagc agaccctga 10020

attgcatgaa gaactaatga aggtcttcga ctgcttaaag atcccagagc tgaaggaatc 10080

glatgatgaa gtttcatggg aacaattaga agccgggata aaccgtaagg gtgcagcagg 10140

ctatctagag agcaagaaca taggggaagt cctagacaca gagaacaca tagtagagca 10200

gctgatcaag gatctgagga aggggaagaa gattaggtac tatgaaacag ccatcccaa 10260

gaatgagaag agagacgtca gcgacgactg ggaagccgga gagttcgttg atgaaaagaa 10320

accaagagta atccagtacc cggacgcaa ggtgagactg gccattaca aagtgatgta 10380

caaatgggta aagcaaaaac cagtggatgat acccggtat gaaggtaaaa cacctctatt 10440

tgacatattc acaaaagtga agaaggaatg ggattcattc caggaccccg tagcagttag 10500

ctttgacacc aaagcgtggg atacacaagt caccagtaga gacctaatgt tgataaagga 10560

tatccagaaa tattatttca agagaagtat acacaaattt ttagatacaa taacagaaca 10620

catggtggag gtacctgtca ttacagcaga cggatgaagtt tacataagga atggtcagag 10680

gggtagtggc caaccgaca caagtgtgg taatagtatg ttgaatgtcc taacctgat 10740

atatgctttc tgtaaaagta caggcatacc ttacagggga ttcagcagag tggcaagaat 10800

ccatgtgtgt ggtgatgatg gctttttgat aacagagaga ggactgggac tgaaattctc 10860

tgagaagggt atgcagatat tacatgaggc cgggaagccc cagaaaataa ctgaagggga 10920

caaatgaaa gtggcataca gattcgagga catagagttt tgttccata ctcccgtgcc 10980

agtcagatgg gcagataaca ccagtagtta catggcaggg aggagcacag ccactatact 11040

agctaagatg gcaaccaggc tggattccag cggagagagg ggtagcacag cttatgagaa 11100

ggccgtagcc ttcagcttcc ttttgatgia ctcattggaat cccgtagtta gaaggatctg 11160

cttactgggtg ttgtcacagt ttccagaaat atccccatcc aaaaacacaa tataactacta 11220

ccaaggggat cccatagctg cgtacagaga agtgataggg aaacagctgt gtgaactgaa 11280

aagaacagga ttgagaagc tggctgggtct gaatttgagt atgaccactc taggcatctg 11340

gacaaaacat actagtaaaa gactaatcca agcctgtgta gaaataggta agagagaagg 11400

tacctggtta gttaatgctg acagactgat tgcaggaaag actgggaagt tttacatccc 11460

aagcactggt gtcactctgt tgggaaaaca ctataggaa attaacttaa agcaaaagc 11520

ggcacaaccg ccgatagagg gggttgacag atataagttg ggccccatag ttaatgttat 11580

cttgagaagg ctgagggtga tgctgatgac agttgccagc ggaagctggt gaatccgtcc 11640

ggagcgtcgt gccctcactc aaggttttta attgtaaata ttgtaaatag acagctaaga 11700

tatttattgt agttggatag taatgcagtg atagtaaata cccaattta acactacctc 11760

caatgcacta agcactttag ctgtgtgagg ttaactcgac gtccacggtt ggactaggga 11820

agacctctaa cagcccc 11837

<210> 5

<211> 3913

<212> PRT

<213> Wildtyp BVDV: XIKE-A

<400> 5

Met Glu Leu Phe Ser Asn Glu Leu Leu Tyr Lys Thr Tyr Lys Gln Lys

1 5 10 15

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

Phe Gly Glu Ser Ser Asp Leu His Pro Gln Ser Thr Leu Lys Leu Pro
35 40 45

His Gln Arg Gly Ser Ala Asn Ile Leu Thr Asn Ala Arg Ser Leu Pro
50 55 60

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

Ile Tyr Ile Lys Pro Gly Pro Ile Tyr Tyr Gln Asp Tyr Val Gly Pro
85 90 95

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

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

Tyr His Ile Tyr Ile Cys Ile Asp Gly Cys Ile Leu Leu Lys Arg Ala
130 135 140

Thr Arg Asn Gln Pro Glu Val Leu Lys Trp Val Tyr Asn Arg Leu Asn
145 150 155 160

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

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

Lys Ile Ala Pro Lys Glu Thr Glu Lys Asp Cys Lys Thr Arg Pro Pro

195	200	205
Asp Ala Thr Ile Val Val Glu Gly Val Lys Tyr Gln Val Lys Lys Lys		
210	215	220
Gly Lys Val Arg Gly 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 Ala Val Leu Leu Gln Leu Val Thr Gly Glu Asn		
260	265	270
Ile Thr Gln Trp Asn Leu Met Asp Asn Gly Thr Glu Gly Ile Gln Gln		
275	280	285
Ala Met Phe Leu Arg Gly Val Asn Arg Ser Leu His Gly Ile Trp Pro		
290	295	300
Glu Lys Ile Cys Thr Gly Val Pro Thr His Leu Ala Thr Asp Tyr Glu		
305	310	315 320
Leu Lys Glu Ile Val 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 Phe His Ile Glu Pro Trp Ile Trp Leu Met Asn Lys Thr Gln		
355	360	365
Asn Asn Leu Thr Glu Gly Gln Pro Leu Arg Glu Cys Ala Val Thr Cys		
370	375	380
Arg Tyr Asp Lys Glu Thr Glu Leu Asn Ile Val Thr Gln Ala Arg Asp		

385					390						395						400
Arg	Pro	Thr	Thr	Leu	Thr	Gly	Cys	Lys	Lys	Gly	Lys	Asn	Phe	Ser	Phe		
				405						410					415		
Ala	Gly	Val	Ile	Leu	Asp	Gly	Pro	Cys	Asn	Phe	Lys	Val	Ser	Val	Glu		
			420					425					430				
Asp	Val	Leu	Phe	Lys	Glu	His	Asp	Cys	Gly	Asn	Met	Leu	Gln	Glu	Thr		
		435					440						445				
Ala	Ile	Gln	Leu	Leu	Asp	Gly	Ala	Thr	Asn	Thr	Ile	Glu	Gly	Ala	Arg		
	450					455					460						
Val	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	Ala	Trp	Phe	Gly	Ala	His		
				485					490					495			
Ala	Ala	Ser	Pro	Tyr	Cys	Gly	Val	Glu	Arg	Lys	Ile	Gly	Tyr	Val	Trp		
			500					505					510				
Tyr	Thr	Lys	Asn	Cys	Thr	Pro	Ala	Cys	Leu	Pro	Arg	Asn	Thr	Arg	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	Phe	Val	Leu	Leu	Ser	Leu	Val		
545					550					555					560		
Val	Leu	Ser	Asp	Phe	Ala	Pro	Glu	Thr	Ala	Ser	Val	Ile	Tyr	Leu	Val		
			565						570					575			
Leu	His	Phe	Ala	Ile	Pro	Gln	Ser	His	Val	Asp	Val	Asp	Thr	Cys	Asp		
			580					585					590				

Lys Asn Gln Leu Asn Leu Thr Val Ala Thr Thr Val Ala Glu Val Ile
595 600 605

Pro Gly Thr Val Trp Asn Leu Gly Lys Tyr Val Cys Ile Arg Pro Asp
610 615 620

Trp Trp Pro Tyr Glu Thr Thr Thr Val Phe Val Ile Glu Glu Ala Gly
625 630 635 640

Gln Val Ile Lys Leu Met Leu Arg Ala Ile Arg Asp Leu Thr Arg Ile
645 650 655

Trp Asn Ala Ala Thr Thr Thr Ala Phe Leu Ile Phe Leu Val Lys Ala
660 665 670

Leu Arg Gly Gln Leu Ile Gln Gly Leu Leu Trp Leu Met Leu Ile Thr
675 680 685

Gly Ala Gln Gly Phe Pro Glu Cys Lys Glu Gly Phe Gln Tyr Ala Ile
690 695 700

Ser Lys Asp Arg Lys Met Gly Leu Leu Gly Pro Glu Ser Leu Thr Thr
705 710 715 720

Thr Trp His Leu Pro Thr Lys Lys Ile Val Asp Ser Met Val His Val
725 730 735

Trp Cys Glu Gly Lys Asp Leu Lys Ile Leu Lys Met Cys Thr Lys Glu
740 745 750

Glu Arg Tyr Leu Val Ala Val His Glu Arg Ala Leu Ser Thr Ser Ala
755 760 765

Glu Phe Met Gln Ile Ser Asp Gly Thr Ile Gly Pro Asp Val Ile Asp
770 775 780

Met Pro Asp Asp Phe Glu Phe Gly Leu Cys Pro Cys Asp Ser Lys Pro
785 790 795 800

Val Ile Lys Gly Lys Phe Asn Ala Ser Leu Leu Asn Gly Pro Ala Phe
805 810 815

Gln Met Val Cys Pro Gln Gly Trp Thr Gly Thr Ile Glu Cys Thr Leu
820 825 830

Ala Asn Gln Asp Thr Leu Asp Thr Thr Val Ile Arg Thr Tyr Arg Arg
835 840 845

Thr Thr Pro Phe Gln Arg Arg Lys Trp Cys Thr Tyr Glu Lys Ile Ile
850 855 860

Gly Glu Asp Ile Tyr Glu Cys Ile Leu Gly Gly Asn Trp Thr Cys Ile
865 870 875 880

Thr Gly Asp His Ser Arg Leu Lys Asp Gly Pro Ile Lys Lys Cys Lys
885 890 895

Trp Cys Gly His Asp Phe Val Asn Ser Glu Gly Leu Pro His Tyr Pro
900 905 910

Ile Gly Lys Cys Met Leu Ile Asn Glu Ser Gly Tyr Arg Tyr Val Asp
915 920 925

Asp Thr Ser Cys Asp Arg Gly Gly Val Ala Ile Val Pro Ser Gly Thr
930 935 940

Val Lys Cys Arg Ile Gly Asn Val Thr Val Gln Val Ile Ala Thr Asn
945 950 955 960

Asn Asp Leu Gly Pro Met Pro Cys Ser Pro Ala Glu Val Ile Ala Ser
965 970 975

Glu Gly Pro Val Glu Lys Thr Ala Cys Thr Phe Asn Tyr Ser Arg Thr
980 985 990

Leu Pro Asn Lys Tyr Tyr Glu Pro Arg Asp Arg Tyr Phe Gln Gln Tyr
995 1000 1005

Met Leu Lys Gly Glu Trp Gln Tyr Trp Phe Asp Leu Asp Ser Val
1010 1015 1020

Asp His His Lys Asp Tyr Phe Ser Glu Phe Ile Ile Ile Ala Val
1025 1030 1035

Val Ala Leu Leu Gly Gly Lys Tyr Val Leu Trp Leu Leu Ile Thr
1040 1045 1050

Tyr Thr Ile Leu Ser Glu Gln Met Ala Met Gly Ala Gly Val Asn
1055 1060 1065

Thr Glu Glu Ile Val Met Ile Gly Asn Leu Leu Thr Asp Ser Asp
1070 1075 1080

Ile Glu Val Val Val Tyr Phe Leu Leu Leu Tyr Leu Ile Val Lys
1085 1090 1095

Glu Glu Leu Ala Arg Lys Trp Ile Ile Leu Val Tyr His Ile Leu
1100 1105 1110

Val Ala Asn Pro Met Lys Thr Ile Gly Val Val Leu Leu Met Leu
1115 1120 1125

Gly Gly Val Val Lys Ala Ser Arg Ile Asn Ala Asp Asp Gln Ser
1130 1135 1140

Ala Met Asp Pro Cys Phe Leu Leu Val Thr Gly Val Val Ala Val

1145

1150

1155

Leu Met Ile Ala Arg Arg Glu Pro Ala Thr Leu Pro Leu Ile Val
1160 1165 1170

Ala Leu Leu Ala Ile Arg Thr Ser Gly Phe Leu Leu Pro Ala Ser
1175 1180 1185

Ile Asp Val Thr Val Ala Val Val Leu Ile Val Leu Leu Leu Ala
1190 1195 1200

Ser Tyr Ile Thr Asp Tyr Phe Arg Tyr Lys Lys Trp Leu Gln Leu
1205 1210 1215

Leu Phe Ser Leu Ile Ala Gly Ile Phe Ile Ile Arg Ser Leu Lys
1220 1225 1230

His Ile Asn Gln Met Glu Val Pro Glu Ile Ser Met Pro Ser Trp
1235 1240 1245

Arg Pro Leu Ala Leu Val Leu Phe Tyr Ile Thr Ser Thr Ala Ile
1250 1255 1260

Thr Thr Asn Trp Asp Ile Asp Leu Ala Gly Phe Leu Leu Gln Trp
1265 1270 1275

Ala Pro Ala Val Ile Met Met Ala Thr Met Trp Ala Asp Phe Leu
1280 1285 1290

Thr Leu Ile Ile Val Leu Pro Ser Tyr Glu Leu Ser Lys Leu Tyr
1295 1300 1305

Phe Leu Lys Asn Val Arg Thr Asp Val Glu Lys Asn Trp Leu Gly
1310 1315 1320

Lys Val Lys Tyr Arg Gln Ile Ser Ser Val Tyr Asp Ile Cys Asp
1325 1330 1335

Ser Glu Glu Ala Val Tyr Leu Phe Pro Ser Arg His Lys Ser Gly
1340 1345 1350

Ser Arg Pro Asp Phe Ile Leu Pro Phe Leu Lys Ala Val Leu Ile
1355 1360 1365

Ser Cys Ile Ser Ser Gln Trp Gln Val Val Tyr Ile Ser Tyr Leu
1370 1375 1380

Ile Leu Glu Ile Thr Tyr Tyr Met His Arg Lys Ile Ile Asp Glu
1385 1390 1395

Val Ser Gly Gly Ala Asn Phe Leu Ser Arg Leu Ile Ala Ala Ile
1400 1405 1410

Ile Glu Leu Asn Trp Ala Ile Asp Asp Glu Glu Cys Lys Gly Leu
1415 1420 1425

Lys Lys Leu Tyr Leu Leu Ser Gly Arg Ala Lys Asn Leu Ile Val
1430 1435 1440

Lys His Lys Val Arg Asn Glu Ala Val His Arg Trp Phe Gly Glu
1445 1450 1455

Glu Glu Ile Tyr Gly Ala Pro Lys Val Ile Thr Ile Ile Lys Ala
1460 1465 1470

Ser Thr Leu Ser Lys Asn Arg His Cys Ile Ile Cys Thr Ile Cys
1475 1480 1485

Glu Gly Lys Glu Trp Asn Gly Ala Asn Cys Pro Lys Cys Gly Arg
1490 1495 1500

Gln Gly Lys Pro Ile Thr Cys Gly Met Thr Leu Ala Asp Phe Glu
1505 1510 1515

Glu Lys His Tyr Lys Lys Ile Phe Ile Arg Glu Glu Ser Ser Cys
1520 1525 1530

Pro Val Pro Phe Asp Pro Ser Cys His Cys Asn Tyr Phe Arg His
1535 1540 1545

Asp Gly Pro Phe Arg Lys Glu Tyr Lys Gly Tyr Val Gln Tyr Thr
1550 1555 1560

Ala Arg Gly Gln Leu Phe Leu Arg Asn Leu Pro Ile Leu Ala Thr
1565 1570 1575

Lys Met Lys Leu Leu Met Val Gly Asn Leu Gly Ala Glu Ile Gly
1580 1585 1590

Asp Leu Glu His Leu Gly Trp Val Leu Arg Gly Pro Ala Val Cys
1595 1600 1605

Lys Lys Ile Thr Asn His Glu Lys Cys His Val Asn Ile Met Asp
1610 1615 1620

Lys Leu Thr Ala Phe Phe Gly Ile Met Pro Arg Gly Thr Thr Pro
1625 1630 1635

Arg Ala Pro Val Arg Phe Pro Thr Ala Leu Leu Lys Val Arg Arg
1640 1645 1650

Gly Leu Glu Thr Gly Trp Ala Tyr Thr His Gln Gly Gly Ile Ser
1655 1660 1665

Ser Val Asp His Val Thr Ala Gly Lys Asp Leu Leu Val Cys Asp

1670

1675

1680

Ser Met Gly Arg Thr Arg Val Val Cys His Ser Asn Asn Lys Met
1685 1690 1695

Thr Asp Glu Thr Glu Tyr Gly Ile Lys Thr Asp Ser Gly Cys Pro
1700 1705 1710

Glu Gly Ala Arg Cys Tyr Val Leu Asn Pro Glu Ala Val Asn Ile
1715 1720 1725

Ser Gly Thr Lys Gly Ala Met Val His Leu Gln Lys Thr Gly Gly
1730 1735 1740

Glu Phe Thr Cys Val Thr Ala Ser Gly Thr Pro Ala Phe Phe Asp
1745 1750 1755

Leu Lys Asn Leu Lys Gly Trp Ser Gly Leu Pro Ile Phe Glu Ala
1760 1765 1770

Ser Ser Gly Arg Val Val Gly Arg Val Lys Val Gly Lys Asn Glu
1775 1780 1785

Asp Ser Lys Pro Thr Lys Leu Met Ser Gly Ile Gln Thr Val Ser
1790 1795 1800

Lys Asn Gln Thr Asp Leu Ala Asp Ile Val Lys Lys Leu Thr Ser
1805 1810 1815

Met Asn Arg Gly Glu Phe Lys Gln Ile Thr Leu Ala Thr Gly Ala
1820 1825 1830

Gly Lys Thr Thr Glu Leu Pro Arg Ser Val Ile Glu Glu Ile Gly
1835 1840 1845

Arg His Lys Arg Val Leu Val Leu Ile Pro Leu Arg Ala Ala Ala
1850 1855 1860

Glu Ser Val Tyr Gln Tyr Met Arg Val Lys Tyr Pro Ser Ile Ser
1865 1870 1875

Phe Asn Leu Arg Ile Gly Asp Met Lys Glu Gly Asp Met Ala Thr
1880 1885 1890

Gly Ile Thr Tyr Ala Ser Tyr Gly Tyr Phe Cys Gln Leu Pro Gln
1895 1900 1905

Pro Lys Leu Arg Ala Ala Met Val Glu Tyr Ser Tyr Ile Phe Leu
1910 1915 1920

Asp Glu Tyr His Cys Ala Thr Pro Glu Gln Leu Ala Ile Ile Gly
1925 1930 1935

Lys Ile His Arg Phe Ala Glu Asn Leu Arg Val Val Ala Met Thr
1940 1945 1950

Ala Thr Pro Ala Gly Thr Val Thr Thr Thr Gly Gln Lys His Pro
1955 1960 1965

Ile Glu Glu Phe Ile Ala Pro Glu Val Met Lys Gly Glu Asp Leu
1970 1975 1980

Gly Ser Glu Tyr Leu Asp Ile Ala Gly Leu Lys Ile Pro Thr Glu
1985 1990 1995

Glu Met Lys Gly Asn Met Leu Val Phe Ala Pro Thr Arg Asn Met
2000 2005 2010

Ala Val Glu Thr Ala Lys Lys Leu Lys Ala Lys Gly Tyr Asn Ser
2015 2020 2025

Gly Tyr Tyr Tyr Ser Gly Glu Asn Pro Glu Asn Leu Arg Val Val
2030 2035 2040

Thr Ser Gln Ser Pro Tyr Val Val Val Ala Thr Asn Ala Ile Glu
2045 2050 2055

Ser Gly Val Thr Leu Pro Asp Leu Asp Thr Val Val Asp Thr Gly
2060 2065 2070

Leu Lys Cys Glu Lys Arg Val Arg Ile Ser Ser Lys Met Pro Phe
2075 2080 2085

Ile Val Thr Gly Leu Lys Arg Met Ala Val Thr Ile Gly Glu Gln
2090 2095 2100

Ala Gln Arg Arg Gly Arg Val Gly Arg Val Lys Pro Gly Arg Tyr
2105 2110 2115

Tyr Arg Ser Gln Glu Thr Ala Ser Gly Ser Lys Asp Tyr His Tyr
2120 2125 2130

Asp Leu Leu Gln Ala Gln Arg Tyr Gly Ile Glu Asp Gly Ile Asn
2135 2140 2145

Val Thr Lys Ser Phe Arg Glu Met Asn Tyr Asp Trp Ser Leu Tyr
2150 2155 2160

Glu Glu Asp Ser Leu Met Ile Thr Gln Leu Glu Val Leu Asn Asn
2165 2170 2175

Leu Leu Ile Ser Glu Asp Leu Pro Ala Ala Val Lys Asn Ile Met
2180 2185 2190

Ala Arg Thr Asp His Pro Glu Pro Ile Gln Leu Ala Tyr Asn Ser

2195

2200

2205

Tyr Glu Asn Gln Ile Pro Val Leu Phe Pro Lys Ile Lys Asn Gly
2210 2215 2220

Glu Val Thr Asp Ser Tyr Glu Asn Tyr Thr Tyr Leu Asn Ala Arg
2225 2230 2235

Lys Leu Gly Glu Asp Val Pro Ala Tyr Val Tyr Ala Thr Glu Asp
2240 2245 2250

Glu Asp Leu Ala Val Asp Leu Leu Gly Met Asp Trp Pro Asp Pro
2255 2260 2265

Gly Asn Gln Gln Val Val Glu Thr Gly Arg Ala Leu Lys Gln Val
2270 2275 2280

Thr Gly Leu Ser Thr Ala Glu Asn Ala Leu Leu Ile Ala Leu Phe
2285 2290 2295

Gly Tyr Val Gly Tyr Gln Thr Leu Ser Lys Arg His Ile Pro Met
2300 2305 2310

Ile Thr Asp Ile Tyr Thr Leu Glu Asp His Arg Leu Glu Asp Thr
2315 2320 2325

Thr His Leu Gln Phe Ala Pro Asn Ala Ile Arg Thr Asp Gly Lys
2330 2335 2340

Asp Ser Glu Leu Lys Glu Leu Ala Val Gly Asp Leu Asp Lys Tyr
2345 2350 2355

Val Asp Ala Leu Val Asp Tyr Ser Lys Gln Gly Met Lys Phe Ile
2360 2365 2370

Lys Val Gln Ala Glu Lys Val Arg Asp Ser Gln Ser Thr Lys Glu
2375 2380 2385

Gly Leu Gln Thr Ile Lys Glu Tyr Val Asp Lys Phe Ile Gln Ser
2390 2395 2400

Leu Thr Glu Asn Lys Glu Glu Ile Ile Arg Tyr Gly Leu Trp Gly
2405 2410 2415

Val His Thr Ala Leu Tyr Lys Ser Leu Ala Ala Arg Leu Gly His
2420 2425 2430

Glu Thr Ala Phe Ala Thr Leu Val Val Lys Trp Leu Ala Phe Gly
2435 2440 2445

Gly Glu Thr Val Ser Ala His Ile Lys Gln Val Ala Val Asp Leu
2450 2455 2460

Val Val Tyr Tyr Ile Ile Asn Lys Pro Ser Phe Pro Gly Asp Thr
2465 2470 2475

Glu Thr Gln Gln Glu Gly Arg Arg Phe Val Ala Ser Leu Phe Ile
2480 2485 2490

Ser Ala Leu Ala Thr Tyr Thr Tyr Lys Thr Trp Asn Tyr Asn Asn
2495 2500 2505

Leu Gln Arg Val Val Glu Pro Ala Leu Ala Tyr Leu Pro Tyr Ala
2510 2515 2520

Thr Ser Ala Leu Lys Leu Phe Thr Pro Thr Arg Leu Glu Ser Val
2525 2530 2535

Val Ile Leu Ser Ser Thr Ile Tyr Lys Thr Tyr Leu Ser Ile Arg
2540 2545 2550

Lys Gly Lys Ser Asp Gly Leu Leu Gly Thr Gly Ile Ser Ala Ala
2555 2560 2565

Met Glu Ile Leu Asn Gln Asn Pro Ile Ser Val Gly Ile Ser Val
2570 2575 2580

Met Leu Gly Val Gly Ala Ile Ala Ala His Asn Ala Ile Glu Ser
2585 2590 2595

Ser Glu Gln Lys Arg Thr Leu Leu Met Lys Val Phe Val Lys Asn
2600 2605 2610

Phe Leu Asp Gln Ala Ala Thr Asp Glu Leu Val Lys Glu Asn Pro
2615 2620 2625

Glu Lys Ile Ile Met Ala Leu Phe Glu Ala Val Gln Thr Ile Gly
2630 2635 2640

Asn Pro Leu Arg Leu Ile Tyr His Leu Tyr Gly Val Tyr Tyr Lys
2645 2650 2655

Gly Trp Glu Ala Lys Glu Leu Ala Glu Lys Thr Ala Gly Arg Asn
2660 2665 2670

Leu Phe Thr Leu Ile Met Phe Glu Ala Phe Glu Leu Leu Gly Met
2675 2680 2685

Asp Ser Glu Gly Lys Ile Arg Asn Leu Ser Gly Asn Tyr Ile Leu
2690 2695 2700

Asp Leu Ile Phe Asn Leu His Asn Lys Leu Asn Lys Gly Leu Lys
2705 2710 2715

Lys Leu Val Leu Gly Trp Ala Pro Ala Pro Leu Ser Cys Asp Trp

2720

2725

2730

Thr Pro Ser Asp Glu Arg Ile Ser Leu Pro His Asn Asn Tyr Leu
2735 2740 2745

Arg Val Glu Thr Arg Cys Pro Cys Gly Tyr Glu Met Lys Ala Ile
2750 2755 2760

Lys Asn Val Ala Gly Lys Leu Thr Lys Val Glu Glu Lys Gly Ser
2765 2770 2775

Phe Leu Cys Arg Asn Arg Leu Gly Arg Gly Pro Pro Asn Phe Lys
2780 2785 2790

Val Thr Lys Phe Tyr Asp Asp Asn Leu Ile Glu Val Lys Pro Val
2795 2800 2805

Ala Arg Leu Glu Gly Gln Val Asp Leu Tyr Tyr Lys Gly Val Thr
2810 2815 2820

Ala Lys Leu Asp Tyr Asn Asn Gly Lys Val Leu Leu Ala Thr Asn
2825 2830 2835

Lys Trp Glu Val Asp His Ala Phe Leu Thr Arg Leu Val Lys Lys
2840 2845 2850

His Thr Gly Ile Gly Phe Lys Gly Ala Tyr Leu Gly Asp Arg Pro
2855 2860 2865

Asp His Gln Asp Leu Val Asp Arg Asp Cys Ala Thr Ile Thr Lys
2870 2875 2880

Asn Ser Val Gln Phe Leu Lys Met Lys Lys Gly Cys Ala Phe Thr
2885 2890 2895

Tyr Asp Leu Thr Ile Ser Asn Leu Val Arg Leu Ile Glu Leu Val
2900 2905 2910

His Lys Asn Asn Leu Gln Glu Arg Glu Ile Pro Thr Val Thr Val
2915 2920 2925

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

Ile Lys Pro Val Leu Gly Glu Lys Val Ile Pro Glu Pro Pro Glu
2945 2950 2955

Glu Leu Ser Leu Gln Pro Thr Val Arg Leu Val Thr Thr Glu Thr
2960 2965 2970

Ala Ile Thr Ile Thr Gly Glu Ala Glu Val Met Thr Thr Gly Ile
2975 2980 2985

Thr Pro Val Val Glu Met Lys Glu Glu Pro Gln Leu Asp His Gln
2990 2995 3000

Ser Thr Thr Leu Lys Val Gly Leu Lys Glu Gly Glu Tyr Pro Gly
3005 3010 3015

Pro Gly Val Asn Pro Asn His Leu Ala Glu Val Ile Asp Glu Lys
3020 3025 3030

Asp Asp Arg Pro Phe Val Leu Ile Ile Gly Asn Lys Gly Ser Thr
3035 3040 3045

Ser Asn Arg Ala Arg Thr Ala Lys Asn Ile Arg Leu Tyr Lys Gly
3050 3055 3060

Asn Asn Pro Arg Glu Ile Arg Asp Leu Met Ser Gln Gly Arg Ile
3065 3070 3075

Leu Thr Val Ala Leu Lys Glu Leu Asp Pro Glu Leu Lys Glu Leu
3080 3085 3090

Val Asp Tyr Lys Gly Thr Phe Leu Asn Arg Glu Ala Leu Glu Ala
3095 3100 3105

Leu Ser Leu Gly Lys Pro Ile Lys Arg Lys Thr Thr Thr Ala Met
3110 3115 3120

Ile Arg Arg Leu Ile Glu Pro Glu Val Glu Glu Glu Leu Pro Asp
3125 3130 3135

Trp Phe Gln Ala Glu Glu Pro Leu Phe Leu Glu Ala Lys Ile Gln
3140 3145 3150

Asn Asp Leu Tyr His Leu Ile Gly Ser Val Asp Ser Ile Lys Ser
3155 3160 3165

Lys Ala Lys Glu Leu Gly Ala Thr Asp Asn Thr Lys Ile Val Lys
3170 3175 3180

Glu Val Gly Ala Arg Thr Tyr Thr Met Lys Leu Ser Ser Trp Ser
3185 3190 3195

Thr Gln Val Thr Lys Lys Gln Met Ser Leu Ala Pro Leu Phe Glu
3200 3205 3210

Glu Leu Leu Leu Lys Cys Pro Pro Cys Ser Lys Ile Ser Lys Gly
3215 3220 3225

His Met Val Ser Ala Tyr Gln Leu Ala Gln Gly Asn Trp Glu Pro
3230 3235 3240

Leu Gly Cys Gly Val Tyr Met Gly Thr Ile Pro Ala Arg Arg Leu

3245

3250

3255

Lys Ile His Pro Tyr Glu Ala Tyr Leu Lys Leu Lys Glu Leu Val
3260 3265 3270

Glu Val Glu Ser Ser Arg Ala Thr Ala Lys Glu Ser Ile Ile Arg
3275 3280 3285

Glu His Asn Thr Trp Ile Leu Arg Lys Val Arg His Glu Gly Asn
3290 3295 3300

Leu Arg Thr Lys Ser Met Ile Asn Pro Gly Lys Ile Ser Asp Gln
3305 3310 3315

Leu Cys Arg Asp Gly His Lys Arg Asn Ile Tyr Asn Lys Ile Ile
3320 3325 3330

Gly Ser Thr Met Ala Ser Ala Gly Ile Arg Leu Glu Lys Leu Pro
3335 3340 3345

Val Val Arg Ala Gln Thr Asp Thr Thr Ser Phe His Gln Ala Ile
3350 3355 3360

Arg Glu Lys Ile Asp Lys Thr Glu Asn Lys Gln Thr Pro Glu Leu
3365 3370 3375

His Glu Glu Leu Met Lys Val Phe Asp Cys Leu Lys Ile Pro Glu
3380 3385 3390

Leu Lys Glu Ser Tyr Asp Glu Val Ser Trp Glu Gln Leu Glu Ala
3395 3400 3405

Gly Ile Asn Arg Lys Gly Ala Ala Gly Tyr Leu Glu Ser Lys Asn
3410 3415 3420

Ile Gly Glu Val Leu Asp Thr Glu Lys His Ile Val Glu Gln Leu
3425 3430 3435

Ile Lys Asp Leu Arg Lys Gly Lys Lys Ile Arg Tyr Tyr Glu Thr
3440 3445 3450

Ala Ile Pro Lys Asn Glu Lys Arg Asp Val Ser Asp Asp Trp Glu
3455 3460 3465

Ala Gly Glu Phe Val Asp Glu Lys Lys Pro Arg Val Ile Gln Tyr
3470 3475 3480

Pro Asp Ala Lys Val Arg Leu Ala Ile Thr Lys Val Met Tyr Lys
3485 3490 3495

Trp Val Lys Gln Lys Pro Val Val Ile Pro Gly Tyr Glu Gly Lys
3500 3505 3510

Thr Pro Leu Phe Asp Ile Phe Asn Lys Val Lys Lys Glu Trp Asp
3515 3520 3525

Ser Phe Gln Asp Pro Val Ala Val Ser Phe Asp Thr Lys Ala Trp
3530 3535 3540

Asp Thr Gln Val Thr Ser Arg Asp Leu Met Leu Ile Lys Asp Ile
3545 3550 3555

Gln Lys Tyr Tyr Phe Lys Arg Ser Ile His Lys Phe Leu Asp Thr
3560 3565 3570

Ile Thr Glu His Met Val Glu Val Pro Val Ile Thr Ala Asp Gly
3575 3580 3585

Glu Val Tyr Ile Arg Asn Gly Gln Arg Gly Ser Gly Gln Pro Asp
3590 3595 3600

Thr Ser Ala Gly Asn Ser Met Leu Asn Val Leu Thr Met Ile Tyr
3605 3610 3615

Ala Phe Cys Lys Ser Thr Gly Ile Pro Tyr Arg Gly Phe Ser Arg
3620 3625 3630

Val Ala Arg Ile His Val Cys Gly Asp Asp Gly Phe Leu Ile Thr
3635 3640 3645

Glu Arg Gly Leu Gly Leu Lys Phe Ser Glu Lys Gly Met Gln Ile
3650 3655 3660

Leu His Glu Ala Gly Lys Pro Gln Lys Ile Thr Glu Gly Asp Lys
3665 3670 3675

Met Lys Val Ala Tyr Arg Phe Glu Asp Ile Glu Phe Cys Ser His
3680 3685 3690

Thr Pro Val Pro Val Arg Trp Ala Asp Asn Thr Ser Ser Tyr Met
3695 3700 3705

Ala Gly Arg Ser Thr Ala Thr Ile Leu Ala Lys Met Ala Thr Arg
3710 3715 3720

Leu Asp Ser Ser Gly Glu Arg Gly Ser Thr Ala Tyr Glu Lys Ala
3725 3730 3735

Val Ala Phe Ser Phe Leu Leu Met Tyr Ser Trp Asn Pro Val Val
3740 3745 3750

Arg Arg Ile Cys Leu Leu Val Leu Ser Gln Phe Pro Glu Ile Ser
3755 3760 3765

Pro Ser Lys Asn Thr Ile Tyr Tyr Tyr Gln Gly Asp Pro Ile Ala

3770 3775 3780

Ala Tyr Arg Glu Val Ile Gly Lys Gln Leu Cys Glu Leu Lys Arg
3785 3790 3795

Thr Gly Phe Glu Lys Leu Ala Gly Leu Asn Leu Ser Met Thr Thr
3800 3805 3810

Leu Gly Ile Trp Thr Lys His Thr Ser Lys Arg Leu Ile Gln Ala
3815 3820 3825

Cys Val Glu Ile Gly Lys Arg Glu Gly Thr Trp Leu Val Asn Ala
3830 3835 3840

Asp Arg Leu Ile Ala Gly Lys Thr Gly Lys Phe Tyr Ile Pro Ser
3845 3850 3855

Thr Gly Val Thr Leu Leu Gly Lys His Tyr Glu Glu Ile Asn Leu
3860 3865 3870

Lys Gln Lys Ala Ala Gln Pro Pro Ile Glu Gly Val Asp Arg Tyr
3875 3880 3885

Lys Leu Gly Pro Ile Val Asn Val Ile Leu Arg Arg Leu Arg Val
3890 3895 3900

Met Leu Met Thr Val Ala Ser Gly Ser Trp
3905 3910

<210> 6 <211> 3749 <212> PRT <213> Artificial Sequence: Mutated BVDV: XIKE-A-NdN <400> 6

Met Glu Leu Phe Ser Asp Glu Gly Ser Lys Gly Ala Thr Ser Lys Lys
1 5 10 15

Gln Pro Lys Pro Asp Arg Ile Glu Lys Gly Lys Met Lys Ile Ala Pro

20 25 30

Lys Glu Thr Glu Lys Asp Cys Lys Thr Arg Pro Pro Asp Ala Thr Ile
35 40 45

Val Val Glu Gly Val Lys Tyr Gln Val Lys Lys Lys Gly Lys Val Arg
50 55 60

Gly Lys Asn Thr Gln Asp Gly Leu Tyr His Asn Lys Asn Lys Pro Pro
65 70 75 80

Glu Ser Arg Lys Lys Leu Glu Lys Ala Leu Leu Ala Trp Ala Ile Leu
85 90 95

Ala Ala Val Leu Leu Gln Leu Val Thr Gly Glu Asn Ile Thr Gln Trp
100 105 110

Asn Leu Met Asp Asn Gly Thr Glu Gly Ile Gln Gln Ala Met Phe Leu
115 120 125

Arg Gly Val Asn Arg Ser Leu His Gly Ile Trp Pro Glu Lys Ile Cys
130 135 140

Thr Gly Val Pro Thr His Leu Ala Thr Asp Tyr Glu Leu Lys Glu Ile
145 150 155 160

Val Gly Met Met Asp Ala Ser Glu Lys Thr Asn Tyr Thr Cys Cys Arg
165 170 175

Leu Gln Arg His Glu Trp Asn Lys His Gly Trp Cys Asn Trp Phe His
180 185 190

Ile Glu Pro Trp Ile Trp Leu Met Asn Lys Thr Gln Asn Asn Leu Thr
195 200 205

Glu Gly Gln Pro Leu Arg Glu Cys Ala Val Thr Cys Arg Tyr Asp Lys

210	215	220
Glu Thr Glu Leu Asn Ile Val Thr Gln Ala Arg Asp Arg Pro Thr Thr		
225	230	235 240
Leu Thr Gly Cys Lys Lys Gly Lys Asn Phe Ser Phe Ala Gly Val Ile		
	245	250 255
Leu Asp Gly Pro Cys Asn Phe Lys Val Ser Val Glu Asp Val Leu Phe		
	260	265 270
Lys Glu His Asp Cys Gly Asn Met Leu Gln Glu Thr Ala Ile Gln Leu		
	275	280 285
Leu Asp Gly Ala Thr Asn Thr Ile Glu Gly Ala Arg Val Gly Thr Ala		
	290	295 300
Lys Leu Thr Thr Trp Leu Gly Lys Gln Leu Gly Ile Leu Gly Lys Lys		
305	310	315 320
Leu Glu Asn Lys Ser Lys Ala Trp Phe Gly Ala His Ala Ala Ser Pro		
	325	330 335
Tyr Cys Gly Val Glu Arg Lys Ile Gly Tyr Val Trp Tyr Thr Lys Asn		
	340	345 350
Cys Thr Pro Ala Cys Leu Pro Arg Asn Thr Arg Ile Ile Gly Pro Gly		
	355	360 365
Lys Phe Asp Thr Asn Ala Glu Asp Gly Lys Ile Leu His Glu Met Gly		
	370	375 380
Gly His Leu Ser Glu Phe Val Leu Leu Ser Leu Val Val Leu Ser Asp		
385	390	395 400
Phe Ala Pro Glu Thr Ala Ser Val Ile Tyr Leu Val Leu His Phe Ala		
	405	410 415

Ile Pro Gln Ser His Val Asp Val Asp Thr Cys Asp Lys Asn Gln Leu
420 425 430

Asn Leu Thr Val Ala Thr Thr Val Ala Glu Val Ile Pro Gly Thr Val
435 440 445

Trp Asn Leu Gly Lys Tyr Val Cys Ile Arg Pro Asp Trp Trp Pro Tyr
450 455 460

Glu Thr Thr Thr Val Phe Val Ile Glu Glu Ala Gly Gln Val Ile Lys
465 470 475 480

Leu Met Leu Arg Ala Ile Arg Asp Leu Thr Arg Ile Trp Asn Ala Ala
485 490 495

Thr Thr Thr Ala Phe Leu Ile Phe Leu Val Lys Ala Leu Arg Gly Gln
500 505 510

Leu Ile Gln Gly Leu Leu Trp Leu Met Leu Ile Thr Gly Ala Gln Gly
515 520 525

Phe Pro Glu Cys Lys Glu Gly Phe Gln Tyr Ala Ile Ser Lys Asp Arg
530 535 540

Lys Met Gly Leu Leu Gly Pro Glu Ser Leu Thr Thr Thr Trp His Leu
545 550 555 560

Pro Thr Lys Lys Ile Val Asp Ser Met Val His Val Trp Cys Glu Gly
565 570 575

Lys Asp Leu Lys Ile Leu Lys Met Cys Thr Lys Glu Glu Arg Tyr Leu
580 585 590

Val Ala Val His Glu Arg Ala Leu Ser Thr Ser Ala Glu Phe Met Gln
595 600 605

Ile Ser Asp Gly Thr Ile Gly Pro Asp Val Ile Asp Met Pro Asp Asp
610 615 620

Phe Glu Phe Gly Leu Cys Pro Cys Asp Ser Lys Pro Val Ile Lys Gly
625 630 635 640

Lys Phe Asn Ala Ser Leu Leu Asn Gly Pro Ala Phe Gln Met Val Cys
645 650 655

Pro Gln Gly Trp Thr Gly Thr Ile Glu Cys Thr Leu Ala Asn Gln Asp
660 665 670

Thr Leu Asp Thr Thr Val Ile Arg Thr Tyr Arg Arg Thr Thr Pro Phe
675 680 685

Gln Arg Arg Lys Trp Cys Thr Tyr Glu Lys Ile Ile Gly Glu Asp Ile
690 695 700

Tyr Glu Cys Ile Leu Gly Gly Asn Trp Thr Cys Ile Thr Gly Asp His
705 710 715 720

Ser Arg Leu Lys Asp Gly Pro Ile Lys Lys Cys Lys Trp Cys Gly His
725 730 735

Asp Phe Val Asn Ser Glu Gly Leu Pro His Tyr Pro Ile Gly Lys Cys
740 745 750

Met Leu Ile Asn Glu Ser Gly Tyr Arg Tyr Val Asp Asp Thr Ser Cys
755 760 765

Asp Arg Gly Gly Val Ala Ile Val Pro Ser Gly Thr Val Lys Cys Arg
770 775 780

Ile Gly Asn Val Thr Val Gln Val Ile Ala Thr Asn Asn Asp Leu Gly
785 790 795 800

Pro Met Pro Cys Ser Pro Ala Glu Val Ile Ala Ser Glu Gly Pro Val
805 810 815

Glu Lys Thr Ala Cys Thr Phe Asn Tyr Ser Arg Thr Leu Pro Asn Lys
820 825 830

Tyr Tyr Glu Pro Arg Asp Arg Tyr Phe Gln Gln Tyr Met Leu Lys Gly
835 840 845

Glu Trp Gln Tyr Trp Phe Asp Leu Asp Ser Val Asp His His Lys Asp
850 855 860

Tyr Phe Ser Glu Phe Ile Ile Ile Ala Val Val Ala Leu Leu Gly Gly
865 870 875 880

Lys Tyr Val Leu Trp Leu Leu Ile Thr Tyr Thr Ile Leu Ser Glu Gln
885 890 895

Met Ala Met Gly Ala Gly Val Asn Thr Glu Glu Ile Val Met Ile Gly
900 905 910

Asn Leu Leu Thr Asp Ser Asp Ile Glu Val Val Val Tyr Phe Leu Leu
915 920 925

Leu Tyr Leu Ile Val Lys Glu Glu Leu Ala Arg Lys Trp Ile Ile Leu
930 935 940

Val Tyr His Ile Leu Val Ala Asn Pro Met Lys Thr Ile Gly Val Val
945 950 955 960

Leu Leu Met Leu Gly Gly Val Val Lys Ala Ser Arg Ile Asn Ala Asp
965 970 975

Asp Gln Ser Ala Met Asp Pro Cys Phe Leu Leu Val Thr Gly Val Val
980 985 990

Ala Val Leu Met Ile Ala Arg Arg Glu Pro Ala Thr Leu Pro Leu Ile
995 1000 1005

Val Ala Leu Leu Ala Ile Arg Thr Ser Gly Phe Leu Leu Pro Ala
1010 1015 1020

Ser Ile Asp Val Thr Val Ala Val Val Leu Ile Val Leu Leu Leu
1025 1030 1035

Ala Ser Tyr Ile Thr Asp Tyr Phe Arg Tyr Lys Lys Trp Leu Gln
1040 1045 1050

Leu Leu Phe Ser Leu Ile Ala Gly Ile Phe Ile Ile Arg Ser Leu
1055 1060 1065

Lys His Ile Asn Gln Met Glu Val Pro Glu Ile Ser Met Pro Ser
1070 1075 1080

Trp Arg Pro Leu Ala Leu Val Leu Phe Tyr Ile Thr Ser Thr Ala
1085 1090 1095

Ile Thr Thr Asn Trp Asp Ile Asp Leu Ala Gly Phe Leu Leu Gln
1100 1105 1110

Trp Ala Pro Ala Val Ile Met Met Ala Thr Met Trp Ala Asp Phe
1115 1120 1125

Leu Thr Leu Ile Ile Val Leu Pro Ser Tyr Glu Leu Ser Lys Leu
1130 1135 1140

Tyr Phe Leu Lys Asn Val Arg Thr Asp Val Glu Lys Asn Trp Leu
1145 1150 1155

Gly Lys Val Lys Tyr Arg Gln Ile Ser Ser Val Tyr Asp Ile Cys

1160 1165 1170

Asp Ser Glu Glu Ala Val Tyr Leu Phe Pro Ser Arg His Lys Ser
1175 1180 1185

Gly Ser Arg Pro Asp Phe Ile Leu Pro Phe Leu Lys Ala Val Leu
1190 1195 1200

Ile Ser Cys Ile Ser Ser Gln Trp Gln Val Val Tyr Ile Ser Tyr
1205 1210 1215

Leu Ile Leu Glu Ile Thr Tyr Tyr Met His Arg Lys Ile Ile Asp
1220 1225 1230

Glu Val Ser Gly Gly Ala Asn Phe Leu Ser Arg Leu Ile Ala Ala
1235 1240 1245

Ile Ile Glu Leu Asn Trp Ala Ile Asp Asp Glu Glu Cys Lys Gly
1250 1255 1260

Leu Lys Lys Leu Tyr Leu Leu Ser Gly Arg Ala Lys Asn Leu Ile
1265 1270 1275

Val Lys His Lys Val Arg Asn Glu Ala Val His Arg Trp Phe Gly
1280 1285 1290

Glu Glu Glu Ile Tyr Gly Ala Pro Lys Val Ile Thr Ile Ile Lys
1295 1300 1305

Ala Ser Thr Leu Ser Lys Asn Arg His Cys Ile Ile Cys Thr Ile
1310 1315 1320

Cys Glu Gly Lys Glu Trp Asn Gly Ala Asn Cys Pro Lys Cys Gly
1325 1330 1335

Arg Gln Gly Lys Pro Ile Thr Cys Gly Met Thr Leu Ala Asp Phe
1340 1345 1350

Glu Glu Lys His Tyr Lys Lys Ile Phe Ile Arg Glu Glu Ser Ser
1355 1360 1365

Cys Pro Val Pro Phe Asp Pro Ser Cys His Cys Asn Tyr Phe Arg
1370 1375 1380

His Asp Gly Pro Phe Arg Lys Glu Tyr Lys Gly Tyr Val Gln Tyr
1385 1390 1395

Thr Ala Arg Gly Gln Leu Phe Leu Arg Asn Leu Pro Ile Leu Ala
1400 1405 1410

Thr Lys Met Lys Leu Leu Met Val Gly Asn Leu Gly Ala Glu Ile
1415 1420 1425

Gly Asp Leu Glu His Leu Gly Trp Val Leu Arg Gly Pro Ala Val
1430 1435 1440

Cys Lys Lys Ile Thr Asn His Glu Lys Cys His Val Asn Ile Met
1445 1450 1455

Asp Lys Leu Thr Ala Phe Phe Gly Ile Met Pro Arg Gly Thr Thr
1460 1465 1470

Pro Arg Ala Pro Val Arg Phe Pro Thr Ala Leu Leu Lys Val Arg
1475 1480 1485

Arg Gly Leu Glu Thr Gly Trp Ala Tyr Thr His Gln Gly Gly Ile
1490 1495 1500

Ser Ser Val Asp His Val Thr Ala Gly Lys Asp Leu Leu Val Cys
1505 1510 1515

Asp Ser Met Gly Arg Thr Arg Val Val Cys His Ser Asn Asn Lys
1520 1525 1530

Met Thr Asp Glu Thr Glu Tyr Gly Ile Lys Thr Asp Ser Gly Cys
1535 1540 1545

Pro Glu Gly Ala Arg Cys Tyr Val Leu Asn Pro Glu Ala Val Asn
1550 1555 1560

Ile Ser Gly Thr Lys Gly Ala Met Val His Leu Gln Lys Thr Gly
1565 1570 1575

Gly Glu Phe Thr Cys Val Thr Ala Ser Gly Thr Pro Ala Phe Phe
1580 1585 1590

Asp Leu Lys Asn Leu Lys Gly Trp Ser Gly Leu Pro Ile Phe Glu
1595 1600 1605

Ala Ser Ser Gly Arg Val Val Gly Arg Val Lys Val Gly Lys Asn
1610 1615 1620

Glu Asp Ser Lys Pro Thr Lys Leu Met Ser Gly Ile Gln Thr Val
1625 1630 1635

Ser Lys Asn Gln Thr Asp Leu Ala Asp Ile Val Lys Lys Leu Thr
1640 1645 1650

Ser Met Asn Arg Gly Glu Phe Lys Gln Ile Thr Leu Ala Thr Gly
1655 1660 1665

Ala Gly Lys Thr Thr Glu Leu Pro Arg Ser Val Ile Glu Glu Ile
1670 1675 1680

Gly Arg His Lys Arg Val Leu Val Leu Ile Pro Leu Arg Ala Ala

1685

1690

1695

Ala Glu Ser Val Tyr Gln Tyr Met Arg Val Lys Tyr Pro Ser Ile
1700 1705 1710

Ser Phe Asn Leu Arg Ile Gly Asp Met Lys Glu Gly Asp Met Ala
1715 1720 1725

Thr Gly Ile Thr Tyr Ala Ser Tyr Gly Tyr Phe Cys Gln Leu Pro
1730 1735 1740

Gln Pro Lys Leu Arg Ala Ala Met Val Glu Tyr Ser Tyr Ile Phe
1745 1750 1755

Leu Asp Glu Tyr His Cys Ala Thr Pro Glu Gln Leu Ala Ile Ile
1760 1765 1770

Gly Lys Ile His Arg Phe Ala Glu Asn Leu Arg Val Val Ala Met
1775 1780 1785

Thr Ala Thr Pro Ala Gly Thr Val Thr Thr Thr Gly Gln Lys His
1790 1795 1800

Pro Ile Glu Glu Phe Ile Ala Pro Glu Val Met Lys Gly Glu Asp
1805 1810 1815

Leu Gly Ser Glu Tyr Leu Asp Ile Ala Gly Leu Lys Ile Pro Thr
1820 1825 1830

Glu Glu Met Lys Gly Asn Met Leu Val Phe Ala Pro Thr Arg Asn
1835 1840 1845

Met Ala Val Glu Thr Ala Lys Lys Leu Lys Ala Lys Gly Tyr Asn
1850 1855 1860

Ser Gly Tyr Tyr Tyr Ser Gly Glu Asn Pro Glu Asn Leu Arg Val
1865 1870 1875

Val Thr Ser Gln Ser Pro Tyr Val Val Val Ala Thr Asn Ala Ile
1880 1885 1890

Glu Ser Gly Val Thr Leu Pro Asp Leu Asp Thr Val Val Asp Thr
1895 1900 1905

Gly Leu Lys Cys Glu Lys Arg Val Arg Ile Ser Ser Lys Met Pro
1910 1915 1920

Phe Ile Val Thr Gly Leu Lys Arg Met Ala Val Thr Ile Gly Glu
1925 1930 1935

Gln Ala Gln Arg Arg Gly Arg Val Gly Arg Val Lys Pro Gly Arg
1940 1945 1950

Tyr Tyr Arg Ser Gln Glu Thr Ala Ser Gly Ser Lys Asp Tyr His
1955 1960 1965

Tyr Asp Leu Leu Gln Ala Gln Arg Tyr Gly Ile Glu Asp Gly Ile
1970 1975 1980

Asn Val Thr Lys Ser Phe Arg Glu Met Asn Tyr Asp Trp Ser Leu
1985 1990 1995

Tyr Glu Glu Asp Ser Leu Met Ile Thr Gln Leu Glu Val Leu Asn
2000 2005 2010

Asn Leu Leu Ile Ser Glu Asp Leu Pro Ala Ala Val Lys Asn Ile
2015 2020 2025

Met Ala Arg Thr Asp His Pro Glu Pro Ile Gln Leu Ala Tyr Asn
2030 2035 2040

Ser Tyr Glu Asn Gln Ile Pro Val Leu Phe Pro Lys Ile Lys Asn
2045 2050 2055

Gly Glu Val Thr Asp Ser Tyr Glu Asn Tyr Thr Tyr Leu Asn Ala
2060 2065 2070

Arg Lys Leu Gly Glu Asp Val Pro Ala Tyr Val Tyr Ala Thr Glu
2075 2080 2085

Asp Glu Asp Leu Ala Val Asp Leu Leu Gly Met Asp Trp Pro Asp
2090 2095 2100

Pro Gly Asn Gln Gln Val Val Glu Thr Gly Arg Ala Leu Lys Gln
2105 2110 2115

Val Thr Gly Leu Ser Thr Ala Glu Asn Ala Leu Leu Ile Ala Leu
2120 2125 2130

Phe Gly Tyr Val Gly Tyr Gln Thr Leu Ser Lys Arg His Ile Pro
2135 2140 2145

Met Ile Thr Asp Ile Tyr Thr Leu Glu Asp His Arg Leu Glu Asp
2150 2155 2160

Thr Thr His Leu Gln Phe Ala Pro Asn Ala Ile Arg Thr Asp Gly
2165 2170 2175

Lys Asp Ser Glu Leu Lys Glu Leu Ala Val Gly Asp Leu Asp Lys
2180 2185 2190

Tyr Val Asp Ala Leu Val Asp Tyr Ser Lys Gln Gly Met Lys Phe
2195 2200 2205

Ile Lys Val Gln Ala Glu Lys Val Arg Asp Ser Gln Ser Thr Lys

2210

2215

2220

Glu Gly Leu Gln Thr Ile Lys Glu Tyr Val Asp Lys Phe Ile Gln
2225 2230 2235

Ser Leu Thr Glu Asn Lys Glu Glu Ile Ile Arg Tyr Gly Leu Trp
2240 2245 2250

Gly Val His Thr Ala Leu Tyr Lys Ser Leu Ala Ala Arg Leu Gly
2255 2260 2265

His Glu Thr Ala Phe Ala Thr Leu Val Val Lys Trp Leu Ala Phe
2270 2275 2280

Gly Gly Glu Thr Val Ser Ala His Ile Lys Gln Val Ala Val Asp
2285 2290 2295

Leu Val Val Tyr Tyr Ile Ile Asn Lys Pro Ser Phe Pro Gly Asp
2300 2305 2310

Thr Glu Thr Gln Gln Glu Gly Arg Arg Phe Val Ala Ser Leu Phe
2315 2320 2325

Ile Ser Ala Leu Ala Thr Tyr Thr Tyr Lys Thr Trp Asn Tyr Asn
2330 2335 2340

Asn Leu Gln Arg Val Val Glu Pro Ala Leu Ala Tyr Leu Pro Tyr
2345 2350 2355

Ala Thr Ser Ala Leu Lys Leu Phe Thr Pro Thr Arg Leu Glu Ser
2360 2365 2370

Val Val Ile Leu Ser Ser Thr Ile Tyr Lys Thr Tyr Leu Ser Ile
2375 2380 2385

Arg Lys Gly Lys Ser Asp Gly Leu Leu Gly Thr Gly Ile Ser Ala
2390 2395 2400

Ala Met Glu Ile Leu Asn Gln Asn Pro Ile Ser Val Gly Ile Ser
2405 2410 2415

Val Met Leu Gly Val Gly Ala Ile Ala Ala His Asn Ala Ile Glu
2420 2425 2430

Ser Ser Glu Gln Lys Arg Thr Leu Leu Met Lys Val Phe Val Lys
2435 2440 2445

Asn Phe Leu Asp Gln Ala Ala Thr Asp Glu Leu Val Lys Glu Asn
2450 2455 2460

Pro Glu Lys Ile Ile Met Ala Leu Phe Glu Ala Val Gln Thr Ile
2465 2470 2475

Gly Asn Pro Leu Arg Leu Ile Tyr His Leu Tyr Gly Val Tyr Tyr
2480 2485 2490

Lys Gly Trp Glu Ala Lys Glu Leu Ala Glu Lys Thr Ala Gly Arg
2495 2500 2505

Asn Leu Phe Thr Leu Ile Met Phe Glu Ala Phe Glu Leu Leu Gly
2510 2515 2520

Met Asp Ser Glu Gly Lys Ile Arg Asn Leu Ser Gly Asn Tyr Ile
2525 2530 2535

Leu Asp Leu Ile Phe Asn Leu His Asn Lys Leu Asn Lys Gly Leu
2540 2545 2550

Lys Lys Leu Val Leu Gly Trp Ala Pro Ala Pro Leu Ser Cys Asp
2555 2560 2565

Trp Thr Pro Ser Asp Glu Arg Ile Ser Leu Pro His Asn Asn Tyr
2570 2575 2580

Leu Arg Val Glu Thr Arg Cys Pro Cys Gly Tyr Glu Met Lys Ala
2585 2590 2595

Ile Lys Asn Val Ala Gly Lys Leu Thr Lys Val Glu Glu Lys Gly
2600 2605 2610

Ser Phe Leu Cys Arg Asn Arg Leu Gly Arg Gly Pro Pro Asn Phe
2615 2620 2625

Lys Val Thr Lys Phe Tyr Asp Asp Asn Leu Ile Glu Val Lys Pro
2630 2635 2640

Val Ala Arg Leu Glu Gly Gln Val Asp Leu Tyr Tyr Lys Gly Val
2645 2650 2655

Thr Ala Lys Leu Asp Tyr Asn Asn Gly Lys Val Leu Leu Ala Thr
2660 2665 2670

Asn Lys Trp Glu Val Asp His Ala Phe Leu Thr Arg Leu Val Lys
2675 2680 2685

Lys His Thr Gly Ile Gly Phe Lys Gly Ala Tyr Leu Gly Asp Arg
2690 2695 2700

Pro Asp His Gln Asp Leu Val Asp Arg Asp Cys Ala Thr Ile Thr
2705 2710 2715

Lys Asn Ser Val Gln Phe Leu Lys Met Lys Lys Gly Cys Ala Phe
2720 2725 2730

Thr Tyr Asp Leu Thr Ile Ser Asn Leu Val Arg Leu Ile Glu Leu

2735											2740											2745							
Val	His	Lys	Asn	Asn	Leu	Gln	Glu	Arg	Glu	Ile	Pro	Thr	Val	Thr															
2750												2755												2760					
Val	Thr	Thr	Trp	Leu	Ala	Tyr	Ser	Phe	Val	Asn	Glu	Asp	Leu	Gly															
2765												2770												2775					
Thr	Ile	Lys	Pro	Val	Leu	Gly	Glu	Lys	Val	Ile	Pro	Glu	Pro	Pro															
2780												2785												2790					
Glu	Glu	Leu	Ser	Leu	Gln	Pro	Thr	Val	Arg	Leu	Val	Thr	Thr	Glu															
2795												2800												2805					
Thr	Ala	Ile	Thr	Ile	Thr	Gly	Glu	Ala	Glu	Val	Met	Thr	Thr	Gly															
2810												2815												2820					
Ile	Thr	Pro	Val	Val	Glu	Met	Lys	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Asp	His															
2825												2830												2835					
Gln	Ser	Thr	Thr	Leu	Lys	Val	Gly	Leu	Lys	Glu	Gly	Glu	Tyr	Pro															
2840												2845												2850					
Gly	Pro	Gly	Val	Asn	Pro	Asn	His	Leu	Ala	Glu	Val	Ile	Asp	Glu															
2855												2860												2865					
Lys	Asp	Asp	Arg	Pro	Phe	Val	Leu	Ile	Ile	Gly	Asn	Lys	Gly	Ser															
2870												2875												2880					
Thr	Ser	Asn	Arg	Ala	Arg	Thr	Ala	Lys	Asn	Ile	Arg	Leu	Tyr	Lys															
2885												2890												2895					
Gly	Asn	Asn	Pro	Arg	Glu	Ile	Arg	Asp	Leu	Met	Ser	Gln	Gly	Arg															
2900												2905												2910					

Ile Leu Thr Val Ala Leu Lys Glu Leu Asp Pro Glu Leu Lys Glu
2915 2920 2925

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

Ala Leu Ser Leu Gly Lys Pro Ile Lys Arg Lys Thr Thr Thr Ala
2945 2950 2955

Met Ile Arg Arg Leu Ile Glu Pro Glu Val Glu Glu Glu Leu Pro
2960 2965 2970

Asp Trp Phe Gln Ala Glu Glu Pro Leu Phe Leu Glu Ala Lys Ile
2975 2980 2985

Gln Asn Asp Leu Tyr His Leu Ile Gly Ser Val Asp Ser Ile Lys
2990 2995 3000

Ser Lys Ala Lys Glu Leu Gly Ala Thr Asp Asn Thr Lys Ile Val
3005 3010 3015

Lys Glu Val Gly Ala Arg Thr Tyr Thr Met Lys Leu Ser Ser Trp
3020 3025 3030

Ser Thr Gln Val Thr Lys Lys Gln Met Ser Leu Ala Pro Leu Phe
3035 3040 3045

Glu Glu Leu Leu Leu Lys Cys Pro Pro Cys Ser Lys Ile Ser Lys
3050 3055 3060

Gly His Met Val Ser Ala Tyr Gln Leu Ala Gln Gly Asn Trp Glu
3065 3070 3075

Pro Leu Gly Cys Gly Val Tyr Met Gly Thr Ile Pro Ala Arg Arg
3080 3085 3090

Leu Lys Ile His Pro Tyr Glu Ala Tyr Leu Lys Leu Lys Glu Leu
3095 3100 3105

Val Glu Val Glu Ser Ser Arg Ala Thr Ala Lys Glu Ser Ile Ile
3110 3115 3120

Arg Glu His Asn Thr Trp Ile Leu Arg Lys Val Arg His Glu Gly
3125 3130 3135

Asn Leu Arg Thr Lys Ser Met Ile Asn Pro Gly Lys Ile Ser Asp
3140 3145 3150

Gln Leu Cys Arg Asp Gly His Lys Arg Asn Ile Tyr Asn Lys Ile
3155 3160 3165

Ile Gly Ser Thr Met Ala Ser Ala Gly Ile Arg Leu Glu Lys Leu
3170 3175 3180

Pro Val Val Arg Ala Gln Thr Asp Thr Thr Ser Phe His Gln Ala
3185 3190 3195

Ile Arg Glu Lys Ile Asp Lys Thr Glu Asn Lys Gln Thr Pro Glu
3200 3205 3210

Leu His Glu Glu Leu Met Lys Val Phe Asp Cys Leu Lys Ile Pro
3215 3220 3225

Glu Leu Lys Glu Ser Tyr Asp Glu Val Ser Trp Glu Gln Leu Glu
3230 3235 3240

Ala Gly Ile Asn Arg Lys Gly Ala Ala Gly Tyr Leu Glu Ser Lys
3245 3250 3255

Asn Ile Gly Glu Val Leu Asp Thr Glu Lys His Ile Val Glu Gln

3260

3265

3270

Leu Ile Lys Asp Leu Arg Lys Gly Lys Lys Ile Arg Tyr Tyr Glu
3275 3280 3285

Thr Ala Ile Pro Lys Asn Glu Lys Arg Asp Val Ser Asp Asp Trp
3290 3295 3300

Glu Ala Gly Glu Phe Val Asp Glu Lys Lys Pro Arg Val Ile Gln
3305 3310 3315

Tyr Pro Asp Ala Lys Val Arg Leu Ala Ile Thr Lys Val Met Tyr
3320 3325 3330

Lys Trp Val Lys Gln Lys Pro Val Val Ile Pro Gly Tyr Glu Gly
3335 3340 3345

Lys Thr Pro Leu Phe Asp Ile Phe Asn Lys Val Lys Lys Glu Trp
3350 3355 3360

Asp Ser Phe Gln Asp Pro Val Ala Val Ser Phe Asp Thr Lys Ala
3365 3370 3375

Trp Asp Thr Gln Val Thr Ser Arg Asp Leu Met Leu Ile Lys Asp
3380 3385 3390

Ile Gln Lys Tyr Tyr Phe Lys Arg Ser Ile His Lys Phe Leu Asp
3395 3400 3405

Thr Ile Thr Glu His Met Val Glu Val Pro Val Ile Thr Ala Asp
3410 3415 3420

Gly Glu Val Tyr Ile Arg Asn Gly Gln Arg Gly Ser Gly Gln Pro
3425 3430 3435

Asp Thr Ser Ala Gly Asn Ser Met Leu Asn Val Leu Thr Met Ile
3440 3445 3450

Tyr Ala Phe Cys Lys Ser Thr Gly Ile Pro Tyr Arg Gly Phe Ser
3455 3460 3465

Arg Val Ala Arg Ile His Val Cys Gly Asp Asp Gly Phe Leu Ile
3470 3475 3480

Thr Glu Arg Gly Leu Gly Leu Lys Phe Ser Glu Lys Gly Met Gln
3485 3490 3495

Ile Leu His Glu Ala Gly Lys Pro Gln Lys Ile Thr Glu Gly Asp
3500 3505 3510

Lys Met Lys Val Ala Tyr Arg Phe Glu Asp Ile Glu Phe Cys Ser
3515 3520 3525

His Thr Pro Val Pro Val Arg Trp Ala Asp Asn Thr Ser Ser Tyr
3530 3535 3540

Met Ala Gly Arg Ser Thr Ala Thr Ile Leu Ala Lys Met Ala Thr
3545 3550 3555

Arg Leu Asp Ser Ser Gly Glu Arg Gly Ser Thr Ala Tyr Glu Lys
3560 3565 3570

Ala Val Ala Phe Ser Phe Leu Leu Met Tyr Ser Trp Asn Pro Val
3575 3580 3585

Val Arg Arg Ile Cys Leu Leu Val Leu Ser Gln Phe Pro Glu Ile
3590 3595 3600

Ser Pro Ser Lys Asn Thr Ile Tyr Tyr Tyr Gln Gly Asp Pro Ile
3605 3610 3615

Ala Ala Tyr Arg Glu Val Ile Gly Lys Gln Leu Cys Glu Leu Lys
3620 3625 3630

Arg Thr Gly Phe Glu Lys Leu Ala Gly Leu Asn Leu Ser Met Thr
3635 3640 3645

Thr Leu Gly Ile Trp Thr Lys His Thr Ser Lys Arg Leu Ile Gln
3650 3655 3660

Ala Cys Val Glu Ile Gly Lys Arg Glu Gly Thr Trp Leu Val Asn
3665 3670 3675

Ala Asp Arg Leu Ile Ala Gly Lys Thr Gly Lys Phe Tyr Ile Pro
3680 3685 3690

Ser Thr Gly Val Thr Leu Leu Gly Lys His Tyr Glu Glu Ile Asn
3695 3700 3705

Leu Lys Gln Lys Ala Ala Gln Pro Pro Ile Glu Gly Val Asp Arg
3710 3715 3720

Tyr Lys Leu Gly Pro Ile Val Asn Val Ile Leu Arg Arg Leu Arg
3725 3730 3735

Val Met Leu Met Thr Val Ala Ser Gly Ser Trp
3740 3745

<210> 7 <211> 3912 <212> PRT <213> Artificial Sequence: Mutated BVDV: XIKE-B <400> 7

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

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

Phe Gly Glu Ser Ser Asp Leu His Pro Gln Ser Thr Leu Lys Leu Pro
35 40 45

His Gln Arg Gly Ser Ala Asn Ile Leu Thr Asn Ala Arg Ser Leu Pro
50 55 60

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

Ile Tyr Ile Lys Pro Gly Pro Ile Tyr Tyr Gln Asp Tyr Val Gly Pro
85 90 95

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

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

Tyr His Ile Tyr Ile Cys Ile Asp Gly Cys Ile Leu Leu Lys Arg Ala
130 135 140

Thr Arg Asn Gln Pro Glu Val Leu Lys Trp Val Tyr Asn Arg Leu Asn
145 150 155 160

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

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

Lys Ile Ala Pro Lys Glu Thr Glu Lys Asp Cys Lys Thr Arg Pro Pro
195 200 205

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

Gly Lys Val Arg Gly 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 Ala Val Leu Leu Gln Leu Val Thr Gly Glu Asn
260 265 270

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

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

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

Leu Lys Glu Ile Val 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 Gly Trp Cys Asn
340 345 350

Trp Phe His Ile Glu Pro Trp Ile Trp Leu Met Asn Lys Thr Gln Asn
355 360 365

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

Tyr Asp Lys Glu Thr Glu Leu Asn Ile Val Thr Gln Ala Arg Asp Arg
385 390 395 400

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

Gly Val Ile Leu Asp Gly Pro Cys Asn Phe Lys Val Ser Val Glu Asp
420 425 430

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

Ile Gln Leu Leu Asp Gly Ala Thr Asn Thr Ile Glu Gly Ala Arg Val
450 455 460

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

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

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

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

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

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

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

His Phe Ala Ile Pro Gln Ser His Val Asp Val Asp Thr Cys Asp Lys
580 585 590

Asn Gln Leu Asn Leu Thr Val Ala Thr Thr Val Ala Glu Val Ile Pro
595 600 605

Gly Thr Val Trp Asn Leu Gly Lys Tyr Val Cys Ile Arg Pro Asp Trp
610 615 620

Trp Pro Tyr Glu Thr Thr Thr Val Phe Val Ile Glu Glu Ala Gly Gln
625 630 635 640

Val Ile Lys Leu Met Leu Arg Ala Ile Arg Asp Leu Thr Arg Ile Trp
645 650 655

Asn Ala Ala Thr Thr Thr Ala Phe Leu Ile Phe Leu Val Lys Ala Leu
660 665 670

Arg Gly Gln Leu Ile Gln Gly Leu Leu Trp Leu Met Leu Ile Thr Gly
675 680 685

Ala Gln Gly Phe Pro Glu Cys Lys Glu Gly Phe Gln Tyr Ala Ile Ser
690 695 700

Lys Asp Arg Lys Met Gly Leu Leu Gly Pro Glu Ser Leu Thr Thr Thr
705 710 715 720

Trp His Leu Pro Thr Lys Lys Ile Val Asp Ser Met Val His Val Trp
725 730 735

Cys Glu Gly Lys Asp Leu Lys Ile Leu Lys Met Cys Thr Lys Glu Glu
740 745 750

Arg Tyr Leu Val Ala Val His Glu Arg Ala Leu Ser Thr Ser Ala Glu
755 760 765

Phe Met Gln Ile Ser Asp Gly Thr Ile Gly Pro Asp Val Ile Asp Met
770 775 780

Pro Asp Asp Phe Glu Phe Gly Leu Cys Pro Cys Asp Ser Lys Pro Val
785 790 795 800

Ile Lys Gly Lys Phe Asn Ala Ser Leu Leu Asn Gly Pro Ala Phe Gln
805 810 815

Met Val Cys Pro Gln Gly Trp Thr Gly Thr Ile Glu Cys Thr Leu Ala
820 825 830

Asn Gln Asp Thr Leu Asp Thr Thr Val Ile Arg Thr Tyr Arg Arg Thr
835 840 845

Thr Pro Phe Gln Arg Arg Lys Trp Cys Thr Tyr Glu Lys Ile Ile Gly
850 855 860

Glu Asp Ile Tyr Glu Cys Ile Leu Gly Gly Asn Trp Thr Cys Ile Thr
865 870 875 880

Gly Asp His Ser Arg Leu Lys Asp Gly Pro Ile Lys Lys Cys Lys Trp
885 890 895

Cys Gly His Asp Phe Val Asn Ser Glu Gly Leu Pro His Tyr Pro Ile
900 905 910

Gly Lys Cys Met Leu Ile Asn Glu Ser Gly Tyr Arg Tyr Val Asp Asp
915 920 925

Thr Ser Cys Asp Arg Gly Gly Val Ala Ile Val Pro Ser Gly Thr Val
930 935 940

Lys Cys Arg Ile Gly Asn Val Thr Val Gln Val Ile Ala Thr Asn Asn
945 950 955 960

Asp Leu Gly Pro Met Pro Cys Ser Pro Ala Glu Val Ile Ala Ser Glu
965 970 975

Gly Pro Val Glu Lys Thr Ala Cys Thr Phe Asn Tyr Ser Arg Thr Leu
980 985 990

Pro Asn Lys Tyr Tyr Glu Pro Arg Asp Arg Tyr Phe Gln Gln Tyr Met

995	1000	1005
Leu Lys Gly Glu Trp Gln Tyr	Trp Phe Asp Leu Asp	Ser Val Asp
1010	1015	1020
His His Lys Asp Tyr Phe Ser	Glu Phe Ile Ile Ile	Ala Val Val
1025	1030	1035
Ala Leu Leu Gly Gly Lys Tyr	Val Leu Trp Leu Leu	Ile Thr Tyr
1040	1045	1050
Thr Ile Leu Ser Glu Gln Met	Ala Met Gly Ala Gly	Val Asn Thr
1055	1060	1065
Glu Glu Ile Val Met Ile Gly	Asn Leu Leu Thr Asp	Ser Asp Ile
1070	1075	1080
Glu Val Val Val Tyr Phe Leu	Leu Leu Tyr Leu Ile	Val Lys Glu
1085	1090	1095
Glu Leu Ala Arg Lys Trp Ile	Ile Leu Val Tyr His	Ile Leu Val
1100	1105	1110
Ala Asn Pro Met Lys Thr Ile	Gly Val Val Leu Leu	Met Leu Gly
1115	1120	1125
Gly Val Val Lys Ala Ser Arg	Ile Asn Ala Asp Asp	Gln Ser Ala
1130	1135	1140
Met Asp Pro Cys Phe Leu Leu	Val Thr Gly Val Val	Ala Val Leu
1145	1150	1155
Met Ile Ala Arg Arg Glu Pro	Ala Thr Leu Pro Leu	Ile Val Ala
1160	1165	1170

Leu Leu Ala Ile Arg Thr Ser Gly Phe Leu Leu Pro Ala Ser Ile
1175 1180 1185

Asp Val Thr Val Ala Val Val Leu Ile Val Leu Leu Leu Ala Ser
1190 1195 1200

Tyr Ile Thr Asp Tyr Phe Arg Tyr Lys Lys Trp Leu Gln Leu Leu
1205 1210 1215

Phe Ser Leu Ile Ala Gly Ile Phe Ile Ile Arg Ser Leu Lys His
1220 1225 1230

Ile Asn Gln Met Glu Val Pro Glu Ile Ser Met Pro Ser Trp Arg
1235 1240 1245

Pro Leu Ala Leu Val Leu Phe Tyr Ile Thr Ser Thr Ala Ile Thr
1250 1255 1260

Thr Asn Trp Asp Ile Asp Leu Ala Gly Phe Leu Leu Gln Trp Ala
1265 1270 1275

Pro Ala Val Ile Met Met Ala Thr Met Trp Ala Asp Phe Leu Thr
1280 1285 1290

Leu Ile Ile Val Leu Pro Ser Tyr Glu Leu Ser Lys Leu Tyr Phe
1295 1300 1305

Leu Lys Asn Val Arg Thr Asp Val Glu Lys Asn Trp Leu Gly Lys
1310 1315 1320

Val Lys Tyr Arg Gln Ile Ser Ser Val Tyr Asp Ile Cys Asp Ser
1325 1330 1335

Glu Glu Ala Val Tyr Leu Phe Pro Ser Arg His Lys Ser Gly Ser
1340 1345 1350

Arg Pro Asp Phe Ile Leu Pro Phe Leu Lys Ala Val Leu Ile Ser
1355 1360 1365

Cys Ile Ser Ser Gln Trp Gln Val Val Tyr Ile Ser Tyr Leu Ile
1370 1375 1380

Leu Glu Ile Thr Tyr Tyr Met His Arg Lys Ile Ile Asp Glu Val
1385 1390 1395

Ser Gly Gly Ala Asn Phe Leu Ser Arg Leu Ile Ala Ala Ile Ile
1400 1405 1410

Glu Leu Asn Trp Ala Ile Asp Asp Glu Glu Cys Lys Gly Leu Lys
1415 1420 1425

Lys Leu Tyr Leu Leu Ser Gly Arg Ala Lys Asn Leu Ile Val Lys
1430 1435 1440

His Lys Val Arg Asn Glu Ala Val His Arg Trp Phe Gly Glu Glu
1445 1450 1455

Glu Ile Tyr Gly Ala Pro Lys Val Ile Thr Ile Ile Lys Ala Ser
1460 1465 1470

Thr Leu Ser Lys Asn Arg His Cys Ile Ile Cys Thr Ile Cys Glu
1475 1480 1485

Gly Lys Glu Trp Asn Gly Ala Asn Cys Pro Lys Cys Gly Arg Gln
1490 1495 1500

Gly Lys Pro Ile Thr Cys Gly Met Thr Leu Ala Asp Phe Glu Glu
1505 1510 1515

Lys His Tyr Lys Lys Ile Phe Ile Arg Glu Glu Ser Ser Cys Pro

1520	1525	1530
Val Pro Phe Asp Pro Ser Cys His Cys Asn Tyr Phe Arg His Asp		
1535	1540	1545
Gly Pro Phe Arg Lys Glu Tyr Lys Gly Tyr Val Gln Tyr Thr Ala		
1550	1555	1560
Arg Gly Gln Leu Phe Leu Arg Asn Leu Pro Ile Leu Ala Thr Lys		
1565	1570	1575
Met Lys Leu Leu Met Val Gly Asn Leu Gly Ala Glu Ile Gly Asp		
1580	1585	1590
Leu Glu His Leu Gly Trp Val Leu Arg Gly Pro Ala Val Cys Lys		
1595	1600	1605
Lys Ile Thr Asn His Glu Lys Cys His Val Asn Ile Met Asp Lys		
1610	1615	1620
Leu Thr Ala Phe Phe Gly Ile Met Pro Arg Gly Thr Thr Pro Arg		
1625	1630	1635
Ala Pro Val Arg Phe Pro Thr Ala Leu Leu Lys Val Arg Arg Gly		
1640	1645	1650
Leu Glu Thr Gly Trp Ala Tyr Thr His Gln Gly Gly Ile Ser Ser		
1655	1660	1665
Val Asp His Val Thr Ala Gly Lys Asp Leu Leu Val Cys Asp Ser		
1670	1675	1680
Met Gly Arg Thr Arg Val Val Cys His Ser Asn Asn Lys Met Thr		
1685	1690	1695

Asp Glu Thr Glu Tyr Gly Ile Lys Thr Asp Ser Gly Cys Pro Glu
1700 1705 1710

Gly Ala Arg Cys Tyr Val Leu Asn Pro Glu Ala Val Asn Ile Ser
1715 1720 1725

Gly Thr Lys Gly Ala Met Val His Leu Gln Lys Thr Gly Gly Glu
1730 1735 1740

Phe Thr Cys Val Thr Ala Ser Gly Thr Pro Ala Phe Phe Asp Leu
1745 1750 1755

Lys Asn Leu Lys Gly Trp Ser Gly Leu Pro Ile Phe Glu Ala Ser
1760 1765 1770

Ser Gly Arg Val Val Gly Arg Val Lys Val Gly Lys Asn Glu Asp
1775 1780 1785

Ser Lys Pro Thr Lys Leu Met Ser Gly Ile Gln Thr Val Ser Lys
1790 1795 1800

Asn Gln Thr Asp Leu Ala Asp Ile Val Lys Lys Leu Thr Ser Met
1805 1810 1815

Asn Arg Gly Glu Phe Lys Gln Ile Thr Leu Ala Thr Gly Ala Gly
1820 1825 1830

Lys Thr Thr Glu Leu Pro Arg Ser Val Ile Glu Glu Ile Gly Arg
1835 1840 1845

His Lys Arg Val Leu Val Leu Ile Pro Leu Arg Ala Ala Ala Glu
1850 1855 1860

Ser Val Tyr Gln Tyr Met Arg Val Lys Tyr Pro Ser Ile Ser Phe
1865 1870 1875

Asn Leu Arg Ile Gly Asp Met Lys Glu Gly Asp Met Ala Thr Gly
1880 1885 1890

Ile Thr Tyr Ala Ser Tyr Gly Tyr Phe Cys Gln Leu Pro Gln Pro
1895 1900 1905

Lys Leu Arg Ala Ala Met Val Glu Tyr Ser Tyr Ile Phe Leu Asp
1910 1915 1920

Glu Tyr His Cys Ala Thr Pro Glu Gln Leu Ala Ile Ile Gly Lys
1925 1930 1935

Ile His Arg Phe Ala Glu Asn Leu Arg Val Val Ala Met Thr Ala
1940 1945 1950

Thr Pro Ala Gly Thr Val Thr Thr Thr Gly Gln Lys His Pro Ile
1955 1960 1965

Glu Glu Phe Ile Ala Pro Glu Val Met Lys Gly Glu Asp Leu Gly
1970 1975 1980

Ser Glu Tyr Leu Asp Ile Ala Gly Leu Lys Ile Pro Thr Glu Glu
1985 1990 1995

Met Lys Gly Asn Met Leu Val Phe Ala Pro Thr Arg Asn Met Ala
2000 2005 2010

Val Glu Thr Ala Lys Lys Leu Lys Ala Lys Gly Tyr Asn Ser Gly
2015 2020 2025

Tyr Tyr Tyr Ser Gly Glu Asn Pro Glu Asn Leu Arg Val Val Thr
2030 2035 2040

Ser Gln Ser Pro Tyr Val Val Val Ala Thr Asn Ala Ile Glu Ser

2045					2050					2055				
Gly	Val	Thr	Leu	Pro	Asp	Leu	Asp	Thr	Val	Val	Asp	Thr	Gly	Leu
2060					2065					2070				
Lys	Cys	Glu	Lys	Arg	Val	Arg	Ile	Ser	Ser	Lys	Met	Pro	Phe	Ile
2075					2080					2085				
Val	Thr	Gly	Leu	Lys	Arg	Met	Ala	Val	Thr	Ile	Gly	Glu	Gln	Ala
2090					2095					2100				
Gln	Arg	Arg	Gly	Arg	Val	Gly	Arg	Val	Lys	Pro	Gly	Arg	Tyr	Tyr
2105					2110					2115				
Arg	Ser	Gln	Glu	Thr	Ala	Ser	Gly	Ser	Lys	Asp	Tyr	His	Tyr	Asp
2120					2125					2130				
Leu	Leu	Gln	Ala	Gln	Arg	Tyr	Gly	Ile	Glu	Asp	Gly	Ile	Asn	Val
2135					2140					2145				
Thr	Lys	Ser	Phe	Arg	Glu	Met	Asn	Tyr	Asp	Trp	Ser	Leu	Tyr	Glu
2150					2155					2160				
Glu	Asp	Ser	Leu	Met	Ile	Thr	Gln	Leu	Glu	Val	Leu	Asn	Asn	Leu
2165					2170					2175				
Leu	Ile	Ser	Glu	Asp	Leu	Pro	Ala	Ala	Val	Lys	Asn	Ile	Met	Ala
2180					2185					2190				
Arg	Thr	Asp	His	Pro	Glu	Pro	Ile	Gln	Leu	Ala	Tyr	Asn	Ser	Tyr
2195					2200					2205				
Glu	Asn	Gln	Ile	Pro	Val	Leu	Phe	Pro	Lys	Ile	Lys	Asn	Gly	Glu
2210					2215					2220				

Val Thr Asp Ser Tyr Glu Asn Tyr Thr Tyr Leu Asn Ala Arg Lys
2225 2230 2235

Leu Gly Glu Asp Val Pro Ala Tyr Val Tyr Ala Thr Glu Asp Glu
2240 2245 2250

Asp Leu Ala Val Asp Leu Leu Gly Met Asp Trp Pro Asp Pro Gly
2255 2260 2265

Asn Gln Gln Val Val Glu Thr Gly Arg Ala Leu Lys Gln Val Thr
2270 2275 2280

Gly Leu Ser Thr Ala Glu Asn Ala Leu Leu Ile Ala Leu Phe Gly
2285 2290 2295

Tyr Val Gly Tyr Gln Thr Leu Ser Lys Arg His Ile Pro Met Ile
2300 2305 2310

Thr Asp Ile Tyr Thr Leu Glu Asp His Arg Leu Glu Asp Thr Thr
2315 2320 2325

His Leu Gln Phe Ala Pro Asn Ala Ile Arg Thr Asp Gly Lys Asp
2330 2335 2340

Ser Glu Leu Lys Glu Leu Ala Val Gly Asp Leu Asp Lys Tyr Val
2345 2350 2355

Asp Ala Leu Val Asp Tyr Ser Lys Gln Gly Met Lys Phe Ile Lys
2360 2365 2370

Val Gln Ala Glu Lys Val Arg Asp Ser Gln Ser Thr Lys Glu Gly
2375 2380 2385

Leu Gln Thr Ile Lys Glu Tyr Val Asp Lys Phe Ile Gln Ser Leu
2390 2395 2400

Thr Glu Asn Lys Glu Glu Ile Ile Arg Tyr Gly Leu Trp Gly Val
2405 2410 2415

His Thr Ala Leu Tyr Lys Ser Leu Ala Ala Arg Leu Gly His Glu
2420 2425 2430

Thr Ala Phe Ala Thr Leu Val Val Lys Trp Leu Ala Phe Gly Gly
2435 2440 2445

Glu Thr Val Ser Ala His Ile Lys Gln Val Ala Val Asp Leu Val
2450 2455 2460

Val Tyr Tyr Ile Ile Asn Lys Pro Ser Phe Pro Gly Asp Thr Glu
2465 2470 2475

Thr Gln Gln Glu Gly Arg Arg Phe Val Ala Ser Leu Phe Ile Ser
2480 2485 2490

Ala Leu Ala Thr Tyr Thr Tyr Lys Thr Trp Asn Tyr Asn Asn Leu
2495 2500 2505

Gln Arg Val Val Glu Pro Ala Leu Ala Tyr Leu Pro Tyr Ala Thr
2510 2515 2520

Ser Ala Leu Lys Leu Phe Thr Pro Thr Arg Leu Glu Ser Val Val
2525 2530 2535

Ile Leu Ser Ser Thr Ile Tyr Lys Thr Tyr Leu Ser Ile Arg Lys
2540 2545 2550

Gly Lys Ser Asp Gly Leu Leu Gly Thr Gly Ile Ser Ala Ala Met
2555 2560 2565

Glu Ile Leu Asn Gln Asn Pro Ile Ser Val Gly Ile Ser Val Met

2570

2575

2580

Leu Gly Val Gly Ala Ile Ala Ala His Asn Ala Ile Glu Ser Ser
2585 2590 2595

Glu Gln Lys Arg Thr Leu Leu Met Lys Val Phe Val Lys Asn Phe
2600 2605 2610

Leu Asp Gln Ala Ala Thr Asp Glu Leu Val Lys Glu Asn Pro Glu
2615 2620 2625

Lys Ile Ile Met Ala Leu Phe Glu Ala Val Gln Thr Ile Gly Asn
2630 2635 2640

Pro Leu Arg Leu Ile Tyr His Leu Tyr Gly Val Tyr Tyr Lys Gly
2645 2650 2655

Trp Glu Ala Lys Glu Leu Ala Glu Lys Thr Ala Gly Arg Asn Leu
2660 2665 2670

Phe Thr Leu Ile Met Phe Glu Ala Phe Glu Leu Leu Gly Met Asp
2675 2680 2685

Ser Glu Gly Lys Ile Arg Asn Leu Ser Gly Asn Tyr Ile Leu Asp
2690 2695 2700

Leu Ile Phe Asn Leu His Asn Lys Leu Asn Lys Gly Leu Lys Lys
2705 2710 2715

Leu Val Leu Gly Trp Ala Pro Ala Pro Leu Ser Cys Asp Trp Thr
2720 2725 2730

Pro Ser Asp Glu Arg Ile Ser Leu Pro His Asn Asn Tyr Leu Arg
2735 2740 2745

Val Glu Thr Arg Cys Pro Cys Gly Tyr Glu Met Lys Ala Ile Lys
2750 2755 2760

Asn Val Ala Gly Lys Leu Thr Lys Val Glu Glu Lys Gly Ser Phe
2765 2770 2775

Leu Cys Arg Asn Arg Leu Gly Arg Gly Pro Pro Asn Phe Lys Val
2780 2785 2790

Thr Lys Phe Tyr Asp Asp Asn Leu Ile Glu Val Lys Pro Val Ala
2795 2800 2805

Arg Leu Glu Gly Gln Val Asp Leu Tyr Tyr Lys Gly Val Thr Ala
2810 2815 2820

Lys Leu Asp Tyr Asn Asn Gly Lys Val Leu Leu Ala Thr Asn Lys
2825 2830 2835

Trp Glu Val Asp His Ala Phe Leu Thr Arg Leu Val Lys Lys His
2840 2845 2850

Thr Gly Ile Gly Phe Lys Gly Ala Tyr Leu Gly Asp Arg Pro Asp
2855 2860 2865

His Gln Asp Leu Val Asp Arg Asp Cys Ala Thr Ile Thr Lys Asn
2870 2875 2880

Ser Val Gln Phe Leu Lys Met Lys Lys Gly Cys Ala Phe Thr Tyr
2885 2890 2895

Asp Leu Thr Ile Ser Asn Leu Val Arg Leu Ile Glu Leu Val His
2900 2905 2910

Lys Asn Asn Leu Gln Glu Arg Glu Ile Pro Thr Val Thr Val Thr
2915 2920 2925

Thr Trp Leu Ala Tyr Ser Phe Val Asn Glu Asp Leu Gly Thr Ile
2930 2935 2940

Lys Pro Val Leu Gly Glu Lys Val Ile Pro Glu Pro Pro Glu Glu
2945 2950 2955

Leu Ser Leu Gln Pro Thr Val Arg Leu Val Thr Thr Glu Thr Ala
2960 2965 2970

Ile Thr Ile Thr Gly Glu Ala Glu Val Met Thr Thr Gly Ile Thr
2975 2980 2985

Pro Val Val Glu Met Lys Glu Glu Pro Gln Leu Asp His Gln Ser
2990 2995 3000

Thr Thr Leu Lys Val Gly Leu Lys Glu Gly Glu Tyr Pro Gly Pro
3005 3010 3015

Gly Val Asn Pro Asn His Leu Ala Glu Val Ile Asp Glu Lys Asp
3020 3025 3030

Asp Arg Pro Phe Val Leu Ile Ile Gly Asn Lys Gly Ser Thr Ser
3035 3040 3045

Asn Arg Ala Arg Thr Ala Lys Asn Ile Arg Leu Tyr Lys Gly Asn
3050 3055 3060

Asn Pro Arg Glu Ile Arg Asp Leu Met Ser Gln Gly Arg Ile Leu
3065 3070 3075

Thr Val Ala Leu Lys Glu Leu Asp Pro Glu Leu Lys Glu Leu Val
3080 3085 3090

Asp Tyr Lys Gly Thr Phe Leu Asn Arg Glu Ala Leu Glu Ala Leu

3095

3100

3105

Ser Leu Gly Lys Pro Ile Lys Arg Lys Thr Thr Thr Ala Met Ile
3110 3115 3120

Arg Arg Leu Ile Glu Pro Glu Val Glu Glu Glu Leu Pro Asp Trp
3125 3130 3135

Phe Gln Ala Glu Glu Pro Leu Phe Leu Glu Ala Lys Ile Gln Asn
3140 3145 3150

Asp Leu Tyr His Leu Ile Gly Ser Val Asp Ser Ile Lys Ser Lys
3155 3160 3165

Ala Lys Glu Leu Gly Ala Thr Asp Asn Thr Lys Ile Val Lys Glu
3170 3175 3180

Val Gly Ala Arg Thr Tyr Thr Met Lys Leu Ser Ser Trp Ser Thr
3185 3190 3195

Gln Val Thr Lys Lys Gln Met Ser Leu Ala Pro Leu Phe Glu Glu
3200 3205 3210

Leu Leu Leu Lys Cys Pro Pro Cys Ser Lys Ile Ser Lys Gly His
3215 3220 3225

Met Val Ser Ala Tyr Gln Leu Ala Gln Gly Asn Trp Glu Pro Leu
3230 3235 3240

Gly Cys Gly Val Tyr Met Gly Thr Ile Pro Ala Arg Arg Leu Lys
3245 3250 3255

Ile His Pro Tyr Glu Ala Tyr Leu Lys Leu Lys Glu Leu Val Glu
3260 3265 3270

Val Glu Ser Ser Arg Ala Thr Ala Lys Glu Ser Ile Ile Arg Glu
3275 3280 3285

His Asn Thr Trp Ile Leu Arg Lys Val Arg His Glu Gly Asn Leu
3290 3295 3300

Arg Thr Lys Ser Met Ile Asn Pro Gly Lys Ile Ser Asp Gln Leu
3305 3310 3315

Cys Arg Asp Gly His Lys Arg Asn Ile Tyr Asn Lys Ile Ile Gly
3320 3325 3330

Ser Thr Met Ala Ser Ala Gly Ile Arg Leu Glu Lys Leu Pro Val
3335 3340 3345

Val Arg Ala Gln Thr Asp Thr Thr Ser Phe His Gln Ala Ile Arg
3350 3355 3360

Glu Lys Ile Asp Lys Thr Glu Asn Lys Gln Thr Pro Glu Leu His
3365 3370 3375

Glu Glu Leu Met Lys Val Phe Asp Cys Leu Lys Ile Pro Glu Leu
3380 3385 3390

Lys Glu Ser Tyr Asp Glu Val Ser Trp Glu Gln Leu Glu Ala Gly
3395 3400 3405

Ile Asn Arg Lys Gly Ala Ala Gly Tyr Leu Glu Ser Lys Asn Ile
3410 3415 3420

Gly Glu Val Leu Asp Thr Glu Lys His Ile Val Glu Gln Leu Ile
3425 3430 3435

Lys Asp Leu Arg Lys Gly Lys Lys Ile Arg Tyr Tyr Glu Thr Ala
3440 3445 3450

Ile Pro Lys Asn Glu Lys Arg Asp Val Ser Asp Asp Trp Glu Ala
3455 3460 3465

Gly Glu Phe Val Asp Glu Lys Lys Pro Arg Val Ile Gln Tyr Pro
3470 3475 3480

Asp Ala Lys Val Arg Leu Ala Ile Thr Lys Val Met Tyr Lys Trp
3485 3490 3495

Val Lys Gln Lys Pro Val Val Ile Pro Gly Tyr Glu Gly Lys Thr
3500 3505 3510

Pro Leu Phe Asp Ile Phe Asn Lys Val Lys Lys Glu Trp Asp Ser
3515 3520 3525

Phe Gln Asp Pro Val Ala Val Ser Phe Asp Thr Lys Ala Trp Asp
3530 3535 3540

Thr Gln Val Thr Ser Arg Asp Leu Met Leu Ile Lys Asp Ile Gln
3545 3550 3555

Lys Tyr Tyr Phe Lys Arg Ser Ile His Lys Phe Leu Asp Thr Ile
3560 3565 3570

Thr Glu His Met Val Glu Val Pro Val Ile Thr Ala Asp Gly Glu
3575 3580 3585

Val Tyr Ile Arg Asn Gly Gln Arg Gly Ser Gly Gln Pro Asp Thr
3590 3595 3600

Ser Ala Gly Asn Ser Met Leu Asn Val Leu Thr Met Ile Tyr Ala
3605 3610 3615

Phe Cys Lys Ser Thr Gly Ile Pro Tyr Arg Gly Phe Ser Arg Val

3620											3625											3630		
Ala	Arg	Ile	His	Val	Cys	Gly	Asp	Asp	Gly	Phe	Leu	Ile	Thr	Glu										
3635						3640						3645												
Arg	Gly	Leu	Gly	Leu	Lys	Phe	Ser	Glu	Lys	Gly	Met	Gln	Ile	Leu										
3650						3655						3660												
His	Glu	Ala	Gly	Lys	Pro	Gln	Lys	Ile	Thr	Glu	Gly	Asp	Lys	Met										
3665						3670						3675												
Lys	Val	Ala	Tyr	Arg	Phe	Glu	Asp	Ile	Glu	Phe	Cys	Ser	His	Thr										
3680						3685						3690												
Pro	Val	Pro	Val	Arg	Trp	Ala	Asp	Asn	Thr	Ser	Ser	Tyr	Met	Ala										
3695						3700						3705												
Gly	Arg	Ser	Thr	Ala	Thr	Ile	Leu	Ala	Lys	Met	Ala	Thr	Arg	Leu										
3710						3715						3720												
Asp	Ser	Ser	Gly	Glu	Arg	Gly	Ser	Thr	Ala	Tyr	Glu	Lys	Ala	Val										
3725						3730						3735												
Ala	Phe	Ser	Phe	Leu	Leu	Met	Tyr	Ser	Trp	Asn	Pro	Val	Val	Arg										
3740						3745						3750												
Arg	Ile	Cys	Leu	Leu	Val	Leu	Ser	Gln	Phe	Pro	Glu	Ile	Ser	Pro										
3755						3760						3765												
Ser	Lys	Asn	Thr	Ile	Tyr	Tyr	Tyr	Gln	Gly	Asp	Pro	Ile	Ala	Ala										
3770						3775						3780												
Tyr	Arg	Glu	Val	Ile	Gly	Lys	Gln	Leu	Cys	Glu	Leu	Lys	Arg	Thr										
3785						3790						3795												

Gly Phe Glu Lys Leu Ala Gly Leu Asn Leu Ser Met Thr Thr Leu
3800 3805 3810

Gly Ile Trp Thr Lys His Thr Ser Lys Arg Leu Ile Gln Ala Cys
3815 3820 3825

Val Glu Ile Gly Lys Arg Glu Gly Thr Trp Leu Val Asn Ala Asp
3830 3835 3840

Arg Leu Ile Ala Gly Lys Thr Gly Lys Phe Tyr Ile Pro Ser Thr
3845 3850 3855

Gly Val Thr Leu Leu Gly Lys His Tyr Glu Glu Ile Asn Leu Lys
3860 3865 3870

Gln Lys Ala Ala Gln Pro Pro Ile Glu Gly Val Asp Arg Tyr Lys
3875 3880 3885

Leu Gly Pro Ile Val Asn Val Ile Leu Arg Arg Leu Arg Val Met
3890 3895 3900

Leu Met Thr Val Ala Ser Gly Ser Trp
3905 3910

<210> 8 <211> 3748 <212> PRT <213> Artificial Sequence: Mutated BVDV: XIKE-B-NdN <400> 8

Met Glu Leu Phe Ser Asp Glu Gly Ser Lys Gly Ala Thr Ser Lys Lys
1 5 10 15

Gln Pro Lys Pro Asp Arg Ile Glu Lys Gly Lys Met Lys Ile Ala Pro
20 25 30

Lys Glu Thr Glu Lys Asp Cys Lys Thr Arg Pro Pro Asp Ala Thr Ile
35 40 45

Val Val Glu Gly Val Lys Tyr Gln Val Lys Lys Lys Gly Lys Val Arg

50

55

60

Gly Lys Asn Thr Gln Asp Gly Leu Tyr His Asn Lys Asn Lys Pro Pro
65 70 75 80

Glu Ser Arg Lys Lys Leu Glu Lys Ala Leu Leu Ala Trp Ala Ile Leu
85 90 95

Ala Ala Val Leu Leu Gln Leu Val Thr Gly Glu Asn Ile Thr Gln Trp
100 105 110

Asn Leu Met Asp Asn Gly Thr Glu Gly Ile Gln Gln Ala Met Phe Leu
115 120 125

Arg Gly Val Asn Arg Ser Leu His Gly Ile Trp Pro Glu Lys Ile Cys
130 135 140

Thr Gly Val Pro Thr His Leu Ala Thr Asp Tyr Glu Leu Lys Glu Ile
145 150 155 160

Val Gly Met Met Asp Ala Ser Glu Lys Thr Asn Tyr Thr Cys Cys Arg
165 170 175

Leu Gln Arg His Glu Trp Asn Lys Gly Trp Cys Asn Trp Phe His Ile
180 185 190

Glu Pro Trp Ile Trp Leu Met Asn Lys Thr Gln Asn Asn Leu Thr Glu
195 200 205

Gly Gln Pro Leu Arg Glu Cys Ala Val Thr Cys Arg Tyr Asp Lys Glu
210 215 220

Thr Glu Leu Asn Ile Val Thr Gln Ala Arg Asp Arg Pro Thr Thr Leu
225 230 235 240

Thr Gly Cys Lys Lys Gly Lys Asn Phe Ser Phe Ala Gly Val Ile Leu

245

250

255

Asp Gly Pro Cys Asn Phe Lys Val Ser Val Glu Asp Val Leu Phe Lys
260 265 270

Glu His Asp Cys Gly Asn Met Leu Gln Glu Thr Ala Ile Gln Leu Leu
275 280 285

Asp Gly Ala Thr Asn Thr Ile Glu Gly Ala Arg Val Gly Thr Ala Lys
290 295 300

Leu Thr Thr Trp Leu Gly Lys Gln Leu Gly Ile Leu Gly Lys Lys Leu
305 310 315 320

Glu Asn Lys Ser Lys Ala Trp Phe Gly Ala His Ala Ala Ser Pro Tyr
325 330 335

Cys Gly Val Glu Arg Lys Ile Gly Tyr Val Trp Tyr Thr Lys Asn Cys
340 345 350

Thr Pro Ala Cys Leu Pro Arg Asn Thr Arg Ile Ile Gly Pro Gly Lys
355 360 365

Phe Asp Thr Asn Ala Glu Asp Gly Lys Ile Leu His Glu Met Gly Gly
370 375 380

His Leu Ser Glu Phe Val Leu Leu Ser Leu Val Val Leu Ser Asp Phe
385 390 395 400

Ala Pro Glu Thr Ala Ser Val Ile Tyr Leu Val Leu His Phe Ala Ile
405 410 415

Pro Gln Ser His Val Asp Val Asp Thr Cys Asp Lys Asn Gln Leu Asn
420 425 430

Leu Thr Val Ala Thr Thr Val Ala Glu Val Ile Pro Gly Thr Val Trp

435	440	445
Asn Leu Gly Lys Tyr Val Cys Ile Arg Pro Asp Trp Trp Pro Tyr Glu		
450	455	460
Thr Thr Thr Val Phe Val Ile Glu Glu Ala Gly Gln Val Ile Lys Leu		
465	470	475
Met Leu Arg Ala Ile Arg Asp Leu Thr Arg Ile Trp Asn Ala Ala Thr		
485	490	495
Thr Thr Ala Phe Leu Ile Phe Leu Val Lys Ala Leu Arg Gly Gln Leu		
500	505	510
Ile Gln Gly Leu Leu Trp Leu Met Leu Ile Thr Gly Ala Gln Gly Phe		
515	520	525
Pro Glu Cys Lys Glu Gly Phe Gln Tyr Ala Ile Ser Lys Asp Arg Lys		
530	535	540
Met Gly Leu Leu Gly Pro Glu Ser Leu Thr Thr Thr Trp His Leu Pro		
545	550	555
Thr Lys Lys Ile Val Asp Ser Met Val His Val Trp Cys Glu Gly Lys		
565	570	575
Asp Leu Lys Ile Leu Lys Met Cys Thr Lys Glu Glu Arg Tyr Leu Val		
580	585	590
Ala Val His Glu Arg Ala Leu Ser Thr Ser Ala Glu Phe Met Gln Ile		
595	600	605
Ser Asp Gly Thr Ile Gly Pro Asp Val Ile Asp Met Pro Asp Asp Phe		
610	615	620
Glu Phe Gly Leu Cys Pro Cys Asp Ser Lys Pro Val Ile Lys Gly Lys		

625 630 635 640

 Phe Asn Ala Ser Leu Leu Asn Gly Pro Ala Phe Gln Met Val Cys Pro
 645 650 655

 Gln Gly Trp Thr Gly Thr Ile Glu Cys Thr Leu Ala Asn Gln Asp Thr
 660 665 670

 Leu Asp Thr Thr Val Ile Arg Thr Tyr Arg Arg Thr Thr Pro Phe Gln
 675 680 685

 Arg Arg Lys Trp Cys Thr Tyr Glu Lys Ile Ile Gly Glu Asp Ile Tyr
 690 695 700

 Glu Cys Ile Leu Gly Gly Asn Trp Thr Cys Ile Thr Gly Asp His Ser
 705 710 715 720

 Arg Leu Lys Asp Gly Pro Ile Lys Lys Cys Lys Trp Cys Gly His Asp
 725 730 735

 Phe Val Asn Ser Glu Gly Leu Pro His Tyr Pro Ile Gly Lys Cys Met
 740 745 750

 Leu Ile Asn Glu Ser Gly Tyr Arg Tyr Val Asp Asp Thr Ser Cys Asp
 755 760 765

 Arg Gly Gly Val Ala Ile Val Pro Ser Gly Thr Val Lys Cys Arg Ile
 770 775 780

 Gly Asn Val Thr Val Gln Val Ile Ala Thr Asn Asn Asp Leu Gly Pro
 785 790 795 800

 Met Pro Cys Ser Pro Ala Glu Val Ile Ala Ser Glu Gly Pro Val Glu
 805 810 815

 Lys Thr Ala Cys Thr Phe Asn Tyr Ser Arg Thr Leu Pro Asn Lys Tyr
 820 825 830

Tyr Glu Pro Arg Asp Arg Tyr Phe Gln Gln Tyr Met Leu Lys Gly Glu
835 840 845

Trp Gln Tyr Trp Phe Asp Leu Asp Ser Val Asp His His Lys Asp Tyr
850 855 860

Phe Ser Glu Phe Ile Ile Ile Ala Val Val Ala Leu Leu Gly Gly Lys
865 870 875 880

Tyr Val Leu Trp Leu Leu Ile Thr Tyr Thr Ile Leu Ser Glu Gln Met
885 890 895

Ala Met Gly Ala Gly Val Asn Thr Glu Glu Ile Val Met Ile Gly Asn
900 905 910

Leu Leu Thr Asp Ser Asp Ile Glu Val Val Val Tyr Phe Leu Leu Leu
915 920 925

Tyr Leu Ile Val Lys Glu Glu Leu Ala Arg Lys Trp Ile Ile Leu Val
930 935 940

Tyr His Ile Leu Val Ala Asn Pro Met Lys Thr Ile Gly Val Val Leu
945 950 955 960

Leu Met Leu Gly Gly Val Val Lys Ala Ser Arg Ile Asn Ala Asp Asp
965 970 975

Gln Ser Ala Met Asp Pro Cys Phe Leu Leu Val Thr Gly Val Val Ala
980 985 990

Val Leu Met Ile Ala Arg Arg Glu Pro Ala Thr Leu Pro Leu Ile Val
995 1000 1005

Ala Leu Leu Ala Ile Arg Thr Ser Gly Phe Leu Leu Pro Ala Ser
1010 1015 1020

Ile Asp Val Thr Val Ala Val Val Leu Ile Val Leu Leu Leu Ala
1025 1030 1035

Ser Tyr Ile Thr Asp Tyr Phe Arg Tyr Lys Lys Trp Leu Gln Leu
1040 1045 1050

Leu Phe Ser Leu Ile Ala Gly Ile Phe Ile Ile Arg Ser Leu Lys
1055 1060 1065

His Ile Asn Gln Met Glu Val Pro Glu Ile Ser Met Pro Ser Trp
1070 1075 1080

Arg Pro Leu Ala Leu Val Leu Phe Tyr Ile Thr Ser Thr Ala Ile
1085 1090 1095

Thr Thr Asn Trp Asp Ile Asp Leu Ala Gly Phe Leu Leu Gln Trp
1100 1105 1110

Ala Pro Ala Val Ile Met Met Ala Thr Met Trp Ala Asp Phe Leu
1115 1120 1125

Thr Leu Ile Ile Val Leu Pro Ser Tyr Glu Leu Ser Lys Leu Tyr
1130 1135 1140

Phe Leu Lys Asn Val Arg Thr Asp Val Glu Lys Asn Trp Leu Gly
1145 1150 1155

Lys Val Lys Tyr Arg Gln Ile Ser Ser Val Tyr Asp Ile Cys Asp
1160 1165 1170

Ser Glu Glu Ala Val Tyr Leu Phe Pro Ser Arg His Lys Ser Gly
1175 1180 1185

Ser Arg Pro Asp Phe Ile Leu Pro Phe Leu Lys Ala Val Leu Ile

1190

1195

1200

Ser Cys Ile Ser Ser Gln Trp Gln Val Val Tyr Ile Ser Tyr Leu
1205 1210 1215

Ile Leu Glu Ile Thr Tyr Tyr Met His Arg Lys Ile Ile Asp Glu
1220 1225 1230

Val Ser Gly Gly Ala Asn Phe Leu Ser Arg Leu Ile Ala Ala Ile
1235 1240 1245

Ile Glu Leu Asn Trp Ala Ile Asp Asp Glu Glu Cys Lys Gly Leu
1250 1255 1260

Lys Lys Leu Tyr Leu Leu Ser Gly Arg Ala Lys Asn Leu Ile Val
1265 1270 1275

Lys His Lys Val Arg Asn Glu Ala Val His Arg Trp Phe Gly Glu
1280 1285 1290

Glu Glu Ile Tyr Gly Ala Pro Lys Val Ile Thr Ile Ile Lys Ala
1295 1300 1305

Ser Thr Leu Ser Lys Asn Arg His Cys Ile Ile Cys Thr Ile Cys
1310 1315 1320

Glu Gly Lys Glu Trp Asn Gly Ala Asn Cys Pro Lys Cys Gly Arg
1325 1330 1335

Gln Gly Lys Pro Ile Thr Cys Gly Met Thr Leu Ala Asp Phe Glu
1340 1345 1350

Glu Lys His Tyr Lys Lys Ile Phe Ile Arg Glu Glu Ser Ser Cys
1355 1360 1365

Pro Val Pro Phe Asp Pro Ser Cys His Cys Asn Tyr Phe Arg His
1370 1375 1380

Asp Gly Pro Phe Arg Lys Glu Tyr Lys Gly Tyr Val Gln Tyr Thr
1385 1390 1395

Ala Arg Gly Gln Leu Phe Leu Arg Asn Leu Pro Ile Leu Ala Thr
1400 1405 1410

Lys Met Lys Leu Leu Met Val Gly Asn Leu Gly Ala Glu Ile Gly
1415 1420 1425

Asp Leu Glu His Leu Gly Trp Val Leu Arg Gly Pro Ala Val Cys
1430 1435 1440

Lys Lys Ile Thr Asn His Glu Lys Cys His Val Asn Ile Met Asp
1445 1450 1455

Lys Leu Thr Ala Phe Phe Gly Ile Met Pro Arg Gly Thr Thr Pro
1460 1465 1470

Arg Ala Pro Val Arg Phe Pro Thr Ala Leu Leu Lys Val Arg Arg
1475 1480 1485

Gly Leu Glu Thr Gly Trp Ala Tyr Thr His Gln Gly Gly Ile Ser
1490 1495 1500

Ser Val Asp His Val Thr Ala Gly Lys Asp Leu Leu Val Cys Asp
1505 1510 1515

Ser Met Gly Arg Thr Arg Val Val Cys His Ser Asn Asn Lys Met
1520 1525 1530

Thr Asp Glu Thr Glu Tyr Gly Ile Lys Thr Asp Ser Gly Cys Pro
1535 1540 1545

Glu Gly Ala Arg Cys Tyr Val Leu Asn Pro Glu Ala Val Asn Ile
1550 1555 1560

Ser Gly Thr Lys Gly Ala Met Val His Leu Gln Lys Thr Gly Gly
1565 1570 1575

Glu Phe Thr Cys Val Thr Ala Ser Gly Thr Pro Ala Phe Phe Asp
1580 1585 1590

Leu Lys Asn Leu Lys Gly Trp Ser Gly Leu Pro Ile Phe Glu Ala
1595 1600 1605

Ser Ser Gly Arg Val Val Gly Arg Val Lys Val Gly Lys Asn Glu
1610 1615 1620

Asp Ser Lys Pro Thr Lys Leu Met Ser Gly Ile Gln Thr Val Ser
1625 1630 1635

Lys Asn Gln Thr Asp Leu Ala Asp Ile Val Lys Lys Leu Thr Ser
1640 1645 1650

Met Asn Arg Gly Glu Phe Lys Gln Ile Thr Leu Ala Thr Gly Ala
1655 1660 1665

Gly Lys Thr Thr Glu Leu Pro Arg Ser Val Ile Glu Glu Ile Gly
1670 1675 1680

Arg His Lys Arg Val Leu Val Leu Ile Pro Leu Arg Ala Ala Ala
1685 1690 1695

Glu Ser Val Tyr Gln Tyr Met Arg Val Lys Tyr Pro Ser Ile Ser
1700 1705 1710

Phe Asn Leu Arg Ile Gly Asp Met Lys Glu Gly Asp Met Ala Thr

1715

1720

1725

Gly Ile Thr Tyr Ala Ser Tyr Gly Tyr Phe Cys Gln Leu Pro Gln
1730 1735 1740

Pro Lys Leu Arg Ala Ala Met Val Glu Tyr Ser Tyr Ile Phe Leu
1745 1750 1755

Asp Glu Tyr His Cys Ala Thr Pro Glu Gln Leu Ala Ile Ile Gly
1760 1765 1770

Lys Ile His Arg Phe Ala Glu Asn Leu Arg Val Val Ala Met Thr
1775 1780 1785

Ala Thr Pro Ala Gly Thr Val Thr Thr Thr Gly Gln Lys His Pro
1790 1795 1800

Ile Glu Glu Phe Ile Ala Pro Glu Val Met Lys Gly Glu Asp Leu
1805 1810 1815

Gly Ser Glu Tyr Leu Asp Ile Ala Gly Leu Lys Ile Pro Thr Glu
1820 1825 1830

Glu Met Lys Gly Asn Met Leu Val Phe Ala Pro Thr Arg Asn Met
1835 1840 1845

Ala Val Glu Thr Ala Lys Lys Leu Lys Ala Lys Gly Tyr Asn Ser
1850 1855 1860

Gly Tyr Tyr Tyr Ser Gly Glu Asn Pro Glu Asn Leu Arg Val Val
1865 1870 1875

Thr Ser Gln Ser Pro Tyr Val Val Val Ala Thr Asn Ala Ile Glu
1880 1885 1890

Ser Gly Val Thr Leu Pro Asp Leu Asp Thr Val Val Asp Thr Gly
1895 1900 1905

Leu Lys Cys Glu Lys Arg Val Arg Ile Ser Ser Lys Met Pro Phe
1910 1915 1920

Ile Val Thr Gly Leu Lys Arg Met Ala Val Thr Ile Gly Glu Gln
1925 1930 1935

Ala Gln Arg Arg Gly Arg Val Gly Arg Val Lys Pro Gly Arg Tyr
1940 1945 1950

Tyr Arg Ser Gln Glu Thr Ala Ser Gly Ser Lys Asp Tyr His Tyr
1955 1960 1965

Asp Leu Leu Gln Ala Gln Arg Tyr Gly Ile Glu Asp Gly Ile Asn
1970 1975 1980

Val Thr Lys Ser Phe Arg Glu Met Asn Tyr Asp Trp Ser Leu Tyr
1985 1990 1995

Glu Glu Asp Ser Leu Met Ile Thr Gln Leu Glu Val Leu Asn Asn
2000 2005 2010

Leu Leu Ile Ser Glu Asp Leu Pro Ala Ala Val Lys Asn Ile Met
2015 2020 2025

Ala Arg Thr Asp His Pro Glu Pro Ile Gln Leu Ala Tyr Asn Ser
2030 2035 2040

Tyr Glu Asn Gln Ile Pro Val Leu Phe Pro Lys Ile Lys Asn Gly
2045 2050 2055

Glu Val Thr Asp Ser Tyr Glu Asn Tyr Thr Tyr Leu Asn Ala Arg
2060 2065 2070

Lys Leu Gly Glu Asp Val Pro Ala Tyr Val Tyr Ala Thr Glu Asp
2075 2080 2085

Glu Asp Leu Ala Val Asp Leu Leu Gly Met Asp Trp Pro Asp Pro
2090 2095 2100

Gly Asn Gln Gln Val Val Glu Thr Gly Arg Ala Leu Lys Gln Val
2105 2110 2115

Thr Gly Leu Ser Thr Ala Glu Asn Ala Leu Leu Ile Ala Leu Phe
2120 2125 2130

Gly Tyr Val Gly Tyr Gln Thr Leu Ser Lys Arg His Ile Pro Met
2135 2140 2145

Ile Thr Asp Ile Tyr Thr Leu Glu Asp His Arg Leu Glu Asp Thr
2150 2155 2160

Thr His Leu Gln Phe Ala Pro Asn Ala Ile Arg Thr Asp Gly Lys
2165 2170 2175

Asp Ser Glu Leu Lys Glu Leu Ala Val Gly Asp Leu Asp Lys Tyr
2180 2185 2190

Val Asp Ala Leu Val Asp Tyr Ser Lys Gln Gly Met Lys Phe Ile
2195 2200 2205

Lys Val Gln Ala Glu Lys Val Arg Asp Ser Gln Ser Thr Lys Glu
2210 2215 2220

Gly Leu Gln Thr Ile Lys Glu Tyr Val Asp Lys Phe Ile Gln Ser
2225 2230 2235

Leu Thr Glu Asn Lys Glu Glu Ile Ile Arg Tyr Gly Leu Trp Gly

2240

2245

2250

Val His Thr Ala Leu Tyr Lys Ser Leu Ala Ala Arg Leu Gly His
2255 2260 2265

Glu Thr Ala Phe Ala Thr Leu Val Val Lys Trp Leu Ala Phe Gly
2270 2275 2280

Gly Glu Thr Val Ser Ala His Ile Lys Gln Val Ala Val Asp Leu
2285 2290 2295

Val Val Tyr Tyr Ile Ile Asn Lys Pro Ser Phe Pro Gly Asp Thr
2300 2305 2310

Glu Thr Gln Gln Glu Gly Arg Arg Phe Val Ala Ser Leu Phe Ile
2315 2320 2325

Ser Ala Leu Ala Thr Tyr Thr Tyr Lys Thr Trp Asn Tyr Asn Asn
2330 2335 2340

Leu Gln Arg Val Val Glu Pro Ala Leu Ala Tyr Leu Pro Tyr Ala
2345 2350 2355

Thr Ser Ala Leu Lys Leu Phe Thr Pro Thr Arg Leu Glu Ser Val
2360 2365 2370

Val Ile Leu Ser Ser Thr Ile Tyr Lys Thr Tyr Leu Ser Ile Arg
2375 2380 2385

Lys Gly Lys Ser Asp Gly Leu Leu Gly Thr Gly Ile Ser Ala Ala
2390 2395 2400

Met Glu Ile Leu Asn Gln Asn Pro Ile Ser Val Gly Ile Ser Val
2405 2410 2415

Met Leu Gly Val Gly Ala Ile Ala Ala His Asn Ala Ile Glu Ser
2420 2425 2430

Ser Glu Gln Lys Arg Thr Leu Leu Met Lys Val Phe Val Lys Asn
2435 2440 2445

Phe Leu Asp Gln Ala Ala Thr Asp Glu Leu Val Lys Glu Asn Pro
2450 2455 2460

Glu Lys Ile Ile Met Ala Leu Phe Glu Ala Val Gln Thr Ile Gly
2465 2470 2475

Asn Pro Leu Arg Leu Ile Tyr His Leu Tyr Gly Val Tyr Tyr Lys
2480 2485 2490

Gly Trp Glu Ala Lys Glu Leu Ala Glu Lys Thr Ala Gly Arg Asn
2495 2500 2505

Leu Phe Thr Leu Ile Met Phe Glu Ala Phe Glu Leu Leu Gly Met
2510 2515 2520

Asp Ser Glu Gly Lys Ile Arg Asn Leu Ser Gly Asn Tyr Ile Leu
2525 2530 2535

Asp Leu Ile Phe Asn Leu His Asn Lys Leu Asn Lys Gly Leu Lys
2540 2545 2550

Lys Leu Val Leu Gly Trp Ala Pro Ala Pro Leu Ser Cys Asp Trp
2555 2560 2565

Thr Pro Ser Asp Glu Arg Ile Ser Leu Pro His Asn Asn Tyr Leu
2570 2575 2580

Arg Val Glu Thr Arg Cys Pro Cys Gly Tyr Glu Met Lys Ala Ile
2585 2590 2595

Lys Asn Val Ala Gly Lys Leu Thr Lys Val Glu Glu Lys Gly Ser
2600 2605 2610

Phe Leu Cys Arg Asn Arg Leu Gly Arg Gly Pro Pro Asn Phe Lys
2615 2620 2625

Val Thr Lys Phe Tyr Asp Asp Asn Leu Ile Glu Val Lys Pro Val
2630 2635 2640

Ala Arg Leu Glu Gly Gln Val Asp Leu Tyr Tyr Lys Gly Val Thr
2645 2650 2655

Ala Lys Leu Asp Tyr Asn Asn Gly Lys Val Leu Leu Ala Thr Asn
2660 2665 2670

Lys Trp Glu Val Asp His Ala Phe Leu Thr Arg Leu Val Lys Lys
2675 2680 2685

His Thr Gly Ile Gly Phe Lys Gly Ala Tyr Leu Gly Asp Arg Pro
2690 2695 2700

Asp His Gln Asp Leu Val Asp Arg Asp Cys Ala Thr Ile Thr Lys
2705 2710 2715

Asn Ser Val Gln Phe Leu Lys Met Lys Lys Gly Cys Ala Phe Thr
2720 2725 2730

Tyr Asp Leu Thr Ile Ser Asn Leu Val Arg Leu Ile Glu Leu Val
2735 2740 2745

His Lys Asn Asn Leu Gln Glu Arg Glu Ile Pro Thr Val Thr Val
2750 2755 2760

Thr Thr Trp Leu Ala Tyr Ser Phe Val Asn Glu Asp Leu Gly Thr

2765

2770

2775

Ile Lys Pro Val Leu Gly Glu Lys Val Ile Pro Glu Pro Pro Glu
2780 2785 2790

Glu Leu Ser Leu Gln Pro Thr Val Arg Leu Val Thr Thr Glu Thr
2795 2800 2805

Ala Ile Thr Ile Thr Gly Glu Ala Glu Val Met Thr Thr Gly Ile
2810 2815 2820

Thr Pro Val Val Glu Met Lys Glu Glu Pro Gln Leu Asp His Gln
2825 2830 2835

Ser Thr Thr Leu Lys Val Gly Leu Lys Glu Gly Glu Tyr Pro Gly
2840 2845 2850

Pro Gly Val Asn Pro Asn His Leu Ala Glu Val Ile Asp Glu Lys
2855 2860 2865

Asp Asp Arg Pro Phe Val Leu Ile Ile Gly Asn Lys Gly Ser Thr
2870 2875 2880

Ser Asn Arg Ala Arg Thr Ala Lys Asn Ile Arg Leu Tyr Lys Gly
2885 2890 2895

Asn Asn Pro Arg Glu Ile Arg Asp Leu Met Ser Gln Gly Arg Ile
2900 2905 2910

Leu Thr Val Ala Leu Lys Glu Leu Asp Pro Glu Leu Lys Glu Leu
2915 2920 2925

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

Leu Ser Leu Gly Lys Pro Ile Lys Arg Lys Thr Thr Thr Ala Met
2945 2950 2955

Ile Arg Arg Leu Ile Glu Pro Glu Val Glu Glu Glu Leu Pro Asp
2960 2965 2970

Trp Phe Gln Ala Glu Glu Pro Leu Phe Leu Glu Ala Lys Ile Gln
2975 2980 2985

Asn Asp Leu Tyr His Leu Ile Gly Ser Val Asp Ser Ile Lys Ser
2990 2995 3000

Lys Ala Lys Glu Leu Gly Ala Thr Asp Asn Thr Lys Ile Val Lys
3005 3010 3015

Glu Val Gly Ala Arg Thr Tyr Thr Met Lys Leu Ser Ser Trp Ser
3020 3025 3030

Thr Gln Val Thr Lys Lys Gln Met Ser Leu Ala Pro Leu Phe Glu
3035 3040 3045

Glu Leu Leu Leu Lys Cys Pro Pro Cys Ser Lys Ile Ser Lys Gly
3050 3055 3060

His Met Val Ser Ala Tyr Gln Leu Ala Gln Gly Asn Trp Glu Pro
3065 3070 3075

Leu Gly Cys Gly Val Tyr Met Gly Thr Ile Pro Ala Arg Arg Leu
3080 3085 3090

Lys Ile His Pro Tyr Glu Ala Tyr Leu Lys Leu Lys Glu Leu Val
3095 3100 3105

Glu Val Glu Ser Ser Arg Ala Thr Ala Lys Glu Ser Ile Ile Arg
3110 3115 3120

Glu His Asn Thr Trp Ile Leu Arg Lys Val Arg His Glu Gly Asn
3125 3130 3135

Leu Arg Thr Lys Ser Met Ile Asn Pro Gly Lys Ile Ser Asp Gln
3140 3145 3150

Leu Cys Arg Asp Gly His Lys Arg Asn Ile Tyr Asn Lys Ile Ile
3155 3160 3165

Gly Ser Thr Met Ala Ser Ala Gly Ile Arg Leu Glu Lys Leu Pro
3170 3175 3180

Val Val Arg Ala Gln Thr Asp Thr Thr Ser Phe His Gln Ala Ile
3185 3190 3195

Arg Glu Lys Ile Asp Lys Thr Glu Asn Lys Gln Thr Pro Glu Leu
3200 3205 3210

His Glu Glu Leu Met Lys Val Phe Asp Cys Leu Lys Ile Pro Glu
3215 3220 3225

Leu Lys Glu Ser Tyr Asp Glu Val Ser Trp Glu Gln Leu Glu Ala
3230 3235 3240

Gly Ile Asn Arg Lys Gly Ala Ala Gly Tyr Leu Glu Ser Lys Asn
3245 3250 3255

Ile Gly Glu Val Leu Asp Thr Glu Lys His Ile Val Glu Gln Leu
3260 3265 3270

Ile Lys Asp Leu Arg Lys Gly Lys Lys Ile Arg Tyr Tyr Glu Thr
3275 3280 3285

Ala Ile Pro Lys Asn Glu Lys Arg Asp Val Ser Asp Asp Trp Glu

3290

3295

3300

Ala Gly Glu Phe Val Asp Glu Lys Lys Pro Arg Val Ile Gln Tyr
3305 3310 3315

Pro Asp Ala Lys Val Arg Leu Ala Ile Thr Lys Val Met Tyr Lys
3320 3325 3330

Trp Val Lys Gln Lys Pro Val Val Ile Pro Gly Tyr Glu Gly Lys
3335 3340 3345

Thr Pro Leu Phe Asp Ile Phe Asn Lys Val Lys Lys Glu Trp Asp
3350 3355 3360

Ser Phe Gln Asp Pro Val Ala Val Ser Phe Asp Thr Lys Ala Trp
3365 3370 3375

Asp Thr Gln Val Thr Ser Arg Asp Leu Met Leu Ile Lys Asp Ile
3380 3385 3390

Gln Lys Tyr Tyr Phe Lys Arg Ser Ile His Lys Phe Leu Asp Thr
3395 3400 3405

Ile Thr Glu His Met Val Glu Val Pro Val Ile Thr Ala Asp Gly
3410 3415 3420

Glu Val Tyr Ile Arg Asn Gly Gln Arg Gly Ser Gly Gln Pro Asp
3425 3430 3435

Thr Ser Ala Gly Asn Ser Met Leu Asn Val Leu Thr Met Ile Tyr
3440 3445 3450

Ala Phe Cys Lys Ser Thr Gly Ile Pro Tyr Arg Gly Phe Ser Arg
3455 3460 3465

Val Ala Arg Ile His Val Cys Gly Asp Asp Gly Phe Leu Ile Thr
3470 3475 3480

Glu Arg Gly Leu Gly Leu Lys Phe Ser Glu Lys Gly Met Gln Ile
3485 3490 3495

Leu His Glu Ala Gly Lys Pro Gln Lys Ile Thr Glu Gly Asp Lys
3500 3505 3510

Met Lys Val Ala Tyr Arg Phe Glu Asp Ile Glu Phe Cys Ser His
3515 3520 3525

Thr Pro Val Pro Val Arg Trp Ala Asp Asn Thr Ser Ser Tyr Met
3530 3535 3540

Ala Gly Arg Ser Thr Ala Thr Ile Leu Ala Lys Met Ala Thr Arg
3545 3550 3555

Leu Asp Ser Ser Gly Glu Arg Gly Ser Thr Ala Tyr Glu Lys Ala
3560 3565 3570

Val Ala Phe Ser Phe Leu Leu Met Tyr Ser Trp Asn Pro Val Val
3575 3580 3585

Arg Arg Ile Cys Leu Leu Val Leu Ser Gln Phe Pro Glu Ile Ser
3590 3595 3600

Pro Ser Lys Asn Thr Ile Tyr Tyr Tyr Gln Gly Asp Pro Ile Ala
3605 3610 3615

Ala Tyr Arg Glu Val Ile Gly Lys Gln Leu Cys Glu Leu Lys Arg
3620 3625 3630

Thr Gly Phe Glu Lys Leu Ala Gly Leu Asn Leu Ser Met Thr Thr
3635 3640 3645

Leu Gly Ile Trp Thr Lys His Thr Ser Lys Arg Leu Ile Gln Ala
3650 3655 3660

Cys Val Glu Ile Gly Lys Arg Glu Gly Thr Trp Leu Val Asn Ala
3665 3670 3675

Asp Arg Leu Ile Ala Gly Lys Thr Gly Lys Phe Tyr Ile Pro Ser
3680 3685 3690

Thr Gly Val Thr Leu Leu Gly Lys His Tyr Glu Glu Ile Asn Leu
3695 3700 3705

Lys Gln Lys Ala Ala Gln Pro Pro Ile Glu Gly Val Asp Arg Tyr
3710 3715 3720

Lys Leu Gly Pro Ile Val Asn Val Ile Leu Arg Arg Leu Arg Val
3725 3730 3735

Met Leu Met Thr Val Ala Ser Gly Ser Trp
3740 3745

<210> 9 <211> 3913 <212> PRT <213> Artificial sequence: XIKE-C BVDV-Sequence <400> 9

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

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

Phe Gly Glu Ser Ser Asp Leu His Pro Gln Ser Thr Leu Lys Leu Pro
35 40 45

His Gln Arg Gly Ser Ala Asn Ile Leu Thr Asn Ala Arg Ser Leu Pro
50 55 60

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

Ile Tyr Ile Lys Pro Gly Pro Ile Tyr Tyr Gln Asp Tyr Val Gly Pro
85 90 95

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

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

Tyr His Ile Tyr Ile Cys Ile Asp Gly Cys Ile Leu Leu Lys Arg Ala
130 135 140

Thr Arg Asn Gln Pro Glu Val Leu Lys Trp Val Tyr Asn Arg Leu Asn
145 150 155 160

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

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

Lys Ile Ala Pro Lys Glu Thr Glu Lys Asp Cys Lys Thr Arg Pro Pro
195 200 205

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

Gly Lys Val Arg Gly 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 Ala Val Leu Leu Gln Leu Val Thr Gly Glu Asn
260 265 270

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

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

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

Leu Lys Glu Ile Val 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 Phe His Ile Glu Pro Trp Ile Trp Leu Met Asn Lys Thr Gln
355 360 365

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

Arg Tyr Asp Lys Glu Thr Glu Leu Asn Ile Val Thr Gln Ala Arg Asp
385 390 395 400

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

Ala Gly Val Ile Leu Asp Gly Pro Cys Asn Phe Lys Val Ser Val Glu
420 425 430

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

Ala Ile Gln Leu Leu Asp Gly Ala Thr Asn Thr Ile Glu Gly Ala Arg
450 455 460

Val 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 Ala Trp Phe Gly Ala His
485 490 495

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

Tyr Thr Lys Asn Cys Thr Pro Ala Cys Leu Pro Arg Asn Thr Arg 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 Phe Val Leu Leu Ser Leu Val
545 550 555 560

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

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

Lys Asn Gln Leu Asn Leu Thr Val Ala Thr Thr Val Ala Glu Val Ile
595 600 605

Pro Gly Thr Val Trp Asn Leu Gly Lys Tyr Val Cys Ile Arg Pro Asp
610 615 620

Trp Trp Pro Tyr Glu Thr Thr Thr Val Phe Val Ile Glu Glu Ala Gly
625 630 635 640

Gln Val Ile Lys Leu Met Leu Arg Ala Ile Arg Asp Leu Thr Arg Ile
645 650 655

Trp Asn Ala Ala Thr Thr Thr Ala Phe Leu Ile Phe Leu Val Lys Ala
660 665 670

Leu Arg Gly Gln Leu Ile Gln Gly Leu Leu Trp Leu Met Leu Ile Thr
675 680 685

Gly Ala Gln Gly Phe Pro Glu Cys Lys Glu Gly Phe Gln Tyr Ala Ile
690 695 700

Ser Lys Asp Arg Lys Met Gly Leu Leu Gly Pro Glu Ser Leu Thr Thr
705 710 715 720

Thr Trp His Leu Pro Thr Lys Lys Ile Val Asp Ser Met Val His Val
725 730 735

Trp Cys Glu Gly Lys Asp Leu Lys Ile Leu Lys Met Cys Thr Lys Glu
740 745 750

Glu Arg Tyr Leu Val Ala Val His Glu Arg Ala Leu Ser Thr Ser Ala
755 760 765

Glu Phe Met Gln Ile Ser Asp Gly Thr Ile Gly Pro Asp Val Ile Asp
770 775 780

Met Pro Asp Asp Phe Glu Phe Gly Leu Cys Pro Cys Asp Ser Lys Pro
785 790 795 800

Val Ile Lys Gly Lys Phe Asn Ala Ser Leu Leu Asn Gly Pro Ala Phe
805 810 815

Gln Met Val Cys Pro Gln Gly Trp Thr Gly Thr Ile Glu Cys Thr Leu
820 825 830

Ala Asn Gln Asp Thr Leu Asp Thr Thr Val Ile Arg Thr Tyr Arg Arg

835

840

845

Thr Thr Pro Phe Gln Arg Arg Lys Trp Cys Thr Tyr Glu Lys Ile Ile
850 855 860

Gly Glu Asp Ile Tyr Glu Cys Ile Leu Gly Gly Asn Trp Thr Cys Ile
865 870 875 880

Thr Gly Asp His Ser Arg Leu Lys Asp Gly Pro Ile Lys Lys Cys Lys
885 890 895

Trp Cys Gly His Asp Phe Val Asn Ser Glu Gly Leu Pro His Tyr Pro
900 905 910

Ile Gly Lys Cys Met Leu Ile Asn Glu Ser Gly Tyr Arg Tyr Val Asp
915 920 925

Asp Thr Ser Cys Asp Arg Gly Gly Val Ala Ile Val Pro Ser Gly Thr
930 935 940

Val Lys Cys Arg Ile Gly Asn Val Thr Val Gln Val Ile Ala Thr Asn
945 950 955 960

Asn Asp Leu Gly Pro Met Pro Cys Ser Pro Ala Glu Val Ile Ala Ser
965 970 975

Glu Gly Pro Val Glu Lys Thr Ala Cys Thr Phe Asn Tyr Ser Arg Thr
980 985 990

Leu Pro Asn Lys Tyr Tyr Glu Pro Arg Asp Arg Tyr Phe Gln Gln Tyr
995 1000 1005

Met Leu Lys Gly Glu Trp Gln Tyr Trp Phe Asp Leu Asp Ser Val
1010 1015 1020

Asp His His Lys Asp Tyr Phe Ser Glu Phe Ile Ile Ile Ala Val

1025

1030

1035

Val Ala Leu Leu Gly Gly Lys Tyr Val Leu Trp Leu Leu Ile Thr
1040 1045 1050

Tyr Thr Ile Leu Ser Glu Gln Met Ala Met Gly Ala Gly Val Asn
1055 1060 1065

Thr Glu Glu Ile Val Met Ile Gly Asn Leu Leu Thr Asp Ser Asp
1070 1075 1080

Ile Glu Val Val Val Tyr Phe Leu Leu Leu Tyr Leu Ile Val Lys
1085 1090 1095

Glu Glu Leu Ala Arg Lys Trp Ile Ile Leu Val Tyr His Ile Leu
1100 1105 1110

Val Ala Asn Pro Met Lys Thr Ile Gly Val Val Leu Leu Met Leu
1115 1120 1125

Gly Gly Val Val Lys Ala Ser Arg Ile Asn Ala Asp Asp Gln Ser
1130 1135 1140

Ala Met Asp Pro Cys Phe Leu Leu Val Thr Gly Val Val Ala Val
1145 1150 1155

Leu Met Ile Ala Arg Arg Glu Pro Ala Thr Leu Pro Leu Ile Val
1160 1165 1170

Ala Leu Leu Ala Ile Arg Thr Ser Gly Phe Leu Leu Pro Ala Ser
1175 1180 1185

Ile Asp Val Thr Val Ala Val Val Leu Ile Val Leu Leu Leu Ala
1190 1195 1200

Ser Tyr Ile Thr Asp Tyr Phe Arg Tyr Lys Lys Trp Leu Gln Leu
1205 1210 1215

Leu Phe Ser Leu Ile Ala Gly Ile Phe Ile Ile Arg Ser Leu Lys
1220 1225 1230

His Ile Asn Gln Met Glu Val Pro Glu Ile Ser Met Pro Ser Trp
1235 1240 1245

Arg Pro Leu Ala Leu Val Leu Phe Tyr Ile Thr Ser Thr Ala Ile
1250 1255 1260

Thr Thr Asn Trp Asp Ile Asp Leu Ala Gly Phe Leu Leu Gln Trp
1265 1270 1275

Ala Pro Ala Val Ile Met Met Ala Thr Met Trp Ala Asp Phe Leu
1280 1285 1290

Thr Leu Ile Ile Val Leu Pro Ser Tyr Glu Leu Ser Lys Leu Tyr
1295 1300 1305

Phe Leu Lys Asn Val Arg Thr Asp Val Glu Lys Asn Trp Leu Gly
1310 1315 1320

Lys Val Lys Tyr Arg Gln Ile Ser Ser Val Tyr Asp Ile Cys Asp
1325 1330 1335

Ser Glu Glu Ala Val Tyr Leu Phe Pro Ser Arg His Lys Ser Gly
1340 1345 1350

Ser Arg Pro Asp Phe Ile Leu Pro Phe Leu Lys Ala Val Leu Ile
1355 1360 1365

Ser Cys Ile Ser Ser Gln Trp Gln Val Val Tyr Ile Ser Tyr Leu
1370 1375 1380

Ile Leu Glu Ile Thr Tyr Tyr Met His Arg Lys Ile Ile Asp Glu
1385 1390 1395

Val Ser Gly Gly Ala Asn Phe Leu Ser Arg Leu Ile Ala Ala Ile
1400 1405 1410

Ile Glu Leu Asn Trp Ala Ile Asp Asp Glu Glu Cys Lys Gly Leu
1415 1420 1425

Lys Lys Leu Tyr Leu Leu Ser Gly Arg Ala Lys Asn Leu Ile Val
1430 1435 1440

Lys His Lys Val Arg Asn Glu Ala Val His Arg Trp Phe Gly Glu
1445 1450 1455

Glu Glu Ile Tyr Gly Ala Pro Lys Val Ile Thr Ile Ile Lys Ala
1460 1465 1470

Ser Thr Leu Ser Lys Asn Arg His Cys Ile Ile Cys Thr Ile Cys
1475 1480 1485

Glu Gly Lys Glu Trp Asn Gly Ala Asn Cys Pro Lys Cys Gly Arg
1490 1495 1500

Gln Gly Lys Pro Ile Thr Cys Gly Met Thr Leu Ala Asp Phe Glu
1505 1510 1515

Glu Lys His Tyr Lys Lys Ile Phe Ile Arg Glu Glu Ser Ser Cys
1520 1525 1530

Pro Val Pro Phe Asp Pro Ser Cys His Cys Asn Tyr Phe Arg His
1535 1540 1545

Asp Gly Pro Phe Arg Lys Glu Tyr Lys Gly Tyr Val Gln Tyr Thr

1550 1555 1560

Ala Arg Gly Gln Leu Phe Leu Arg Asn Leu Pro Ile Leu Ala Thr
1565 1570 1575

Lys Met Lys Leu Leu Met Val Gly Asn Leu Gly Ala Glu Ile Gly
1580 1585 1590

Asp Leu Glu His Leu Gly Trp Val Leu Arg Gly Pro Ala Val Cys
1595 1600 1605

Lys Lys Ile Thr Asn His Glu Lys Cys His Val Asn Ile Met Asp
1610 1615 1620

Lys Leu Thr Ala Phe Phe Gly Ile Met Pro Arg Gly Thr Thr Pro
1625 1630 1635

Arg Ala Pro Val Arg Phe Pro Thr Ala Leu Leu Lys Val Arg Arg
1640 1645 1650

Gly Leu Glu Thr Gly Trp Ala Tyr Thr His Gln Gly Gly Ile Ser
1655 1660 1665

Ser Val Asp His Val Thr Ala Gly Lys Asp Leu Leu Val Cys Asp
1670 1675 1680

Ser Met Gly Arg Thr Arg Val Val Cys His Ser Asn Asn Lys Met
1685 1690 1695

Thr Asp Glu Thr Glu Tyr Gly Ile Lys Thr Asp Ser Gly Cys Pro
1700 1705 1710

Glu Gly Ala Arg Cys Tyr Val Leu Asn Pro Glu Ala Val Asn Ile
1715 1720 1725

Ser Gly Thr Lys Gly Ala Met Val His Leu Gln Lys Thr Gly Gly
1730 1735 1740

Glu Phe Thr Cys Val Thr Ala Ser Gly Thr Pro Ala Phe Phe Asp
1745 1750 1755

Leu Lys Asn Leu Lys Gly Trp Ser Gly Leu Pro Ile Phe Glu Ala
1760 1765 1770

Ser Ser Gly Arg Val Val Gly Arg Val Lys Val Gly Lys Asn Glu
1775 1780 1785

Asp Ser Lys Pro Thr Lys Leu Met Ser Gly Ile Gln Thr Val Ser
1790 1795 1800

Lys Asn Gln Thr Asp Leu Ala Asp Ile Val Lys Lys Leu Thr Ser
1805 1810 1815

Met Asn Arg Gly Glu Phe Lys Gln Ile Thr Leu Ala Thr Gly Ala
1820 1825 1830

Gly Lys Thr Thr Glu Leu Pro Arg Ser Val Ile Glu Glu Ile Gly
1835 1840 1845

Arg His Lys Arg Val Leu Val Leu Ile Pro Leu Arg Ala Ala Ala
1850 1855 1860

Glu Ser Val Tyr Gln Tyr Met Arg Val Lys Tyr Pro Ser Ile Ser
1865 1870 1875

Phe Asn Leu Arg Ile Gly Asp Met Lys Glu Gly Asp Met Ala Thr
1880 1885 1890

Gly Ile Thr Tyr Ala Ser Tyr Gly Tyr Phe Cys Gln Leu Pro Gln
1895 1900 1905

Pro Lys Leu Arg Ala Ala Met Val Glu Tyr Ser Tyr Ile Phe Leu
1910 1915 1920

Asp Glu Tyr His Cys Ala Thr Pro Glu Gln Leu Ala Ile Ile Gly
1925 1930 1935

Lys Ile His Arg Phe Ala Glu Asn Leu Arg Val Val Ala Met Thr
1940 1945 1950

Ala Thr Pro Ala Gly Thr Val Thr Thr Thr Gly Gln Lys His Pro
1955 1960 1965

Ile Glu Glu Phe Ile Ala Pro Glu Val Met Lys Gly Glu Asp Leu
1970 1975 1980

Gly Ser Glu Tyr Leu Asp Ile Ala Gly Leu Lys Ile Pro Thr Glu
1985 1990 1995

Glu Met Lys Gly Asn Met Leu Val Phe Ala Pro Thr Arg Asn Met
2000 2005 2010

Ala Val Glu Thr Ala Lys Lys Leu Lys Ala Lys Gly Tyr Asn Ser
2015 2020 2025

Gly Tyr Tyr Tyr Ser Gly Glu Asn Pro Glu Asn Leu Arg Val Val
2030 2035 2040

Thr Ser Gln Ser Pro Tyr Val Val Val Ala Thr Asn Ala Ile Glu
2045 2050 2055

Ser Gly Val Thr Leu Pro Asp Leu Asp Thr Val Val Asp Thr Gly
2060 2065 2070

Leu Lys Cys Glu Lys Arg Val Arg Ile Ser Ser Lys Met Pro Phe

2075

2080

2085

Ile Val Thr Gly Leu Lys Arg Met Ala Val Thr Ile Gly Glu Gln
2090 2095 2100

Ala Gln Arg Arg Gly Arg Val Gly Arg Val Lys Pro Gly Arg Tyr
2105 2110 2115

Tyr Arg Ser Gln Glu Thr Ala Ser Gly Ser Lys Asp Tyr His Tyr
2120 2125 2130

Asp Leu Leu Gln Ala Gln Arg Tyr Gly Ile Glu Asp Gly Ile Asn
2135 2140 2145

Val Thr Lys Ser Phe Arg Glu Met Asn Tyr Asp Trp Ser Leu Tyr
2150 2155 2160

Glu Glu Asp Ser Leu Met Ile Thr Gln Leu Glu Val Leu Asn Asn
2165 2170 2175

Leu Leu Ile Ser Glu Asp Leu Pro Ala Ala Val Lys Asn Ile Met
2180 2185 2190

Ala Arg Thr Asp His Pro Glu Pro Ile Gln Leu Ala Tyr Asn Ser
2195 2200 2205

Tyr Glu Asn Gln Ile Pro Val Leu Phe Pro Lys Ile Lys Asn Gly
2210 2215 2220

Glu Val Thr Asp Ser Tyr Glu Asn Tyr Thr Tyr Leu Asn Ala Arg
2225 2230 2235

Lys Leu Gly Glu Asp Val Pro Ala Tyr Val Tyr Ala Thr Glu Asp
2240 2245 2250

Glu Asp Leu Ala Val Asp Leu Leu Gly Met Asp Trp Pro Asp Pro
2255 2260 2265

Gly Asn Gln Gln Val Val Glu Thr Gly Arg Ala Leu Lys Gln Val
2270 2275 2280

Thr Gly Leu Ser Thr Ala Glu Asn Ala Leu Leu Ile Ala Leu Phe
2285 2290 2295

Gly Tyr Val Gly Tyr Gln Thr Leu Ser Lys Arg His Ile Pro Met
2300 2305 2310

Ile Thr Asp Ile Tyr Thr Leu Glu Asp His Arg Leu Glu Asp Thr
2315 2320 2325

Thr His Leu Gln Phe Ala Pro Asn Ala Ile Arg Thr Asp Gly Lys
2330 2335 2340

Asp Ser Glu Leu Lys Glu Leu Ala Val Gly Asp Leu Asp Lys Tyr
2345 2350 2355

Val Asp Ala Leu Val Asp Tyr Ser Lys Gln Gly Met Lys Phe Ile
2360 2365 2370

Lys Val Gln Ala Glu Lys Val Arg Asp Ser Gln Ser Thr Lys Glu
2375 2380 2385

Gly Leu Gln Thr Ile Lys Glu Tyr Val Asp Lys Phe Ile Gln Ser
2390 2395 2400

Leu Thr Glu Asn Lys Glu Glu Ile Ile Arg Tyr Gly Leu Trp Gly
2405 2410 2415

Val His Thr Ala Leu Tyr Lys Ser Leu Ala Ala Arg Leu Gly His
2420 2425 2430

Glu Thr Ala Phe Ala Thr Leu Val Val Lys Trp Leu Ala Phe Gly
2435 2440 2445

Gly Glu Thr Val Ser Ala His Ile Lys Gln Val Ala Val Asp Leu
2450 2455 2460

Val Val Tyr Tyr Ile Ile Asn Lys Pro Ser Phe Pro Gly Asp Thr
2465 2470 2475

Glu Thr Gln Gln Glu Gly Arg Arg Phe Val Ala Ser Leu Phe Ile
2480 2485 2490

Ser Ala Leu Ala Thr Tyr Thr Tyr Lys Thr Trp Asn Tyr Asn Asn
2495 2500 2505

Leu Gln Arg Val Val Glu Pro Ala Leu Ala Tyr Leu Pro Tyr Ala
2510 2515 2520

Thr Ser Ala Leu Lys Leu Phe Thr Pro Thr Arg Leu Glu Ser Val
2525 2530 2535

Val Ile Leu Ser Ser Thr Ile Tyr Lys Thr Tyr Leu Ser Ile Arg
2540 2545 2550

Lys Gly Lys Ser Asp Gly Leu Leu Gly Thr Gly Ile Ser Ala Ala
2555 2560 2565

Met Glu Ile Leu Asn Gln Asn Pro Ile Ser Val Gly Ile Ser Val
2570 2575 2580

Met Leu Gly Val Gly Ala Ile Ala Ala His Asn Ala Ile Glu Ser
2585 2590 2595

Ser Glu Gln Lys Arg Thr Leu Leu Met Lys Val Phe Val Lys Asn

2600	2605										2610									
Phe	Leu	Asp	Gln	Ala	Ala	Thr	Asp	Glu	Leu	Val	Lys	Glu	Asn	Pro						
2615						2620						2625								
Glu	Lys	Ile	Ile	Met	Ala	Leu	Phe	Glu	Ala	Val	Gln	Thr	Ile	Gly						
2630						2635						2640								
Asn	Pro	Leu	Arg	Leu	Ile	Tyr	His	Leu	Tyr	Gly	Val	Tyr	Tyr	Lys						
2645						2650						2655								
Gly	Trp	Glu	Ala	Lys	Glu	Leu	Ala	Glu	Lys	Thr	Ala	Gly	Arg	Asn						
2660						2665						2670								
Leu	Phe	Thr	Leu	Ile	Met	Phe	Glu	Ala	Phe	Glu	Leu	Leu	Gly	Met						
2675						2680						2685								
Asp	Ser	Glu	Gly	Lys	Ile	Arg	Asn	Leu	Ser	Gly	Asn	Tyr	Ile	Leu						
2690						2695						2700								
Asp	Leu	Ile	Phe	Asn	Leu	His	Asn	Lys	Leu	Asn	Lys	Gly	Leu	Lys						
2705						2710						2715								
Lys	Leu	Val	Leu	Gly	Trp	Ala	Pro	Ala	Pro	Leu	Ser	Cys	Asp	Trp						
2720						2725						2730								
Thr	Pro	Ser	Asp	Glu	Arg	Ile	Ser	Leu	Pro	His	Asn	Asn	Tyr	Leu						
2735						2740						2745								
Arg	Val	Glu	Thr	Arg	Cys	Pro	Cys	Gly	Tyr	Glu	Met	Lys	Ala	Ile						
2750						2755						2760								
Lys	Asn	Val	Ala	Gly	Lys	Leu	Thr	Lys	Val	Glu	Glu	Lys	Gly	Ser						
2765						2770						2775								

Phe Leu Cys Arg Asn Arg Leu Gly Arg Gly Pro Pro Asn Phe Lys
2780 2785 2790

Val Thr Lys Phe Tyr Asp Asp Asn Leu Ile Glu Val Lys Pro Val
2795 2800 2805

Ala Arg Leu Glu Gly Gln Val Asp Leu Tyr Tyr Lys Gly Val Thr
2810 2815 2820

Ala Lys Leu Asp Tyr Asn Asn Gly Lys Val Leu Leu Ala Thr Asn
2825 2830 2835

Lys Trp Glu Val Asp His Ala Phe Leu Thr Arg Leu Val Lys Lys
2840 2845 2850

His Thr Gly Ile Gly Phe Lys Gly Ala Tyr Leu Gly Asp Arg Pro
2855 2860 2865

Asp His Gln Asp Leu Val Asp Arg Asp Cys Ala Thr Ile Thr Lys
2870 2875 2880

Asn Ser Val Gln Phe Leu Lys Met Lys Lys Gly Cys Ala Phe Thr
2885 2890 2895

Tyr Asp Leu Thr Ile Ser Asn Leu Val Arg Leu Ile Glu Leu Val
2900 2905 2910

His Lys Asn Asn Leu Gln Glu Arg Glu Ile Pro Thr Val Thr Val
2915 2920 2925

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

Ile Lys Pro Val Leu Gly Glu Lys Val Ile Pro Glu Pro Pro Glu
2945 2950 2955

Glu Leu Ser Leu Gln Pro Thr Val Arg Leu Val Thr Thr Glu Thr
2960 2965 2970

Ala Ile Thr Ile Thr Gly Glu Ala Glu Val Met Thr Thr Gly Ile
2975 2980 2985

Thr Pro Val Val Glu Met Lys Glu Glu Pro Gln Leu Asp His Gln
2990 2995 3000

Ser Thr Thr Leu Lys Val Gly Leu Lys Glu Gly Glu Tyr Pro Gly
3005 3010 3015

Pro Gly Val Asn Pro Asn His Leu Ala Glu Val Ile Asp Glu Lys
3020 3025 3030

Asp Asp Arg Pro Phe Val Leu Ile Ile Gly Asn Lys Gly Ser Thr
3035 3040 3045

Ser Asn Arg Ala Arg Thr Ala Lys Asn Ile Arg Leu Tyr Lys Gly
3050 3055 3060

Asn Asn Pro Arg Glu Ile Arg Asp Leu Met Ser Gln Gly Arg Ile
3065 3070 3075

Leu Thr Val Ala Leu Lys Glu Leu Asp Pro Glu Leu Lys Glu Leu
3080 3085 3090

Val Asp Tyr Lys Gly Thr Phe Leu Asn Arg Glu Ala Leu Glu Ala
3095 3100 3105

Leu Ser Leu Gly Lys Pro Ile Lys Arg Lys Thr Thr Thr Ala Met
3110 3115 3120

Ile Arg Arg Leu Ile Glu Pro Glu Val Glu Glu Glu Leu Pro Asp

3125				3130				3135						
Trp	Phe	Gln	Ala	Glu	Glu	Pro	Leu	Phe	Leu	Glu	Ala	Lys	Ile	Gln
3140				3145				3150						
Asn	Asp	Leu	Tyr	His	Leu	Ile	Gly	Ser	Val	Asp	Ser	Ile	Lys	Ser
3155				3160				3165						
Lys	Ala	Lys	Glu	Leu	Gly	Ala	Thr	Asp	Asn	Thr	Lys	Ile	Val	Lys
3170				3175				3180						
Glu	Val	Gly	Ala	Arg	Thr	Tyr	Thr	Met	Lys	Leu	Ser	Ser	Trp	Ser
3185				3190				3195						
Thr	Gln	Val	Thr	Lys	Lys	Gln	Met	Ser	Leu	Ala	Pro	Leu	Phe	Glu
3200				3205				3210						
Glu	Leu	Leu	Leu	Lys	Cys	Pro	Pro	Cys	Ser	Lys	Ile	Ser	Lys	Gly
3215				3220				3225						
His	Met	Val	Ser	Ala	Tyr	Gln	Leu	Ala	Gln	Gly	Asn	Trp	Glu	Pro
3230				3235				3240						
Leu	Gly	Cys	Gly	Val	Tyr	Met	Gly	Thr	Ile	Pro	Ala	Arg	Arg	Leu
3245				3250				3255						
Lys	Ile	His	Pro	Tyr	Glu	Ala	Tyr	Leu	Lys	Leu	Lys	Glu	Leu	Val
3260				3265				3270						
Glu	Val	Glu	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr	Ala	Lys	Glu	Ser	Ile	Ile	Arg
3275				3280				3285						
Glu	His	Asn	Thr	Trp	Ile	Leu	Arg	Lys	Val	Arg	His	Glu	Gly	Asn
3290				3295				3300						

Leu Arg Thr Lys Ser Met Ile Asn Pro Gly Lys Ile Ser Asp Gln
3305 3310 3315

Leu Cys Arg Asp Gly His Lys Arg Asn Ile Tyr Asn Lys Ile Ile
3320 3325 3330

Gly Ser Thr Met Ala Ser Ala Gly Ile Arg Leu Glu Lys Leu Pro
3335 3340 3345

Val Val Arg Ala Gln Thr Asp Thr Thr Ser Phe His Gln Ala Ile
3350 3355 3360

Arg Glu Lys Ile Asp Lys Thr Glu Asn Lys Gln Thr Pro Glu Leu
3365 3370 3375

His Glu Glu Leu Met Lys Val Phe Asp Cys Leu Lys Ile Pro Glu
3380 3385 3390

Leu Lys Glu Ser Tyr Asp Glu Val Ser Trp Glu Gln Leu Glu Ala
3395 3400 3405

Gly Ile Asn Arg Lys Gly Ala Ala Gly Tyr Leu Glu Ser Lys Asn
3410 3415 3420

Ile Gly Glu Val Leu Asp Thr Glu Lys His Ile Val Glu Gln Leu
3425 3430 3435

Ile Lys Asp Leu Arg Lys Gly Lys Lys Ile Arg Tyr Tyr Glu Thr
3440 3445 3450

Ala Ile Pro Lys Asn Glu Lys Arg Asp Val Ser Asp Asp Trp Glu
3455 3460 3465

Ala Gly Glu Phe Val Asp Glu Lys Lys Pro Arg Val Ile Gln Tyr
3470 3475 3480

Pro Asp Ala Lys Val Arg Leu Ala Ile Thr Lys Val Met Tyr Lys
3485 3490 3495

Trp Val Lys Gln Lys Pro Val Val Ile Pro Gly Tyr Glu Gly Lys
3500 3505 3510

Thr Pro Leu Phe Asp Ile Phe Asn Lys Val Lys Lys Glu Trp Asp
3515 3520 3525

Ser Phe Gln Asp Pro Val Ala Val Ser Phe Asp Thr Lys Ala Trp
3530 3535 3540

Asp Thr Gln Val Thr Ser Arg Asp Leu Met Leu Ile Lys Asp Ile
3545 3550 3555

Gln Lys Tyr Tyr Phe Lys Arg Ser Ile His Lys Phe Leu Asp Thr
3560 3565 3570

Ile Thr Glu His Met Val Glu Val Pro Val Ile Thr Ala Asp Gly
3575 3580 3585

Glu Val Tyr Ile Arg Asn Gly Gln Arg Gly Ser Gly Gln Pro Asp
3590 3595 3600

Thr Ser Ala Gly Asn Ser Met Leu Asn Val Leu Thr Met Ile Tyr
3605 3610 3615

Ala Phe Cys Lys Ser Thr Gly Ile Pro Tyr Arg Gly Phe Ser Arg
3620 3625 3630

Val Ala Arg Ile His Val Cys Gly Asp Asp Gly Phe Leu Ile Thr
3635 3640 3645

Glu Arg Gly Leu Gly Leu Lys Phe Ser Glu Lys Gly Met Gln Ile

3650

3655

3660

Leu His Glu Ala Gly Lys Pro Gln Lys Ile Thr Glu Gly Asp Lys
3665 3670 3675

Met Lys Val Ala Tyr Arg Phe Glu Asp Ile Glu Phe Cys Ser His
3680 3685 3690

Thr Pro Val Pro Val Arg Trp Ala Asp Asn Thr Ser Ser Tyr Met
3695 3700 3705

Ala Gly Arg Ser Thr Ala Thr Ile Leu Ala Lys Met Ala Thr Arg
3710 3715 3720

Leu Asp Ser Ser Gly Glu Arg Gly Ser Thr Ala Tyr Glu Lys Ala
3725 3730 3735

Val Ala Phe Ser Phe Leu Leu Met Tyr Ser Trp Asn Pro Val Val
3740 3745 3750

Arg Arg Ile Cys Leu Leu Val Leu Ser Gln Phe Pro Glu Ile Ser
3755 3760 3765

Pro Ser Lys Asn Thr Ile Tyr Tyr Tyr Gln Gly Asp Pro Ile Ala
3770 3775 3780

Ala Tyr Arg Glu Val Ile Gly Lys Gln Leu Cys Glu Leu Lys Arg
3785 3790 3795

Thr Gly Phe Glu Lys Leu Ala Gly Leu Asn Leu Ser Met Thr Thr
3800 3805 3810

Leu Gly Ile Trp Thr Lys His Thr Ser Lys Arg Leu Ile Gln Ala
3815 3820 3825

Cys Val Glu Ile Gly Lys Arg Glu Gly Thr Trp Leu Val Asn Ala
3830 3835 3840

Asp Arg Leu Ile Ala Gly Lys Thr Gly Lys Phe Tyr Ile Pro Ser
3845 3850 3855

Thr Gly Val Thr Leu Leu Gly Lys His Tyr Glu Glu Ile Asn Leu
3860 3865 3870

Lys Gln Lys Ala Ala Gln Pro Pro Ile Glu Gly Val Asp Arg Tyr
3875 3880 3885

Lys Leu Gly Pro Ile Val Asn Val Ile Leu Arg Arg Leu Arg Val
3890 3895 3900

Met Leu Met Thr Val Ala Ser Gly Ser Trp
3905 3910

<210> 10 <211> 12332 <212> DNA <213> Artificial-sequence:XIKE-C BVDV-Sequence <400> 10
gtatagcaga ttagctaaag aactcgata tggattggac gtcaacaaat ttttaattgg 60

caacgtaggg aaccttcccc tcagcgaagg ccgaaaagag gctagccatg cccttagtag 120

gactagcaaa agtaggggac tagcggtagc agtgagtgc ttggatggcc gaaccctga 180

gtacagggga gtcgtcaatg gttcgacact ccattagtgc aggagtctgc agatgcatg 240

tggacgagg catgcccacg gcacatctta acccatgcgg gggttgcatg ggtgaaagcg 300

ctattcgtgg cgttatggac acagcctgat aggggtgtgc agagacctgc tattccgcta 360

gtaaaaactc tgctgtacat ggcacatgga gttgttttca aatgaacttt tataaaaaac 420

atataaaca aaaccagcag gcgtcgtgga acctgtttac gacgtcaacg ggcgcccact 480

gtttggagag agcagtgact tgcacccgca gtcaacacta aaactaccac accaagagg 540

cagcgccaac atcctgacca atgctaggtc cctaccgagg aaaggtgact gccggagagg 600

taatgtgtat ggaccgggtga gtggcatcta tatcaaacca ggaccgatct actaccagga 660

ttatgtgggc cccgtctatc atagagcccc actggaacta thtagggagg caagtatgtg 720

cgaacaact aggagagttg gcagagtgc cggtagtgtat gggaaattat atcatatcta 780

catctgcata gatgggtgta tcctcctgaa gagggcgact aggaaccaac cagaagtcct 840

gaaatgggta tacaacagat taaattgtcc ttatgggtc accagctgct ccgatgaagg 900

gagcaagggt gctacaagta agaagcagcc taagccagat aggatagaaa aaggtaaagt 960

gaaaatagcc ccaaaagaga cagaaaaaga ttgcaaaacc agacccccg acgcgactat 1020

agtagtagaa ggggttaagt accaggtgaa gaaaaaagga aaggtaaagg gaaaaatac 1080

tcaagatggg ttatatcaca acaagaataa gccccctgaa tcaagaaaaa aattggaaaa 1140

ggcactgctg gcttgggcca tcttagcagc ggtcctgctt cagctggtaa caggagagaa 1200

tatcacccag tggaacttga tggacaacgg caccgaggga atacagcaag cgatgttcct 1260

aagaggggtg aacaggagtc tattaggaat ttggccagag aaaatttgca cggagtacc 1320

aactcactta gcaacagact atgagcttaa agagatagtg gggatgatgg acgcgagtga 1380

gaagaccaac tacacgtgtt gcaggttgca aagacatgag tggaataaac atggttggtg 1440

taactggttt catatagaac cgtggatatg gttgatgaac aaaacccaaa acaacctgac 1500

agaagggcaa ccgcttaggg agtgtgctgt gactttagg tatgacaagg aaacagaatt 1560

gaacatcgtg acacaggcta gggacagacc tacaactctg acaggttgca agaaaggcaa 1620

gaatttctct ttgcaggtg ttatactgga tgggccctgt aactttaag tatcggttga 1680

agatgtgctg ttcaaggagc acgattgcgg caacatgctg caagagaccg cgatacagct 1740

actcgatggg gcaaccaaca ccattgaggg agcaagggtg gggacggcca agttgacaac 1800

ctggttaggg aagcaattag ggatccttgg taagaagttg gagaacaaaa gcaaagcatg 1860

gtttggtgca catgcagcaa gtccatactg cggagtggag aggaagatcg gttacgtatg 1920

gtatacaaaa aactgcactc cagcttgcct tccaagaaac actagaataa taggccccgg 1980

gaaatttgat accaagccg aagatggaaa aatactccat gagatggggg ggcacctctc 2040

agaatttgc ctattgtcct tgggtgttct gtctgacttt gccccgaaa ccgcgagcgt 2100

catctacttg gttctacatt ttgcgatccc gcaaagccac gttgatgtag acacatgcga 2160

caagaaccag ctgaatttaa cggtagcaac cacagtagca gaggtcatat caggacagct 2220

gtggaacctg ggaagtatg tctgcataag accagactgg tggccatatg agacgacgac 2280

agtcttcgtc atagaggaag cagggaagt aatcaaattg atgctaagg ccatcagaga 2340

cttaactagg atatggaatg ctgccactac cacagcttcc ttaatctttt tagtaaaagc 2400

actgagggga caactaatcc aagggtctatt gtggctgatg ctaataacag gagcacaggg 2460

cttcctgaa tgcaaagagg gcttccaata tgccatatct aaagacagga aaatgggggtt 2520

attggggcca gagagcttaa ctacaacatg gcacctcccc accaaaaaaa tagtggattc 2580

catggtgcat gtatggtgtg aaggaaaaga cttgaaaata ttaaaatgt gcacaaagga 2640

agagaggat ctatggctg tgcacgagag agccttatca accagtgcg agtttatgca 2700

gatcagtgat gggacaatag gccagacgt gatagatatg cctgatgact ttgagtttg 2760

actctgccct tgtactcaa aaccagtgt aaaggcaca ttaaatgcca gcttactgaa 2820

tggaccagct ttccagatgg tatgccaca ggggtggact ggtacaatag aatgcacct 2880

agcgaaccaa gacaccttgg acacaactgt cattaggaca tatagaagaa ctacccatt 2940

tcagcggaga aaatggtgta cctatgaaaa aataataggg gaagatatct atgaatgcat 3000

tctaggtgga aactggacat gcataaccgg tgaccatagc aggttgaaag acggacctat 3060

caagaagtgt aagtgggtg gccatgactt cgtcaactca gaggggctac cacactaccc 3120

aataggcaag tgcatgctca tcaacgagag tgggtacagg tatglagatg acacctcttg 3180

cgataggggt gggttagcca tagttccatc tggcaccgta aagttagaa taggtaacgt 3240

cacggtgcaa gttatcgcta ctaacaatga tctgggaccc atgccttgca gccagctga 3300

agtgatagca agtgaaggac cagtggaaaa gactgcatgc acattcaact attcaaggac 3360

tctacctaat aagtattatg agccaaggga cgggtacttc caacaataca tgttaaaagg 3420

ggagtggcaa tattggttcg acctggattc ttagaccac cacaagact acttctcaga 3480

gttcataatc atagcagtgg tcgccttgtt ggggtgtaag tacgtactgt ggctcttgat 3540

aacatacaca atactgtctg agcagatggc tatgggtgct ggagtgaata ctgaagagat 3600

agtcatgata ggcaatttgc tgacagacag tgatattgag gttgtggttt atttcttct 3660

tctgtactta atagttaaag aggaactggc gaggaaatgg attatactgg tataccacat 3720

cctttagacc aaccctatga aaacaattgg ggtcgtctta ctaatgctag ggggagtgg 3780

gaaggccagc agaatcaatg ctgatgacca aagtgctatg gacctatgct ttcttctct 3840

gacaggcgta gtggctgttt tgatgatgc tagaagagaa cctgccacat taccactgat 3900

tgtagcattg ctagcaataa gaacatcagg attcctactg cccgctagca ttgatgtaac 3960

tgtagcagta gtattaattg tacttttgtt ggctagctac ataacagact acttagata 4020

taaaaagtgg ctcaactct tatttagtct gatagctgg atctttatta taaggagctt 4080

aaaacatatc aaccagatgg aggtaccaga aatatctatg ccaagttgga gacctctagc 4140
 tctggtcctt ttctatataa catctacagc aataaccact aattgggaca ttgacttagc 4200
 aggcttcctg ctgcaatggg cgccagcagt gatcatgatg gctaccatgt gggcagactt 4260
 ttgactctg atcatagtcc tgcccagtta cgagttatct aagctttact tcctaagaa 4320
 cgtcaggaca gacgtggaaa agaactggct cggcaaagtg aaatacagac agatcagttc 4380
 agtttatgac atctgtgaca gtgaggaagc agtgtaccta tttccatcaa ggcataagag 4440
 tggaagcagg ccagatttca tattaccttt ttgaaagcc gtgttaataa gctgcatcag 4500
 cagccaatgg caagtggttt acattttctta cctaatactg gaaattacat actatatgca 4560
 caggaaaatc atagatgagg tgtcaggagg agcaaatttt ctatcaagac tcatagcagc 4620
 catcatagaa ttaaattggg ccatagatga tgaggaatgt aaaggactga agaaactgta 4680
 tctcttgtca gggagagcga agaatttgat agttaaacat aaggttaagaa atgaagccgt 4740
 ccacagatgg ttigtgagg aggaaatata cggggcaccc aaggtgatca ctatcataaa 4800
 agctagtacc ctaagtaaaa acaggcactg cataatctgc acgatctgtg aagggaagaa 4860
 atggaatgga gccaaactgcc caaagtgtgg aagacaagga aagcccataa catgtggaat 4920
 gacactcgca gactttgagg agaaacatta caaaaagata ttataagag aagaatcttc 4980
 ttgtcctgtg ctttttgatc cttcttgcca ttgtaattat tttgccacg atgggccttt 5040
 caggaaagag tataagggtt acgtccaata cacagccaga ggacaactct ttctgaggaa 5100
 cctaccaatt ctacgcagca agatgaagct attaatggtg ggaaacctcg gcgcagaaat 5160
 tggcgacctg gaacatctag gatgggtact gagagggccca gccgtgtgca aaaaaattac 5220

caacatgag aagtgccacg taaacatcat ggataagcta actgcatttt ttggaatcat 5280

gcctagaggc acgacccta gggcacctgt gaggttcccc acagcactac taaaagttag 5340

aagggggcta gagacgggat gggcttacac gcaccaagga gggatcagct cggtagacca 5400

tgtcacagcc ggaaaggatt tactagtgtg tgacagtatg ggcaggacca gggttgtctg 5460

tcatagtaac aataagatga ctgatgagac tgagtatggc atcaagaccg actcagggtg 5520

tcccgaaggt gcgagggttt acgtgctaaa cccagaagct gttacattt ctggcacaaa 5580

aggagctatg gtacacctcc agaaaacggg gggggagttc acatgtgtca ctgcctcagg 5640

gaccccggtt ttcttcgacg tgaaaaatct aaaaggctgg tccgggctac caatttttga 5700

agcatccagt ggcagggtgg ttggtagggt gaaagtcggc aagaatgagg attccaagcc 5760

cacaaaacta atgagcggaa tccagacagt gtctaagaac cagacagacc tagcggacat 5820

cgtaaaaaaa ttgactagta tgaacagagg agagttcaaa cagataacat tagccactgg 5880

ggcaggaaaa actacggaac tgccaaggtc cgtcatagag gagatagga ggcacaaaag 5940

ggtcttagtc ctgataccat tgagagcagc agcagagtca gtgtatcagt atatgagagt 6000

gaagtacca agtatactt tcaatttgag aataggagat atgaaggaag gtgacatggc 6060

cactggtatc acctacgct catatgggtt cttttgtcag cttcctcagc ccaaactgag 6120

agctgccatg gtagagtact catatatatt cttagatgag taccactgtg ctacaccga 6180

gcaattagca ataattggaa agatacacag gtttgctgaa aatcttagag tggtagcaat 6240

gacagcaacc ccagctggaa cggtcacaac gactggtcag aaacacccta tagaggagtt 6300

catagcccca gaggtgatga aaggtaaga tctaggtagt gaatacttgg atattgcagg 6360

gttgaagata ccgactgaag agatgaaagg caacatgctc gtgttcgcgc caactaggaa 6420

catggcagta gaaacagcta agaaattgaa ggctaaggga tacaactctg gatactatta 6480

cagtggggaa aaccagaga acttgagggt ggtaacctcg caatccccgt atgtggtagt 6540

agccaccaat gccatagagt cagggtgac attaccagac ttagacacag ttgtagacac 6600

tggactaaag tgtgagaaga gggtaggat ttcttcaaaa atgcccttca ttgtaacagg 6660

acttaagaga atggcagtca caatcggaga gcaagcccag cgcaggggta gagtaggaag 6720

agtcaagcca ggtaggtact ataggagtca agaaacagct tcagggtcaa aagattacca 6780

ttacgaccta ctgcaagccc agaggtacgg aatagaagat ggaattaatg taacaaagtc 6840

attcaggag atgaactatg attggagcct ttacgaagag gacagcttga tgataactca 6900

actcagggtc cttacaacc tccttatatc agaagacctg cctgccgcag tgaagaacat 6960

catggcccgg accgatcacc cagaacccat acaactggcc tataacagtt atgaaaacca 7020

aattccagtg ctgttccaa agatcaaaaa tggtaggtg acagacagtt atgagaatta 7080

cacatatctc aatgcaagaa aattaggaga ggacgtgccg gcatatgtgt acgccacaga 7140

ggatgaggat ctacagtggt atcttctggg tatggattgg ccggaccag gcaaccaaca 7200

ggtggtagag acagggaggg cattaaaaca agtaactggc ttatccacag cagaaaacgc 7260

cctcttgata gccctattcg gctacgtcgg gtaccagaca ctttcaaaaa ggcacatacc 7320

catgattact gacatctata cacttgaaga ccacagcctt gaggacacaa cccacctcca 7380

gtttgcccc aacgtataa ggaccgacgg caaggactca gatttgaagg aattagctgt 7440

gggagacctt gataaatatg tggacgcact gtagactac tccaacaag ggatgaaatt 7500

catcaaagtc caagctgaaa aggtcagaga ctcccagtc acgaaggaag gcttgcaaac 7560

cattaaggag tatgtggata agtttataca atcactaaca gagaataagg aggagatcat 7620

caggtatgga ctatggggag ttcacacggc actctacaaa agcttggcag cgagactggg 7680

gcatgaaaca gcttttgcaa ctttagtggg aaaatgggtg gcttttgggg gcgaaacggt 7740

atctgctcac atcaagcaag tagcagttga tctagtagta tattatatca tcaacaaacc 7800

atcttttctt ggagatacag agaccaaca agaggggagg aagtttgtgg ctagtctttt 7860

tatatctgca ctagcaacat acacatataa aacctggaat tacaacaatc tgcaacgggt 7920

tgtcgaaact gccttagctt acctcccata tgctacaagt gccttgaagt tgttcacacc 7980

cacaagatta gagagtgtgg tcatactcag ttctacaatt tacaagacat acctctctat 8040

aaggaagggt aagagtgcag gcttgtagg tacaggcata agtgcagcca tggagatctt 8100

aaacaaaaac ccaatctcag taggtatatc tgtgatgctg ggggtagggt ccatcgccgc 8160

ccataatgca atagaatcta gtgaacagaa aagaactttg ctgatgaagg tctttgtaaa 8220

aaacttctta gaccaagcag caacagatga gctagtcaaa gagaaccctg aaaaaataat 8280

catggctcta ttgaagcag tccagaccat aggaaacccc ctaagactca tctaccatct 8340

gtacggggtg tactataagg ggtgggaagc aaaagaactc gcagagaaaa ctgctggccg 8400

caacttattc acattgatca tgtttgaggc ctttgagctt ttaggtatgg actcagaagg 8460

aaagataaga aacttgtcag gcaactacat actggactta atcttcaact tgcataataa 8520

attaacaag gggctcaaaa aactagtcct tgggtgggct cctgcacctt tgagctgtga 8580

ttggacacca agtgatgaga gaataagcct acctcataac aactacttaa gggtagaaac 8640

caggtgtcct tgtggctatg agatgaaggc aataaaaaat gttgctggtg aattgacaaa 8700

agttgaagaa aaggggtcct tcctatgcag gaatagatta gggagaggac ctccaaactt 8760

caaagtaaca aagtictatg atgataactt gatagaagtc aagccagtag ctaggctaga 8820

aggccaggtg gacctctatt acaagggagt aacagctaag ttagactaca acaatgggaa 8880

agtactgtta gctaccaaca agtgggaggt ggaccacgct ttcctgacca gactagtaaa 8940

gaagcacaca gggataggtt ttaaaggtgc atatttgggt gaccgaccag accatcaaga 9000

tcttgcgat agagattgtg caactataac gaagaactca gtacagttcc taaaaatgaa 9060

gaagggttgc gctttcacat atgacctaac aatctctaac cttgtcaggc ttattgaact 9120

agtccataag aataatttac aagaaagaga gatccctacc gtgacagtaa ctacttggt 9180

tgcatattct ttgtcaatg aagacctggg gactatcaag cctgtattgg gggagaaagt 9240

catcccagaa cccccgagg agttgagtct ccaaccacc gtgagactag tcaccactga 9300

aacagcaata accataacag gggaggctga agtgatgacg acagggatca caccagtgg 9360

agagatgaaa gaagaacctc agctggacca ccagtcaact accctaaagg tagggttgaa 9420

ggaaggggaa tatccagggc caggagttaa ccctaaccat ttagcagagg tgatagatga 9480

gaaagatgac aggccttttg tcctaatcat cggtaacaaa ggttctacct cgaacagagc 9540

aagaacggcc aagaatatat ggctgtacaa aggaacaac ccaagagaga tcagggatct 9600

gatgagccaa ggaagaatat tgacggttgc tctaaaagag ttggacccgg aattaaaaga 9660

attagtagat tacaagggga cttttctcaa tagggaagct ttagaagccc taagcttagg 9720

taagccaatc aagagaaaa ccacaacagc aatgacagg aggttaatag agccagaggt 9780

tgaggaggaa ctaccagatt gggtccaagc ggaagaaccc ctatttttgg aagcaaaaat 9840

acagaatgac ttataccacc taattggcag ttagatagat ataaaaagca aagcaaagga 9900

attaggggcc acagataaca caaagatagt gaaggaagtt ggggctagga cctatacgat 9960

gaaattgagc agctggagca cacaagttac aaaaaaacag atgagtctag cccctctctt 10020

tgaagagctg ttattaaagt gccctccatg tagtaaaatt tcaaaggac atatggtgtc 10080

agcataccaa ctggctcaag gaaactggga acccctcggg tgtgggtctc atatgggaac 10140

cataccagct aggcgtctca agatccaccc ttatgaggct taccttaaac tcaaagagct 10200

ggtggaagtt gaatcttcga gggccactgc aaaagaatcc atcataagag aacataacac 10260

ctggatcctg cggaaggiga gacatgaagg gaacctaaga accaaatcaa tgatcaaccc 10320

tgggaaaata tcagatcagc tatgcagaga tggacacaaa agaaacatat ataataagat 10380

cataggtcga acaatggcct ctgctggtat taggctggag aaactgccag tagtccgagc 10440

ccaaactgac acaaccagtt tccaccaagc cataagagaa aaaattgata aaacagaaaa 10500

caagcagacc cctgaattgc atgaagaact aatgaaggtc ttcgactgct taaagatccc 10560

agagctgaag gaatcgtatg atgaagtffc atgggaacaa ttagaagccg ggataaacgg 10620

taagggtgca gcaggctatc tagagagcaa gaacataggg gaagtcctag acacagagaa 10680

acacatagta gaggcagctga tcaaggatct gaggaagggg aagaagatta ggtactatga 10740

aacagccatc cccaagaatg agaagagaga cgtcagcgac gactgggaag ccggagagtt 10800

cgttgatgaa aagaaaccaa gagtaatcca gtacccggac gccaaggtga gactggccat 10860

tacaaaagtg atgtacaaat gggtaaagca aaaaccagtg gtgatacccg gctatgaagg 10920

taaaacacct ctatttgaca tattcaacaa agtgaagaag gaatgggatt cattccagga 10980

ccccgtagca gtgagctttg acaccaaagc gtgggataca caagtcacca gtagagacct 11040

aatgttgata aaggatatcc agaaatatta ttcaagaga agtatacaca aatttttaga 11100

tacaataaca gaacacatgg tggaggtacc tgcattaca gcagacgggtg aagttttacat 11160

aaggaaatggt cagaggggta gtggccaacc cgacacaagt gctggttaata gtatgttgaa 11220

tgctctaacc atgataatg ctttctgtaa aagtacaggc ataccttaca ggggattcag 11280

cagagtggca agaattcatg tgtgtgggtga tgatggcttt ttgataacag agagaggact 11340

gggactgaaa ttctctgaga agggatgca gatattacat gaggccggga agccccagaa 11400

aataactgaa ggggacaaaa tgaaagtggc atacagattc gaggacatag agttttgttc 11460

ccatactccc gtgccagtc gatgggcaga taacaccagt agttacatgg cagggaggag 11520

cacagccact atactagcta agatggcaac caggctggat tccagcggag agaggggtag 11580

cacagcttat gagaagccg tagccttcag ctctcttttg atgtactcat ggaatcccgt 11640

agttagaagg atctgcttac tgggtgtgtc acagtttcca gaaatatccc catccaaaaa 11700

cacaatatac tactaccaag gggatcccat agctgcgtac agagaagtga tagggaaaca 11760

gctgtgtgaa ctgaaaagaa caggatttga gaagctggct ggtctgaatt tgagtatgac 11820

cactctaggc atctggacaa aacatactag taaaagacta atccaagcct gtgtagaaat 11880

aggtaagaga gaaggtacct ggtagttaa tgctgacaga ctgattgcag gaaagactgg 11940

gaagttttac atccaagca ctggtgtcac tctgttggga aaacactatg aggaaattaa 12000

cttaaagcaa aaggcggcac aaccgccgat agaggggggtt gacagatata agttgggccc 12060

catagttaat gttatcttga gaagctgag ggtgatgctg atgacagttg ccagcggaag 12120

ctggtgaatc cgtccggagc gtcgtgccct cactcaaggc ttttaattgt aaatattgta 12180

aatagacagc taagatatat attgtagttg gatagtaatg cagtgatagt aaatacccca 12240

atttaacact acctccaatg cactaagcac tttagctgtg tgaggttaac tcgacgtcca 12300

cggttggact aggaagacc tctaacagcc cc 12332

<210> 11 <211> 11840 <212> DNA <213> Artificial sequence: XIKE-C-NdN BVDV-Sequence <400> 11
gtatacgaga ttagctaaag aactcgata tggattggac gtcaacaaat ttttaattgg 60

caacgtaggg aaccttcccc tcagcgaagg ccgaaaagag gctagccatg cccttagtag 120

gactagcaaa agtaggggac tagcggtagc agtgagtgcg ttggatggcc gaaccctga 180

gtacagggga gtcgtcaatg gttcgacact ccattagtcg aggagtctcg agatgccatg 240

tggacgaggg catgcccacg gcacatctta acccatgcgg gggttgcatg ggtgaaagcg 300

ctattcgtgg cgttatggac acagcctgat aggggtgtgc agagacctgc tattccgcta 360

gtaaaaactc tgctgtacat ggcacatgga gttgttttcc gatgaaggga gcaagggtgc 420

tacaagtaag aagcagccta agccagatag gatagaaaaa ggtaagatga aaatagcccc 480

aaaagagaca gaaaaagatt gcaaaaccag accccccgac gcgactatag tagtagaagg 540

ggttaagtac caggtgaaga aaaaaggaaa ggtaagggga aaaaatactc aagatgggtt 600

atatcacaac aagaataagc ccctgaatc aagaaaaaaa ttggaaaagg cactgctggc 660

ttgggccatc ttagcagcgg tcctgcttca gctggtaaca ggagagaata tcaccagtg 720

gaacttgatg gacaacggca ccgagggaat acagcaagcg atgttcctaa gaggggtgaa 780

caggagtcta ttaggaattt ggccagagaa aatttgcacc ggagtaccaa ctacttagc 840

aacagactat gagcttaaag agatagtggg gatgatggac gcgagtgaga agaccaacta 900

cacgtgttgc aggttgcaaa gacatgagtg gaataaacat ggttgggtga actggtttca 960

tatagaaccg tggatatggt tgatgaacaa aacccaaaac aacctgacag aagggaacc 1020

gcttagggag tgtgctgtga cttgtaggta tgacaaggaa acagaattga acatcgtgac 1080

acaggctagg gacagaccta caactctgac aggttgcaag aaaggcaaga atttctcttt 1140

cgcagggtgtt atactggatg ggccctgtaa ctttaaagta tcggttgaag atgtgctgtt 1200

caaggagcac gattgcggca acatcgtgca agagaccgag atacagctac tcgatggggc 1260

aaccaacacc attgagggag caagggtagg gacggccaag ttgacaacct ggtagggaa 1320

gcaattaggg atccttggtga agaagttgga gaacaaaagc aaagcatggt ttggtgcaca 1380

tgcagcaagt ccatactgag gaggtagag gaagatcggg tacgtatggt atacaaaaaa 1440

ctgcactcca gcttgccttc caagaaacac tagaataata ggccccggga aatttgatac 1500

caacgccgaa gatggaaaaa tactccatga gatggggggg cacctctcag aatttgcct 1560

attgtccttg gtggttctgt ctgactttgc cccgaaacc gcgagcgtca tctacttggt 1620

tctacatctt gcatccgc aaagccagct tgatgtagac acatgcgaca agaaccagct 1680

gaatttaacg gtagcaacca cagtagcaga ggtcatacca gggacagtgt ggaacctagg 1740

gaagtatgtc tgcataagac cagactgggt gccatatgag acgacgacag tcttcgtcat 1800

agaggaagca gggcaagtaa tcaaatgat gctaagggcc atcagagact taactaggat 1860

atggaatgct gccactacca cagctttctt aatcttttta gtaaaagcac tgaggggaca 1920

actaatcaa gggctattgt ggctgatgct aataacagga gcacagggt tccctgaatg 1980

caaagagggc ttccaatatg ccatactaa agacaggaaa atggggttat tggggccaga 2040

gagcttaact acaacatggc acctccccac caaaaaata gtggattcca tggatcatgt 2100

atggtgtgaa ggaaaagact tgaaaatatt aaaaatgtgc aaaaaggaag agaggtatct 2160

atggctgtg cagagagag cttatcaac cagtgcagag tttatgcaga tcagtatgg 2220

gacaataggc ccagacgtga tagatatgcc tgaatgacttt gagtttggac tctgcccttg 2280

tgactcaaaa ccagtataaa agggcaaat taatgccagc ttactgaatg gaccagcttt 2340

ccagatggta tgcccacagg ggtggactgg tacaatagaa tgcaccctag cgaaccaaga 2400

caccttggac acaactgtca ttaggacata tagaagaact acccatttc agcggagaaa 2460

atggtgtacc tatgaaaaa taatagggga agatatctat gaatgcattc taggtggaaa 2520

ctggacatgc ataaccggtg accatagcag gttgaaagac ggacctatca agaagtgtaa 2580

gtggtgtggc catgacttcg tcaactcaga ggggctacca cactaccaa taggcaagt 2640

catgctcatc aacgagagtg ggtacaggta ttagatgac acctcttgcg ataggggtg 2700

ttagccata gttccatctg gcaccgtaaa gtgtagaata ggtaactca cggtgcaagt 2760

tatcgtact aacaatgac tgggacccat gccttgcagc ccagctgaag tgatagcaag 2820

tgaaggacca gtggaaaaga ctgcatgcac attcaactat tcaaggactc tacctaataa 2880

gtattatgag ccaagggacc ggtacttcca acaatacatg ttaaaagggg agtggcaata 2940

ttggttcgac ctggattctg tagaccacca caaagactac ttctcagagt tcataatcat 3000

agcagtggtc gccttgttgg gtgtaagta cgtactgtgg ctcttgataa catacacaat 3060

actgtctgag cagatggcta tgggtgctgg agtgaatact gaagagatag tcatgatagg 3120

caatttgctg acagacagtg atattgaggt tgggtttat ttccttcttc tgtacttaat 3180

agttaaagag gaactggcga ggaaatggat tatactggta taccacatcc ttgtagccaa 3240

ccctatgaaa acaattgggg tegtcttact aatgctaggg ggagtggga aggccagcag 3300

aatcaatgct gatgacaaa gtgctatgga cccatgcttt cttctcgtga caggcgtagt 3360

ggctgttttg atgatcgcta gaagagaacc tgccacatta ccactgattg tagcattgct 3420

agcaataaga acatcaggat tcctactgcc cgctagcatt gatgtaactg tagcagtagt 3480

attaattgta cttttgttgg ctactacat aacagactac tttagatata aaaagtggt 3540

tcaactctta ttiagtctga tagctgggtat ctttattata aggagcttaa aacatatcaa 3600

ccagatggag gtaccagaaa tatctatgcc aagttaggaga cctctagctc tggtcctttt 3660

ctatataaca tctacagcaa taaccactaa ttgggacatt gacttagcag gcttcctgct 3720

gcaatgggcg ccagcagtga tcatgatggc taccatgtgg gcagactttt tgactctgat 3780

catagtctg cccagttacg agttatctaa gctttacttc ctaaagaacg tcaggacaga 3840

cgtaggaaaag aactggctcg gcaaagtga atacagacag atcagttcag tttatgacat 3900

ctgtgacagt gaggaagcag tgtacctatt tccatcaagg cataagagtg gaagcaggcc 3960

agatttcata ttaccttttt tgaaagccgt gtttaataagc tgcatcagca gccaatggca 4020

agtggtttac atttcttacc taatactgga aattacatac tataatgcaca ggaaaatcat 4080

agatgagggtg tcaggaggag caaatcttct atcaagactc atagcagcca tcatagaatt 4140

aaattgggcc atagatgatg aggaatgtaa aggactgaag aaactgtatc tcttgtcagg 4200

gagagcgaag aatttgatag ttaaacataa ggtaagaaat gaagccgtcc acagatggtt 4260

tggtagggag gaaatatacg gggcacccaa ggtgatcact atcataaaag ctagtacctt 4320

aagtaaaaac aggcaactgca taatctgcac gatctgtgaa gggaaagaat ggaatggagc 4380

caactgcca aagtgtggaa gacaaggaaa gcccataaca tgtggaatga cactgcaga 4440

ctttgaggag aaacattaca aaaagatatt tataagagaa gaatcttctt gtctgtgcc 4500

ttttgatcct tcttgccatt gtaattattt tcgccacgat gggcctttca ggaaagagta 4560

taagggttac gtccaataca cagccagagg acaactcttt ctgaggaacc taccaattct 4620

agcgacgaag atgaagctat taatggtggg aaacctcggc gcagaaattg gcgacctgga 4680

acatctagga tgggtactga gagggccagc cgtgtgcaaa aaaattacca accatgagaa 4740

gtgccacgta aacatcatgg ataagctaac tgcatTTTTT ggaatcatgc ctagaggcac 4800

gaccctagg gcacctgtga ggttccccac agcactacta aaagtgagaa gggggctaga 4860

gacgggatgg gcttacacgc accaaggagg gatcagctcg gtagacatg tcacagccgg 4920

aaaggattta ctagtgtgtg acagtatggg caggaccagg gttgtctgtc atagtaacaa 4980

taagatgact gatgagactg agtatggcat caagaccgac tcagggtgtc ccgaaggtgc 5040

gaggtgttac gtgctaaacc cagaagctgt taacatttct ggcaaaaag gagctatggt 5100

acacctccag aaaacggggg gggagtac atgtgtcact gcctcagga ccccggcttt 5160

cttcgatctg aaaaatctaa aaggctggtc cgggctacca attttgaag catccagtgg 5220

cagggtggtt ggiagggtga aagtcggcaa gaatgaggat tccaagcca ccaaactaat 5280

gagcggaatc cagacagtgt ctaagaacca gacagaccta gcggacatcg taaaaaatt 5340

gactagtatg aacagaggag agttcaaaca gataacatta gccactgggg caggaaaaac 5400

tacggaactg ccaaggtccg tcatagagga gataggagg cacaaaaggg tcttagtcct 5460

gataccattg agagcagcag cagagtcagt gtatcagtat atgagagtga agtacccaag 5520

tatatctttc aatttgagaa taggagatat gaaggaaggt gacatggcca ctggtatcac 5580

ctacgctca tatgggtact tttgtcagct tcctcagccc aaactgagag ctgcatggt 5640

agagtactca tatatattct tagatgagta ccaactgtgt acacccgagc aattagcaat 5700

aattggaaag atacacaggt ttgctgaaaa tcttagagtg gtagcaatga cagcaacccc 5760
agctggaacg gtcacaacga ctggtcagaa acacctata gaggagtcca tagccccaga 5820
ggatgatgaaa ggigaagatc taggtagtga atacttggat attgcagggt tgaagatacc 5880
gactgaagag atgaaaggca acatgctcgt gtccgcgcca actaggaaca tggcagtaga 5940
aacagctaag aaattgaagg ctaagggata caactctgga tactattaca gtggggaaaa 6000
cccagagaac ttgagggtgg taacctcgca atccccgtat gtggtagtag ccaccaatgc 6060
catagagtca ggtgtgacat taccagactt agacacagtt gtagacactg gactaaagtg 6120
tgagaagagg gtgaggattt cttcaaaaat gcccttcatt gtaacaggac ttaagagaat 6180
ggcagtcaca atcggagagc aagcccagcg caggggtaga gtaggaagag tcaagccagg 6240
taggtactat aggagtcaag aaacagcttc aggggtcaaaa gattaccatt acgacctact 6300
gcaagcccag aggtacggaa tagaagatgg aattaatgta acaaagtcac tcaggagat 6360
gaactatgat tggagccttt acgaagagga cagcttgatg ataactcaac tcgaggtcct 6420
taacaacctc cttatatcag aagacctgcc tgccgcagtg aagaacatca tggcccggac 6480
cgatcaccca gaaccatac aactggccia taacagttat gaaaaccaa ttccagtgtc 6540
gttcccaaag atcaaaaatg gtgaggtgac agacagttat gagaattaca catatctcaa 6600
tgcaagaaaa ttaggagagg acgtgccggc atatgtgtac gccacagagg atgaggatct 6660
agcagtggat cttctgggta tggattggcc ggaccaggc aaccaacagg tggtagagac 6720
agggagggca ttaaaacaag taactggctt atccacagca gaaaacgccc tcttgatagc 6780
cctattcggc tacgtcgggt accagacact ttcaaaaagg cacatacca tgattactga 6840
catctataca cttgaagacc acaggttga ggacacaacc cacctccagt ttgcccacaa 6900

cgctataagg accgacggca aggactcaga gttgaaggaa ttagctgtgg gagaccttga 6960

taaatatgtg gacgcactgg tagactactic caaacaaggg atgaaattca tcaaagtcca 7020

agctgaaaag gtcagagact cccagtctac gaaggaaggc ttgcaaacca ttaaggagta 7080

tgtggataag ttatataaat cactaacaga gaataaggag gagatcatca ggtatggact 7140

atggggagtt cacacggcac tctacaaaag cttggcagcg agactggggc atgaaacagc 7200

ttttgcaact ttagtggtaa aatggttggc ttttgggggc gaaacggtat ctgctcacat 7260

caagcaagta gcagttgac tagtagtata ttatatcatc acaaaccat cttttcctgg 7320

agatacagag acccaacaag aggggaggaa gtttgtggct agtctttta tatctgcact 7380

agcaacatac acatataaaa cctggaatta caacaatctg caacgggttg tcgaacctgc 7440

cttagettac ctcccatatg ctacaagtgc cttgaagttg ttcacacca caagattaga 7500

gagtgtggtc atactcagtt ctacaattta caagacatac ctctctataa ggaagggtaa 7560

gagtgcagcg ttgttaggta caggcataag tgcagccatg gagatcttaa accaaaaccc 7620

aatctcagta ggtatatctg tgatgctggg ggtagggtgcc atcgccgcc ataatgcaat 7680

agaatctagt gaacagaaaa gaactttgct gatgaaggtc tttgtaaaa acttcttaga 7740

ccaagcagca acagatgagc tagtcaaaga gaacctgaa aaaataatca tggtctctatt 7800

tgaagcagtc cagaccatag gaaacccct aagactcatc taccatctgt acggggtgta 7860

ctataagggg tgggaagcaa aagaactgc agagaaaact gctggccgca acttattcac 7920

attgatcatg tttaggcct ttgagctttt aggtatggac tcagaaggaa agataagaaa 7980

cttgtcagcg aactacatac tggacttaat cttcaacttg cataataaat taaacaaggg 8040

gctcaaaaaa ctagtcccttg ggtgggctcc tgcacctttg agctgtgatt ggacaccaag 8100

tgatgagaga ataagcctac ctcataacaa ctacttaagg gtagaaacca ggtgtccttg 8160

tggctatgag atgaaggcaa taaaaaatgt tgcctggtaaa ttgacaaaag ttgaagaaaa 8220

ggggtccttc ctatgcagga atagattagg gagaggacct ccaaacttca aagtaacaaa 8280

gttctatgat gataacttga tagaagtcaa gccagtagct aggctagaag gccaggtgga 8340

cctctattac aaggagtaga cagctaagtt agactacaac aatgggaaag tactgttagc 8400

taccaacaag tgggaggttg accacgcttt cctgaccaga ctagtaaaga agcacacagg 8460

gataggtttt aaaggtgcat atttgggtga ccgaccagac catcaagatc ttgtcgatag 8520

agattgtgca actataacga agaactcagt acagttccta aaaatgaaga agggttgcgc 8580

tttcacatat gacctaacaa tctctaacct tgtcaggtt attgaactag tccataagaa 8640

taatttaca gaaagagaga tccctaccgt gacagtaact acttggcttg catattcttt 8700

tgtcaatgaa gacctgggga ctatcaagcc tgtattgggg gagaaagtca tcccagaacc 8760

ccccaggag ttgagtctcc aaccaccgt gagactagtc accactgaaa cagcaataac 8820

cataacaggg gaggtgaag tgatgacgac agggatcaca ccagtggtag agatgaaaga 8880

agaacctcag ctggaccacc agtcaactac cctaaaggta gggttgaagg aagggaata 8940

tccagggccca ggagttaacc ctaaccattt agcagaggtg atagatgaga aagatgacag 9000

gccttttgtc ctaatcatcg gtaacaaagg ttctacctcg aacagagcaa gaacggccaa 9060

gaatatacgg ctgtacaaag gaaacaaccc aagagagatc agggatctga tgagccaagg 9120

aagaatattg acggttgctc taaaagagtt ggacccggaa ttaaaagaat tagtagatta 9180

caaggggacc tttctcaata gggaagcttt agaagcccta agcttaggta agccaatcaa 9240

gaggaaaacc acaacagcaa tgatcaggag gttaatagag ccagaggttg aggaggaact 9300

accagattgg ttccaagcgg aagaaccctt atttttggaa gcaaaaatac agaatgactt 9360

ataccaccta attggcagtg tagatagtat aaaaagcaaa gcaaaggaat taggggccac 9420

agataacaca aagatagtga aggaagttgg ggctaggacc tatacgatga aattgagcag 9480

ctggagcaca caagttacaa aaaaacagat gagtctagcc cctctctttg aagagctgtt 9540

attaaagtgc cctccatgta gtaaaatttc aaaggacat atggtgtcag cataccaact 9600

ggctcaagga aactgggaac ccctcgggtg tgggtcttat atgggaacca taccagctag 9660

gcgtctcaag atccaccctt atgaggetta ccttaaactc aaagagctgg tggaagtga 9720

atcttcgagg gccactgcaa aagaatccat cataagagaa cataacacct ggatcctgcg 9780

gaaggtgaga catgaaggga acctaagaac caaatcaatg atcaaccctg ggaaaatatac 9840

agatcagcta tgcagagatg gacacaaaag aaacatatat aataagatca taggtcaaac 9900

aatggcctct gcigtattta ggctggagaa actgccagta gtccgagccc aaactgacac 9960

aaccagtttc caccaagcca taagagaaaa aattgataaa acagaaaaca agcagacccc 10020

tgaattgcat gaagaactaa tgaaggtcct cgactgctta aagatcccag agctgaagga 10080

atcgtatgat gaagtttcat gggaacaatt agaagccggg ataaaccgta agggtgcagc 10140

aggctatcta gagagcaaga acatagggga agtcctagac acagagaaac acatagtaga 10200

gcagctgatac aaggatctga ggaaggggaa gaagattagg tactatgaaa cagccatccc 10260

caagaatgag aagagagacg tcagcgacga ctgggaagcc ggagagttcg ttgatgaaaa 10320

gaaaccaaga gtaatccagt acccgacgc caagtgaga ctggccatta caaaagtgat 10380

gtacaaatgg gtaaagcaaa aaccagtggg gataccggc tatgaaggta aaacacctct 10440

atttgacata ttcaacaag tgaagaagga atgggattca ttccaggacc ccgtagcagt 10500

gagctttgac accaaagcgt gggatacaca agtcaccagt agagacctaa tgttgataaa 10560

ggatatccag aaatattatt tcaagagaag tatacacaaa ttttagata caataacaga 10620

acacatgggtg gaggtacctg tcattacagc agacggtgaa gtttacataa ggaatgggtca 10680

gaggggtagt ggccaacccg acacaagtgc tggtaatagt atgttgatg tcctaaccat 10740

gatatatgct ttctgtaaaa gtacaggcat accttacagg ggattcagca gagtggcaag 10800

aatccatgtg tgtggtgatg atggcttttt gataacagag agaggactgg gactgaaatt 10860

ctctgagaag ggtatgcaga tattacatga ggccgggaag cccagaaaa taactgaagg 10920

ggacaaaatg aaagtggcat acagattcga ggacatagag tttgttccc atactcccg 10980

gccagtcaga tgggcagata acaccagtag ttacatggca gggaggagca cagccactat 11040

actagctaag atggcaacca ggctggattc cagcggagag aggggtagca cagcttatga 11100

gaaggccgta gccttcagct tccttttgat gtactcatgg aatcccgtag ttagaaggat 11160

ctgcttactg gtgtgtcac agtttcaga aatatccca tccaaaaa caataacta 11220

ctaccaaggg gatcccatag ctgcgtacag agaagtgata gggaaacagc tgtgtgaact 11280

gaaaagaaca ggatttgaga agctggctgg tctgaatttg agtatgacca ctctaggcat 11340

ctggacaaaa catactagta aaagactaat ccaagcctgt gtagaaatag gtaagagaga 11400

aggtacctgg ttagttaatg ctgacagact gattgcagga aagactggga agttttacat 11460

cccaagcact ggtgtcactc tgttgggaaa aactatgag gaaattaact taaagcaaaa 11520

ggcggcacia ccgccgatag agggggttga cagatataag ttgggccca tagttaatgt 11580

tatcttgaga aggtgaggg tgatgctgat gacagttgcc agcggaagct ggtgaatccg 11640

tccggagcgt cgigccctca ctcaaggttt ttaattgtaa atattgtaaa tagacagcta 11700

agatatattat tgiagtigga tagtaatgca gtgatagtaa atacccaat ttaacactac 11760

ctccaatgca ctaagcactt tagctgtgtg aggttaactc gacgtccacg gttggactag 11820

ggaagacctc taacagcccc 11840

<210> 12 <211> 3749 <212> PRT <213> Artificial sequence:XIKE-C-NdN <400> 12

Met Glu Leu Phe Ser Asp Glu Gly Ser Lys Gly Ala Thr Ser Lys Lys
1 5 10 15

Gln Pro Lys Pro Asp Arg Ile Glu Lys Gly Lys Met Lys Ile Ala Pro
20 25 30

Lys Glu Thr Glu Lys Asp Cys Lys Thr Arg Pro Pro Asp Ala Thr Ile
35 40 45

Val Val Glu Gly Val Lys Tyr Gln Val Lys Lys Lys Gly Lys Val Arg
50 55 60

Gly Lys Asn Thr Gln Asp Gly Leu Tyr His Asn Lys Asn Lys Pro Pro
65 70 75 80

Glu Ser Arg Lys Lys Leu Glu Lys Ala Leu Leu Ala Trp Ala Ile Leu
85 90 95

Ala Ala Val Leu Leu Gln Leu Val Thr Gly Glu Asn Ile Thr Gln Trp
100 105 110

Asn Leu Met Asp Asn Gly Thr Glu Gly Ile Gln Gln Ala Met Phe Leu
115 120 125

Arg Gly Val Asn Arg Ser Leu Leu Gly Ile Trp Pro Glu Lys Ile Cys
130 135 140

Thr Gly Val Pro Thr His Leu Ala Thr Asp Tyr Glu Leu Lys Glu Ile
145 150 155 160

Val Gly Met Met Asp Ala Ser Glu Lys Thr Asn Tyr Thr Cys Cys Arg
165 170 175

Leu Gln Arg His Glu Trp Asn Lys His Gly Trp Cys Asn Trp Phe His
180 185 190

Ile Glu Pro Trp Ile Trp Leu Met Asn Lys Thr Gln Asn Asn Leu Thr
195 200 205

Glu Gly Gln Pro Leu Arg Glu Cys Ala Val Thr Cys Arg Tyr Asp Lys
210 215 220

Glu Thr Glu Leu Asn Ile Val Thr Gln Ala Arg Asp Arg Pro Thr Thr
225 230 235 240

Leu Thr Gly Cys Lys Lys Gly Lys Asn Phe Ser Phe Ala Gly Val Ile
245 250 255

Leu Asp Gly Pro Cys Asn Phe Lys Val Ser Val Glu Asp Val Leu Phe
260 265 270

Lys Glu His Asp Cys Gly Asn Met Leu Gln Glu Thr Ala Ile Gln Leu
275 280 285

Leu Asp Gly Ala Thr Asn Thr Ile Glu Gly Ala Arg Val Gly Thr Ala
290 295 300

Lys Leu Thr Thr Trp Leu Gly Lys Gln Leu Gly Ile Leu Gly Lys Lys
305 310 315 320

Leu Glu Asn Lys Ser Lys Ala Trp Phe Gly Ala His Ala Ala Ser Pro
325 330 335

Tyr Cys Gly Val Glu Arg Lys Ile Gly Tyr Val Trp Tyr Thr Lys Asn
340 345 350

Cys Thr Pro Ala Cys Leu Pro Arg Asn Thr Arg Ile Ile Gly Pro Gly
355 360 365

Lys Phe Asp Thr Asn Ala Glu Asp Gly Lys Ile Leu His Glu Met Gly
370 375 380

Gly His Leu Ser Glu Phe Val Leu Leu Ser Leu Val Val Leu Ser Asp
385 390 395 400

Phe Ala Pro Glu Thr Ala Ser Val Ile Tyr Leu Val Leu His Phe Ala
405 410 415

Ile Pro Gln Ser His Val Asp Val Asp Thr Cys Asp Lys Asn Gln Leu
420 425 430

Asn Leu Thr Val Ala Thr Thr Val Ala Glu Val Ile Pro Gly Thr Val
435 440 445

Trp Asn Leu Gly Lys Tyr Val Cys Ile Arg Pro Asp Trp Trp Pro Tyr
450 455 460

Glu Thr Thr Thr Val Phe Val Ile Glu Glu Ala Gly Gln Val Ile Lys
465 470 475 480

Leu Met Leu Arg Ala Ile Arg Asp Leu Thr Arg Ile Trp Asn Ala Ala
485 490 495

Thr Thr Thr Ala Phe Leu Ile Phe Leu Val Lys Ala Leu Arg Gly Gln
500 505 510

Leu Ile Gln Gly Leu Leu Trp Leu Met Leu Ile Thr Gly Ala Gln Gly
515 520 525

Phe Pro Glu Cys Lys Glu Gly Phe Gln Tyr Ala Ile Ser Lys Asp Arg
530 535 540

Lys Met Gly Leu Leu Gly Pro Glu Ser Leu Thr Thr Thr Trp His Leu
545 550 555 560

Pro Thr Lys Lys Ile Val Asp Ser Met Val His Val Trp Cys Glu Gly
565 570 575

Lys Asp Leu Lys Ile Leu Lys Met Cys Thr Lys Glu Glu Arg Tyr Leu
580 585 590

Val Ala Val His Glu Arg Ala Leu Ser Thr Ser Ala Glu Phe Met Gln
595 600 605

Ile Ser Asp Gly Thr Ile Gly Pro Asp Val Ile Asp Met Pro Asp Asp
610 615 620

Phe Glu Phe Gly Leu Cys Pro Cys Asp Ser Lys Pro Val Ile Lys Gly
625 630 635 640

Lys Phe Asn Ala Ser Leu Leu Asn Gly Pro Ala Phe Gln Met Val Cys
645 650 655

Pro Gln Gly Trp Thr Gly Thr Ile Glu Cys Thr Leu Ala Asn Gln Asp
660 665 670

Thr Leu Asp Thr Thr Val Ile Arg Thr Tyr Arg Arg Thr Thr Pro Phe
675 680 685

Gln Arg Arg Lys Trp Cys Thr Tyr Glu Lys Ile Ile Gly Glu Asp Ile
690 695 700

Tyr Glu Cys Ile Leu Gly Gly Asn Trp Thr Cys Ile Thr Gly Asp His
705 710 715 720

Ser Arg Leu Lys Asp Gly Pro Ile Lys Lys Cys Lys Trp Cys Gly His
725 730 735

Asp Phe Val Asn Ser Glu Gly Leu Pro His Tyr Pro Ile Gly Lys Cys
740 745 750

Met Leu Ile Asn Glu Ser Gly Tyr Arg Tyr Val Asp Asp Thr Ser Cys
755 760 765

Asp Arg Gly Gly Val Ala Ile Val Pro Ser Gly Thr Val Lys Cys Arg
770 775 780

Ile Gly Asn Val Thr Val Gln Val Ile Ala Thr Asn Asn Asp Leu Gly
785 790 795 800

Pro Met Pro Cys Ser Pro Ala Glu Val Ile Ala Ser Glu Gly Pro Val
805 810 815

Glu Lys Thr Ala Cys Thr Phe Asn Tyr Ser Arg Thr Leu Pro Asn Lys
820 825 830

Tyr Tyr Glu Pro Arg Asp Arg Tyr Phe Gln Gln Tyr Met Leu Lys Gly
835 840 845

Glu Trp Gln Tyr Trp Phe Asp Leu Asp Ser Val Asp His His Lys Asp
850 855 860

Tyr Phe Ser Glu Phe Ile Ile Ile Ala Val Val Ala Leu Leu Gly Gly
865 870 875 880

Lys Tyr Val Leu Trp Leu Leu Ile Thr Tyr Thr Ile Leu Ser Glu Gln
885 890 895

Met Ala Met Gly Ala Gly Val Asn Thr Glu Glu Ile Val Met Ile Gly
900 905 910

Asn Leu Leu Thr Asp Ser Asp Ile Glu Val Val Val Tyr Phe Leu Leu
915 920 925

Leu Tyr Leu Ile Val Lys Glu Glu Leu Ala Arg Lys Trp Ile Ile Leu
930 935 940

Val Tyr His Ile Leu Val Ala Asn Pro Met Lys Thr Ile Gly Val Val
945 950 955 960

Leu Leu Met Leu Gly Gly Val Val Lys Ala Ser Arg Ile Asn Ala Asp
965 970 975

Asp Gln Ser Ala Met Asp Pro Cys Phe Leu Leu Val Thr Gly Val Val
980 985 990

Ala Val Leu Met Ile Ala Arg Arg Glu Pro Ala Thr Leu Pro Leu Ile
995 1000 1005

Val Ala Leu Leu Ala Ile Arg Thr Ser Gly Phe Leu Leu Pro Ala
1010 1015 1020

Ser Ile Asp Val Thr Val Ala Val Val Leu Ile Val Leu Leu Leu
1025 1030 1035

Ala Ser Tyr Ile Thr Asp Tyr Phe Arg Tyr Lys Lys Trp Leu Gln
1040 1045 1050

Leu Leu Phe Ser Leu Ile Ala Gly Ile Phe Ile Ile Arg Ser Leu
1055 1060 1065

Lys His Ile Asn Gln Met Glu Val Pro Glu Ile Ser Met Pro Ser
1070 1075 1080

Trp Arg Pro Leu Ala Leu Val Leu Phe Tyr Ile Thr Ser Thr Ala
1085 1090 1095

Ile Thr Thr Asn Trp Asp Ile Asp Leu Ala Gly Phe Leu Leu Gln
1100 1105 1110

Trp Ala Pro Ala Val Ile Met Met Ala Thr Met Trp Ala Asp Phe
1115 1120 1125

Leu Thr Leu Ile Ile Val Leu Pro Ser Tyr Glu Leu Ser Lys Leu
1130 1135 1140

Tyr Phe Leu Lys Asn Val Arg Thr Asp Val Glu Lys Asn Trp Leu
1145 1150 1155

Gly Lys Val Lys Tyr Arg Gln Ile Ser Ser Val Tyr Asp Ile Cys
1160 1165 1170

Asp Ser Glu Glu Ala Val Tyr Leu Phe Pro Ser Arg His Lys Ser
1175 1180 1185

Gly Ser Arg Pro Asp Phe Ile Leu Pro Phe Leu Lys Ala Val Leu
1190 1195 1200

Ile Ser Cys Ile Ser Ser Gln Trp Gln Val Val Tyr Ile Ser Tyr
1205 1210 1215

Leu Ile Leu Glu Ile Thr Tyr Tyr Met His Arg Lys Ile Ile Asp
1220 1225 1230

Glu Val Ser Gly Gly Ala Asn Phe Leu Ser Arg Leu Ile Ala Ala
1235 1240 1245

Ile Ile Glu Leu Asn Trp Ala Ile Asp Asp Glu Glu Cys Lys Gly
1250 1255 1260

Leu Lys Lys Leu Tyr Leu Leu Ser Gly Arg Ala Lys Asn Leu Ile
1265 1270 1275

Val Lys His Lys Val Arg Asn Glu Ala Val His Arg Trp Phe Gly
1280 1285 1290

Glu Glu Glu Ile Tyr Gly Ala Pro Lys Val Ile Thr Ile Ile Lys
1295 1300 1305

Ala Ser Thr Leu Ser Lys Asn Arg His Cys Ile Ile Cys Thr Ile
1310 1315 1320

Cys Glu Gly Lys Glu Trp Asn Gly Ala Asn Cys Pro Lys Cys Gly
1325 1330 1335

Arg Gln Gly Lys Pro Ile Thr Cys Gly Met Thr Leu Ala Asp Phe
1340 1345 1350

Glu Glu Lys His Tyr Lys Lys Ile Phe Ile Arg Glu Glu Ser Ser
1355 1360 1365

Cys Pro Val Pro Phe Asp Pro Ser Cys His Cys Asn Tyr Phe Arg
1370 1375 1380

His Asp Gly Pro Phe Arg Lys Glu Tyr Lys Gly Tyr Val Gln Tyr
1385 1390 1395

Thr Ala Arg Gly Gln Leu Phe Leu Arg Asn Leu Pro Ile Leu Ala
1400 1405 1410

Thr Lys Met Lys Leu Leu Met Val Gly Asn Leu Gly Ala Glu Ile
1415 1420 1425

Gly Asp Leu Glu His Leu Gly Trp Val Leu Arg Gly Pro Ala Val

1430 1435 1440

Cys Lys Lys Ile Thr Asn His Glu Lys Cys His Val Asn Ile Met
1445 1450 1455

Asp Lys Leu Thr Ala Phe Phe Gly Ile Met Pro Arg Gly Thr Thr
1460 1465 1470

Pro Arg Ala Pro Val Arg Phe Pro Thr Ala Leu Leu Lys Val Arg
1475 1480 1485

Arg Gly Leu Glu Thr Gly Trp Ala Tyr Thr His Gln Gly Gly Ile
1490 1495 1500

Ser Ser Val Asp His Val Thr Ala Gly Lys Asp Leu Leu Val Cys
1505 1510 1515

Asp Ser Met Gly Arg Thr Arg Val Val Cys His Ser Asn Asn Lys
1520 1525 1530

Met Thr Asp Glu Thr Glu Tyr Gly Ile Lys Thr Asp Ser Gly Cys
1535 1540 1545

Pro Glu Gly Ala Arg Cys Tyr Val Leu Asn Pro Glu Ala Val Asn
1550 1555 1560

Ile Ser Gly Thr Lys Gly Ala Met Val His Leu Gln Lys Thr Gly
1565 1570 1575

Gly Glu Phe Thr Cys Val Thr Ala Ser Gly Thr Pro Ala Phe Phe
1580 1585 1590

Asp Leu Lys Asn Leu Lys Gly Trp Ser Gly Leu Pro Ile Phe Glu
1595 1600 1605

Ala Ser Ser Gly Arg Val Val Gly Arg Val Lys Val Gly Lys Asn
1610 1615 1620

Glu Asp Ser Lys Pro Thr Lys Leu Met Ser Gly Ile Gln Thr Val
1625 1630 1635

Ser Lys Asn Gln Thr Asp Leu Ala Asp Ile Val Lys Lys Leu Thr
1640 1645 1650

Ser Met Asn Arg Gly Glu Phe Lys Gln Ile Thr Leu Ala Thr Gly
1655 1660 1665

Ala Gly Lys Thr Thr Glu Leu Pro Arg Ser Val Ile Glu Glu Ile
1670 1675 1680

Gly Arg His Lys Arg Val Leu Val Leu Ile Pro Leu Arg Ala Ala
1685 1690 1695

Ala Glu Ser Val Tyr Gln Tyr Met Arg Val Lys Tyr Pro Ser Ile
1700 1705 1710

Ser Phe Asn Leu Arg Ile Gly Asp Met Lys Glu Gly Asp Met Ala
1715 1720 1725

Thr Gly Ile Thr Tyr Ala Ser Tyr Gly Tyr Phe Cys Gln Leu Pro
1730 1735 1740

Gln Pro Lys Leu Arg Ala Ala Met Val Glu Tyr Ser Tyr Ile Phe
1745 1750 1755

Leu Asp Glu Tyr His Cys Ala Thr Pro Glu Gln Leu Ala Ile Ile
1760 1765 1770

Gly Lys Ile His Arg Phe Ala Glu Asn Leu Arg Val Val Ala Met
1775 1780 1785

Thr Ala Thr Pro Ala Gly Thr Val Thr Thr Thr Gly Gln Lys His
1790 1795 1800

Pro Ile Glu Glu Phe Ile Ala Pro Glu Val Met Lys Gly Glu Asp
1805 1810 1815

Leu Gly Ser Glu Tyr Leu Asp Ile Ala Gly Leu Lys Ile Pro Thr
1820 1825 1830

Glu Glu Met Lys Gly Asn Met Leu Val Phe Ala Pro Thr Arg Asn
1835 1840 1845

Met Ala Val Glu Thr Ala Lys Lys Leu Lys Ala Lys Gly Tyr Asn
1850 1855 1860

Ser Gly Tyr Tyr Tyr Ser Gly Glu Asn Pro Glu Asn Leu Arg Val
1865 1870 1875

Val Thr Ser Gln Ser Pro Tyr Val Val Val Ala Thr Asn Ala Ile
1880 1885 1890

Glu Ser Gly Val Thr Leu Pro Asp Leu Asp Thr Val Val Asp Thr
1895 1900 1905

Gly Leu Lys Cys Glu Lys Arg Val Arg Ile Ser Ser Lys Met Pro
1910 1915 1920

Phe Ile Val Thr Gly Leu Lys Arg Met Ala Val Thr Ile Gly Glu
1925 1930 1935

Gln Ala Gln Arg Arg Gly Arg Val Gly Arg Val Lys Pro Gly Arg
1940 1945 1950

Tyr Tyr Arg Ser Gln Glu Thr Ala Ser Gly Ser Lys Asp Tyr His

1955

1960

1965

Tyr Asp Leu Leu Gln Ala Gln Arg Tyr Gly Ile Glu Asp Gly Ile
1970 1975 1980

Asn Val Thr Lys Ser Phe Arg Glu Met Asn Tyr Asp Trp Ser Leu
1985 1990 1995

Tyr Glu Glu Asp Ser Leu Met Ile Thr Gln Leu Glu Val Leu Asn
2000 2005 2010

Asn Leu Leu Ile Ser Glu Asp Leu Pro Ala Ala Val Lys Asn Ile
2015 2020 2025

Met Ala Arg Thr Asp His Pro Glu Pro Ile Gln Leu Ala Tyr Asn
2030 2035 2040

Ser Tyr Glu Asn Gln Ile Pro Val Leu Phe Pro Lys Ile Lys Asn
2045 2050 2055

Gly Glu Val Thr Asp Ser Tyr Glu Asn Tyr Thr Tyr Leu Asn Ala
2060 2065 2070

Arg Lys Leu Gly Glu Asp Val Pro Ala Tyr Val Tyr Ala Thr Glu
2075 2080 2085

Asp Glu Asp Leu Ala Val Asp Leu Leu Gly Met Asp Trp Pro Asp
2090 2095 2100

Pro Gly Asn Gln Gln Val Val Glu Thr Gly Arg Ala Leu Lys Gln
2105 2110 2115

Val Thr Gly Leu Ser Thr Ala Glu Asn Ala Leu Leu Ile Ala Leu
2120 2125 2130

Phe Gly Tyr Val Gly Tyr Gln Thr Leu Ser Lys Arg His Ile Pro
2135 2140 2145

Met Ile Thr Asp Ile Tyr Thr Leu Glu Asp His Arg Leu Glu Asp
2150 2155 2160

Thr Thr His Leu Gln Phe Ala Pro Asn Ala Ile Arg Thr Asp Gly
2165 2170 2175

Lys Asp Ser Glu Leu Lys Glu Leu Ala Val Gly Asp Leu Asp Lys
2180 2185 2190

Tyr Val Asp Ala Leu Val Asp Tyr Ser Lys Gln Gly Met Lys Phe
2195 2200 2205

Ile Lys Val Gln Ala Glu Lys Val Arg Asp Ser Gln Ser Thr Lys
2210 2215 2220

Glu Gly Leu Gln Thr Ile Lys Glu Tyr Val Asp Lys Phe Ile Gln
2225 2230 2235

Ser Leu Thr Glu Asn Lys Glu Glu Ile Ile Arg Tyr Gly Leu Trp
2240 2245 2250

Gly Val His Thr Ala Leu Tyr Lys Ser Leu Ala Ala Arg Leu Gly
2255 2260 2265

His Glu Thr Ala Phe Ala Thr Leu Val Val Lys Trp Leu Ala Phe
2270 2275 2280

Gly Gly Glu Thr Val Ser Ala His Ile Lys Gln Val Ala Val Asp
2285 2290 2295

Leu Val Val Tyr Tyr Ile Ile Asn Lys Pro Ser Phe Pro Gly Asp
2300 2305 2310

Thr Glu Thr Gln Gln Glu Gly Arg Arg Phe Val Ala Ser Leu Phe
2315 2320 2325

Ile Ser Ala Leu Ala Thr Tyr Thr Tyr Lys Thr Trp Asn Tyr Asn
2330 2335 2340

Asn Leu Gln Arg Val Val Glu Pro Ala Leu Ala Tyr Leu Pro Tyr
2345 2350 2355

Ala Thr Ser Ala Leu Lys Leu Phe Thr Pro Thr Arg Leu Glu Ser
2360 2365 2370

Val Val Ile Leu Ser Ser Thr Ile Tyr Lys Thr Tyr Leu Ser Ile
2375 2380 2385

Arg Lys Gly Lys Ser Asp Gly Leu Leu Gly Thr Gly Ile Ser Ala
2390 2395 2400

Ala Met Glu Ile Leu Asn Gln Asn Pro Ile Ser Val Gly Ile Ser
2405 2410 2415

Val Met Leu Gly Val Gly Ala Ile Ala Ala His Asn Ala Ile Glu
2420 2425 2430

Ser Ser Glu Gln Lys Arg Thr Leu Leu Met Lys Val Phe Val Lys
2435 2440 2445

Asn Phe Leu Asp Gln Ala Ala Thr Asp Glu Leu Val Lys Glu Asn
2450 2455 2460

Pro Glu Lys Ile Ile Met Ala Leu Phe Glu Ala Val Gln Thr Ile
2465 2470 2475

Gly Asn Pro Leu Arg Leu Ile Tyr His Leu Tyr Gly Val Tyr Tyr

2480 2485 2490

Lys Gly Trp Glu Ala Lys Glu Leu Ala Glu Lys Thr Ala Gly Arg
2495 2500 2505

Asn Leu Phe Thr Leu Ile Met Phe Glu Ala Phe Glu Leu Leu Gly
2510 2515 2520

Met Asp Ser Glu Gly Lys Ile Arg Asn Leu Ser Gly Asn Tyr Ile
2525 2530 2535

Leu Asp Leu Ile Phe Asn Leu His Asn Lys Leu Asn Lys Gly Leu
2540 2545 2550

Lys Lys Leu Val Leu Gly Trp Ala Pro Ala Pro Leu Ser Cys Asp
2555 2560 2565

Trp Thr Pro Ser Asp Glu Arg Ile Ser Leu Pro His Asn Asn Tyr
2570 2575 2580

Leu Arg Val Glu Thr Arg Cys Pro Cys Gly Tyr Glu Met Lys Ala
2585 2590 2595

Ile Lys Asn Val Ala Gly Lys Leu Thr Lys Val Glu Glu Lys Gly
2600 2605 2610

Ser Phe Leu Cys Arg Asn Arg Leu Gly Arg Gly Pro Pro Asn Phe
2615 2620 2625

Lys Val Thr Lys Phe Tyr Asp Asp Asn Leu Ile Glu Val Lys Pro
2630 2635 2640

Val Ala Arg Leu Glu Gly Gln Val Asp Leu Tyr Tyr Lys Gly Val
2645 2650 2655

Thr Ala Lys Leu Asp Tyr Asn Asn Gly Lys Val Leu Leu Ala Thr
2660 2665 2670

Asn Lys Trp Glu Val Asp His Ala Phe Leu Thr Arg Leu Val Lys
2675 2680 2685

Lys His Thr Gly Ile Gly Phe Lys Gly Ala Tyr Leu Gly Asp Arg
2690 2695 2700

Pro Asp His Gln Asp Leu Val Asp Arg Asp Cys Ala Thr Ile Thr
2705 2710 2715

Lys Asn Ser Val Gln Phe Leu Lys Met Lys Lys Gly Cys Ala Phe
2720 2725 2730

Thr Tyr Asp Leu Thr Ile Ser Asn Leu Val Arg Leu Ile Glu Leu
2735 2740 2745

Val His Lys Asn Asn Leu Gln Glu Arg Glu Ile Pro Thr Val Thr
2750 2755 2760

Val Thr Thr Trp Leu Ala Tyr Ser Phe Val Asn Glu Asp Leu Gly
2765 2770 2775

Thr Ile Lys Pro Val Leu Gly Glu Lys Val Ile Pro Glu Pro Pro
2780 2785 2790

Glu Glu Leu Ser Leu Gln Pro Thr Val Arg Leu Val Thr Thr Glu
2795 2800 2805

Thr Ala Ile Thr Ile Thr Gly Glu Ala Glu Val Met Thr Thr Gly
2810 2815 2820

Ile Thr Pro Val Val Glu Met Lys Glu Glu Pro Gln Leu Asp His
2825 2830 2835

Gln Ser Thr Thr Leu Lys Val Gly Leu Lys Glu Gly Glu Tyr Pro
2840 2845 2850

Gly Pro Gly Val Asn Pro Asn His Leu Ala Glu Val Ile Asp Glu
2855 2860 2865

Lys Asp Asp Arg Pro Phe Val Leu Ile Ile Gly Asn Lys Gly Ser
2870 2875 2880

Thr Ser Asn Arg Ala Arg Thr Ala Lys Asn Ile Arg Leu Tyr Lys
2885 2890 2895

Gly Asn Asn Pro Arg Glu Ile Arg Asp Leu Met Ser Gln Gly Arg
2900 2905 2910

Ile Leu Thr Val Ala Leu Lys Glu Leu Asp Pro Glu Leu Lys Glu
2915 2920 2925

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

Ala Leu Ser Leu Gly Lys Pro Ile Lys Arg Lys Thr Thr Thr Ala
2945 2950 2955

Met Ile Arg Arg Leu Ile Glu Pro Glu Val Glu Glu Glu Leu Pro
2960 2965 2970

Asp Trp Phe Gln Ala Glu Glu Pro Leu Phe Leu Glu Ala Lys Ile
2975 2980 2985

Gln Asn Asp Leu Tyr His Leu Ile Gly Ser Val Asp Ser Ile Lys
2990 2995 3000

Ser Lys Ala Lys Glu Leu Gly Ala Thr Asp Asn Thr Lys Ile Val

3005

3010

3015

Lys Glu Val Gly Ala Arg Thr Tyr Thr Met Lys Leu Ser Ser Trp
3020 3025 3030

Ser Thr Gln Val Thr Lys Lys Gln Met Ser Leu Ala Pro Leu Phe
3035 3040 3045

Glu Glu Leu Leu Leu Lys Cys Pro Pro Cys Ser Lys Ile Ser Lys
3050 3055 3060

Gly His Met Val Ser Ala Tyr Gln Leu Ala Gln Gly Asn Trp Glu
3065 3070 3075

Pro Leu Gly Cys Gly Val Tyr Met Gly Thr Ile Pro Ala Arg Arg
3080 3085 3090

Leu Lys Ile His Pro Tyr Glu Ala Tyr Leu Lys Leu Lys Glu Leu
3095 3100 3105

Val Glu Val Glu Ser Ser Arg Ala Thr Ala Lys Glu Ser Ile Ile
3110 3115 3120

Arg Glu His Asn Thr Trp Ile Leu Arg Lys Val Arg His Glu Gly
3125 3130 3135

Asn Leu Arg Thr Lys Ser Met Ile Asn Pro Gly Lys Ile Ser Asp
3140 3145 3150

Gln Leu Cys Arg Asp Gly His Lys Arg Asn Ile Tyr Asn Lys Ile
3155 3160 3165

Ile Gly Ser Thr Met Ala Ser Ala Gly Ile Arg Leu Glu Lys Leu
3170 3175 3180

Pro Val Val Arg Ala Gln Thr Asp Thr Thr Ser Phe His Gln Ala
3185 3190 3195

Ile Arg Glu Lys Ile Asp Lys Thr Glu Asn Lys Gln Thr Pro Glu
3200 3205 3210

Leu His Glu Glu Leu Met Lys Val Phe Asp Cys Leu Lys Ile Pro
3215 3220 3225

Glu Leu Lys Glu Ser Tyr Asp Glu Val Ser Trp Glu Gln Leu Glu
3230 3235 3240

Ala Gly Ile Asn Arg Lys Gly Ala Ala Gly Tyr Leu Glu Ser Lys
3245 3250 3255

Asn Ile Gly Glu Val Leu Asp Thr Glu Lys His Ile Val Glu Gln
3260 3265 3270

Leu Ile Lys Asp Leu Arg Lys Gly Lys Lys Ile Arg Tyr Tyr Glu
3275 3280 3285

Thr Ala Ile Pro Lys Asn Glu Lys Arg Asp Val Ser Asp Asp Trp
3290 3295 3300

Glu Ala Gly Glu Phe Val Asp Glu Lys Lys Pro Arg Val Ile Gln
3305 3310 3315

Tyr Pro Asp Ala Lys Val Arg Leu Ala Ile Thr Lys Val Met Tyr
3320 3325 3330

Lys Trp Val Lys Gln Lys Pro Val Val Ile Pro Gly Tyr Glu Gly
3335 3340 3345

Lys Thr Pro Leu Phe Asp Ile Phe Asn Lys Val Lys Lys Glu Trp
3350 3355 3360

Asp Ser Phe Gln Asp Pro Val Ala Val Ser Phe Asp Thr Lys Ala
3365 3370 3375

Trp Asp Thr Gln Val Thr Ser Arg Asp Leu Met Leu Ile Lys Asp
3380 3385 3390

Ile Gln Lys Tyr Tyr Phe Lys Arg Ser Ile His Lys Phe Leu Asp
3395 3400 3405

Thr Ile Thr Glu His Met Val Glu Val Pro Val Ile Thr Ala Asp
3410 3415 3420

Gly Glu Val Tyr Ile Arg Asn Gly Gln Arg Gly Ser Gly Gln Pro
3425 3430 3435

Asp Thr Ser Ala Gly Asn Ser Met Leu Asn Val Leu Thr Met Ile
3440 3445 3450

Tyr Ala Phe Cys Lys Ser Thr Gly Ile Pro Tyr Arg Gly Phe Ser
3455 3460 3465

Arg Val Ala Arg Ile His Val Cys Gly Asp Asp Gly Phe Leu Ile
3470 3475 3480

Thr Glu Arg Gly Leu Gly Leu Lys Phe Ser Glu Lys Gly Met Gln
3485 3490 3495

Ile Leu His Glu Ala Gly Lys Pro Gln Lys Ile Thr Glu Gly Asp
3500 3505 3510

Lys Met Lys Val Ala Tyr Arg Phe Glu Asp Ile Glu Phe Cys Ser
3515 3520 3525

His Thr Pro Val Pro Val Arg Trp Ala Asp Asn Thr Ser Ser Tyr

3530 3535 3540

Met Ala Gly Arg Ser Thr Ala Thr Ile Leu Ala Lys Met Ala Thr
3545 3550 3555

Arg Leu Asp Ser Ser Gly Glu Arg Gly Ser Thr Ala Tyr Glu Lys
3560 3565 3570

Ala Val Ala Phe Ser Phe Leu Leu Met Tyr Ser Trp Asn Pro Val
3575 3580 3585

Val Arg Arg Ile Cys Leu Leu Val Leu Ser Gln Phe Pro Glu Ile
3590 3595 3600

Ser Pro Ser Lys Asn Thr Ile Tyr Tyr Tyr Gln Gly Asp Pro Ile
3605 3610 3615

Ala Ala Tyr Arg Glu Val Ile Gly Lys Gln Leu Cys Glu Leu Lys
3620 3625 3630

Arg Thr Gly Phe Glu Lys Leu Ala Gly Leu Asn Leu Ser Met Thr
3635 3640 3645

Thr Leu Gly Ile Trp Thr Lys His Thr Ser Lys Arg Leu Ile Gln
3650 3655 3660

Ala Cys Val Glu Ile Gly Lys Arg Glu Gly Thr Trp Leu Val Asn
3665 3670 3675

Ala Asp Arg Leu Ile Ala Gly Lys Thr Gly Lys Phe Tyr Ile Pro
3680 3685 3690

Ser Thr Gly Val Thr Leu Leu Gly Lys His Tyr Glu Glu Ile Asn
3695 3700 3705

Leu Lys Gln Lys Ala Ala Gln Pro Pro Ile Glu Gly Val Asp Arg
 3710 3715 3720

Tyr Lys Leu Gly Pro Ile Val Asn Val Ile Leu Arg Arg Leu Arg
 3725 3730 3735

Val Met Leu Met Thr Val Ala Ser Gly Ser Trp
 3740 3745