



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년04월26일

(11) 등록번호 10-2389908

(24) 등록일자 2022년04월19일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/18 (2006.01) **A61K 31/713** (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01) **A61K 39/12** (2006.01)
A61K 39/295 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 14/1825 (2013.01)
A61K 31/713 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-7029897
- (22) 출원일자(국제) 2014년03월12일
 심사청구일자 2019년03월12일
- (85) 번역문제출일자 2015년10월15일
- (65) 공개번호 10-2016-0002780
- (43) 공개일자 2016년01월08일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2014/024603
- (87) 국제공개번호 WO 2014/150939
 국제공개일자 2014년09월25일
- (30) 우선권주장
 61/800,204 2013년03월15일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
 WO2001060847 A2*
 HUANG C Y-H et al., JOURNAL OF VIROLOGY, vol.
 77, no. 21, (2003-11-01), pages 11436-11447
 KR1020080018271 A
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
 다케다 백신즈 인코포레이티드
 미국 매사추세츠주 02139 캄브리지 시드니 스트리트 75
 더 거버먼트 오브 더 유나이티드 스테이츠 오브
 어메리카 애즈 레프리젠티드 바이 더 세크러터리
 오브 더 디파트먼트 오브 헬스 앤드 휴먼 서비스즈
 미국 조지아주 30341 애틀랜타 메일스톱 케이-79
 뷰포드 하이웨이 4770
- (72) 발명자
 스티븐치콧 단 티.
 미국 콜로라도주 80528 포트 콜린스 카운티 로드
 3 8409
 키니 클레이어
 미국 콜로라도주 80526 포트 콜린스 브룸바 درا
 이브 2914
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
 특허법인태평양

전체 청구항 수 : 총 17 항

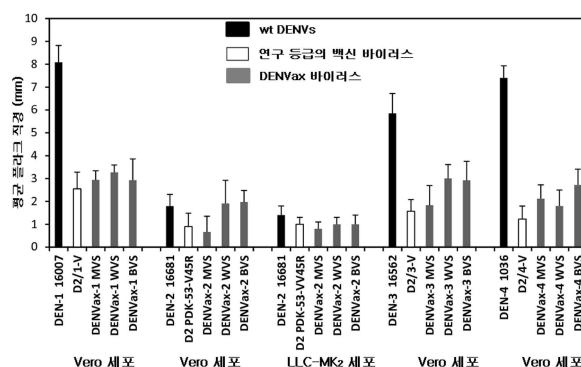
심사관 : 문명순

(54) 발명의 명칭 백신 내의 뎅기 바이러스 키메라 구조체를 위한 조성물 및 방법

(57) 요약

본 발명에서 구현에는 뎅기 바이러스 구조체 및 생약독화 뎅기 바이러스의 조성물, 용도 및 제조방법을 제공한다. 일부 구현에는 4가 뎅기 바이러스 조성물을 포함하는 조성물에 관한 것이지만, 이에 한정되지 아니한다. 어떤 구현예에서, 조성물은 하나 이상의 뎅기 바이러스 혈청형, 예컨대 뎅기-1(DEN-1) 바이러스, 뎅기-

(뒷면에 계속)

대표도 - 도6

2(DEN-2) 바이러스, 탱기-3(DEN-3) 또는 탱기-4(DEN-4) 바이러스의 구조체를 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 본 발명에서 개시된 구조체는 포유동물 세포에서 이어서 계대배양될 수 있거나, 될 수 없는 하나 이상의 탱기 바이러스 구조체에 대한 백신을 발생시키기 위해 조성물에 병용될 수 있다.

(52) CPC특허분류

A61K 39/12 (2013.01)

A61K 39/295 (2020.05)

A61K 2039/5254 (2013.01)

A61K 2039/70 (2013.01)

C12N 2770/24122 (2013.01)

C12N 2770/24134 (2013.01)

C12N 2770/24141 (2013.01)

C12N 2770/24143 (2013.01)

C12N 2770/24144 (2013.01)

(72) 발명자

키니 리차드 엠.

미국 콜로라도주 80526 포트 콜린스 브룸바 드라이브
브 2914

리벤굿 질 에이.

미국 콜로라도주 80526 포트 콜린스 햄프셔 코트
2648

명세서

청구범위

청구항 1

변형된 생약독화(live, attenuated) 뎅기-2 바이러스 균주 PDK-53 폴리펩티드 분자를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 분자로서,

상기 폴리뉴클레오티드 분자는 서열번호 4 또는 서열번호 14로 표시되는 폴리뉴클레오티드 분자.

청구항 2

청구항 1에 따른 폴리뉴클레오티드 분자에 의해 암호화되는 폴리펩티드 분자.

청구항 3

청구항 1에 따른 폴리뉴클레오티드 분자로 표시되는 변형된 생약독화 뎅기-2 바이러스 균주 PDK-53.

청구항 4

청구항 1에 따른 폴리뉴클레오티드 분자, 청구항 2에 따른 폴리펩티드 분자, 또는 청구항 3에 따른 뎅기-2 바이러스, 및 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는, 개체 내에서 뎅기바이러스에 대한 면역 반응을 유도하기 위한 약학적 조성물.

청구항 5

청구항 1의 폴리뉴클레오티드 분자를 암호화하는 벡터.

청구항 6

청구항 1에 따른 폴리뉴클레오티드 분자 또는 청구항 5에 따른 벡터를 포함하는 세포.

청구항 7

청구항 1에 따른 폴리뉴클레오티드 분자로 표시되는 변형된 생약독화 뎅기-2 바이러스 균주 PDK-53 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 8

청구항 7에 있어서,

뎅기-1/뎅기-2 키메라 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 분자로 표시되는 뎅기-1/뎅기-2 키메라를 추가로 포함하고, 상기 뎅기-1/뎅기-2 키메라 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 분자는 서열번호 1 또는 서열번호 13으로 표시되는 면역원성 조성물.

청구항 9

청구항 7에 있어서,

뎅기-3/뎅기-2 키메라 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 분자로 표시되는 뎅기-3/뎅기-2 키메라를 추가로 포함하고, 상기 뎅기-3/뎅기-2 키메라 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 분자는 서열번호 7 또는 서열번호 15로 표시되는 면역원성 조성물.

청구항 10

청구항 7에 있어서,

뎅기-4/뎅기-2 키메라 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 분자로 표시되는 뎅기-4/뎅기-2 키메라를 추가로 포함하고, 상기 뎅기-4/뎅기-2 키메라 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 분자는 서열번호 10 또

는 서열번호 16으로 표시되는 면역원성 조성물.

청구항 11

청구항 7에 있어서,

상기 조성물은 4개의 모든 땡기 바이러스 혈청형(serotype)을 함유하는 4가 조성물인 면역원성 조성물.

청구항 12

청구항 11에 있어서,

황열병 바이러스, 진드기매개뇌염 바이러스, 일본 뇌염 바이러스, 웨스트 나일 바이러스, C형 간염 바이러스 및 이들의 둘 이상의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 플라비바이러스에 대한 면역원성 조성물을 추가로 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 13

청구항 1에 따른 폴리뉴클레오티드 분자 및 용기를 포함하는 키트.

청구항 14

청구항 7에 따른 면역원성 조성물 및 용기를 포함하는 키트.

청구항 15

청구항 11에 있어서,

개체 내에서 4개의 모든 땡기 바이러스 혈청형에 대하여 면역 반응을 유도하기 위한 면역원성 조성물.

청구항 16

청구항 5에 있어서,

상기 벡터는 플라스미드 벡터인 벡터.

청구항 17

청구항 5에 있어서,

상기 벡터는 cDNA 감염성 클론인 벡터.

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001]

우선권

[0002]

본 발명은 2013년 3월 15일에 출원된 미국 가출원 제61/800,204호에 대한 우선권을 주장한다. 이 발명은 모든 목적을 위해 개시된 내용 전체가 인용에 의해 본 발명에 포함된다.

[0003]

연방 자금 지원을 받은 연구

[0004]

본 발명에 개시된 일부 구현예는 미국 국립 보건원에서 연구비 번호 R43 AI084291-01에 의해 일부 지원되었다. 미국 정부는 본 발명을 실시하기 위한 특정 권리를 가질 수 있다.

[0005]

분야

[0006] 본 발명에서 구현에는 땡기 바이러스 구조체 및 이의 백신 조성물을 위한 조성물, 방법, 용도 및 제조 방법 순서를 제공한다. 일부 구현에는 단독 또는 백신 조성물에서 사용될 수 있는 다른 구조체와 병용하는 키메라 플라비바이러스 바이러스 구조체를 포함하는 조성물에 관한 것이나, 이에 한정되지 아니한다. 어떤 구현예에서, 조성물은 하나 이상의 땡기 바이러스 혈청형, 예컨대 땡기-1(DEN-1) 바이러스, 땡기-2(DEN-2) 바이러스, 땡기-3(DEN-3) 바이러스 및/또는 땡기-4(DEN-4) 바이러스의 구조체를 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 제조방법 전략은 재조합 생약독화 키메라 땡기 백신(DENVax) 바이러스의 안전성 및 유전적 안정성을 개선할 수 있다. 어떤 구현예는 백신 조성물에서 안전하고 효과적인 것으로 확인된 땡기 바이러스 키메라 구조체와 병용하는 적어도 하나의 생약독화 땡기 바이러스를 포함하고, 상기 구조체는 세포 배양에서 추가적인 계대배양(passage)을 받은 구조체이다.

배경 기술

[0007] 땡기 바이러스에 의한 감염은 다른 중증도의 고통스러운 열을 초래할 수 있다. 지금까지, 4개의 혈청형 땡기 바이러스가 확인되었다: 땡기-1(DEN-1), 땡기-2(DEN-2), 또는 땡기-4(DEN-4)와 병용하는 땡기-3(DEN-3). 땡기열은 땡기 바이러스의 감염에 의해 유발된다. 미래에 다른 아형(subtype)이 발견될 수 있다(예를 들면, DEN-5). 땡기 바이러스 혈청형 1-4는 또한 땡기 출혈열(dengue hemorrhagic fever, DHF) 및 땡기 쇼크 증후군(dengue shock syndrome, DSS)을 유발할 수 있다. 감염, DHF 및 DSS의 가장 심각한 결과는 생명을 위협하는 것일 수 있다. 땡기 바이러스는 매년 50-100 백만 건의 쇠약하게 하는 땡기열, 500,000건의 DHF/DSS 및 20,000명 이상의 사망을 유발한다. 지금까지 땡기열에 대하여 보호하기 위한 효과적인 백신 및 이 질환을 위한 약물 치료는 없다. 모기 제어 노력은 풍토병 영역에서 땡기 발생을 예방하는 것 또는 이 질환의 지리학상 확장을 추가로 예방하는 것에 효과가 없었다. 35억명의 사람들이 땡기 바이러스에 감염에 의해 위협받고 있는 것으로 추정된다. 게다가, 땡기 바이러스는 풍토병 영역, 예컨대 아시아, 중앙 및 남아메리카, 및 카리브해 지역으로의 여행자에게서 열 유발을 초래하고 있다.

[0008] 4개의 모든 땡기 바이러스 혈청형은 세계의 열대 지방 도처에서 풍토병이고, 열대 지방, 세계에서 인간을 위협하는 가장 현저한 모기-매개 바이러스로 여겨진다. 땡기 바이러스는 이집트 숲모기(*Aedes aegypti*)에 의해 1차로 인간에게 전달된다. 하나의 땡기 바이러스 혈청형에 의한 감염은 그 혈청형에 의한 재감염으로부터 일생 동안 보호하지만, 다른 3개의 땡기 바이러스 항원형 중 하나에 의한 2차 감염은 예방하지 못한다. 사실, 하나의 땡기 바이러스 혈청형에 의한 이전의 감염은 다른 혈청형에 의한 2차 감염시 심각한 질환(DHF/DSS)의 증가된 위험을 초래한다. 효과적인 백신의 개발은 이 지구의 발생하는 질환의 예방 및 제어를 위한 중요한 접근법을 나타낸다. 다중 면역화는 땡기 바이러스 풍토병 국가뿐만 아니라 여행자 모두를 위한 공중 보건 노력을 위한 완전한 백신 접종을 어렵게 만든다.

도면의 간단한 설명

[0009] 하기의 도면은 본 명세서의 일부를 구성하고, 어떤 구현예를 추가로 입증하는 것이 포함된다. 일부 구현예는 하나 이상의 이러한 도면 단독 또는 제시된 특정 구현예의 상세한 설명과 병용하여 참조함으로써 더 잘 이해될 수 있다.

도 1은 이전에 발생된 구조체 및 야생형 땡기 바이러스에 비하여 본 발명의 예시적인 키메라 구조체인 DEN-2/DEN-4를 반영하는 예시적인 차트를 나타낸다.

도 2는 생약독화 DEN-2 백신(추가적인 돌연변이가 있는); 및 상기 땡기-2 구조 성분(예를 들면, DENVax-1 MVS)에 대하여 치환된 구조 성분으로서 제2 땡기 바이러스 혈청형;을 이용하여 다양한 반응을 비교한 예시적인 히스토그램 플롯을 나타낸다. 이 플롯은 상기 DENVax MVS의 플라크 사이즈를 예시한다. 야생형 땡기 바이러스 및 이전에 출판된 연구-등급 백신 후보 바이러스가 대조 및 비교를 위해 포함되었다. 이 플롯은 대조군 땡기 바이러스 키메라 구조체에 비하여 상기 땡기 바이러스 구조체의 개선된 생산을 예시한다.

도 3은 DENVax MVS(마스터 바이러스 시드)의 온도 민감성을 나타내는 예시적인 히스토그램 플롯을 나타낸다. 야생형 땡기 바이러스 및 이전에 출판된 연구-등급 백신 후보 바이러스가 상기 MVS 등급과 비교를 위해 포함되었다.

도 4는 대조군에 비하여 C6/36 세포에서 DENVax MVS의 바이러스 성장을 나타내는 예시적인 히스토그램 플롯을 나타낸다. 야생형 땡기 바이러스 및 연구-등급 백신 후보 바이러스가 상기 DENVax MVS와 비교를 위해 포함되었다.

도 5의 A 내지 C는 신생 마우스에서 신경병원성의 예시적인 플롯을 나타낸다. 상기 바이러스 10^4 pfu로 ic 시험된 신생 마우스 CDC-ICR($n=72$) 및 Taconic-ICR($n=32$) 내의 wt DENV-2 16681 바이러스의 신경병원성을 요약하는 몇몇의 실험을 모은 결과(pooled result)(A). 10^4 pfu(B) 또는 10^3 pfu(C)의 투여량으로 Taconic-ICR 마우스에서 시험된 DENVax MVS의 신경병원성. 하나의 실험($n=16$) 또는 2개를 모은 실험(pooled experiment)($n=31$ 또는 32)의 그룹당 시험된 동물의 수가 표시된다.

도 6은 상기 DENVax MVS, WVS, 및 BVS의 플라크 크기를 나타내는 예시적인 히스토그램을 나타낸다. 9pi일에 아가로스 오버레이 하의 Vero 또는 LLC-MK2 세포의 바이러스 플라크의 평균 플라크 직경 $\pm$ SD(오차 막대)을 측정하였다. 야생형 DENV 및 이전에 출판된 연구-등급 백신 후보 바이러스가 대조 및 비교를 위해 포함되었다.

도 7은 대규모 제조방법 후에 이 시험관 내에서 약독화 마커의 그들의 유지를 확인하기 위하여 2개의 배양 온도에서 C6/36 세포에서 DENVax MSV, WVS, 및 BVS의 성장을 나타내는 예시적인 히스토그램 플롯을 나타낸다.

도 8은 C6/36 세포에서 DENVax MVS, WVS, 및 BVS의 제한된 성장을 플롯팅한 예시적인 히스토그램을 나타낸다. 7 일 pi C6/36 세포에서 반복 검증된 상기 바이러스의 평균 역가 $\pm$ SD(오차 막대). 상기 wt 땡기 바이러스 및 이전에 출판된 연구-등급 백신 후보 바이러스가 비교군을 위해 포함되어 있다.

도 9의 A 및 B는 신생 ICR 마우스에서 DENVax MVS의 신경병원성의 데이터의 예시적인 그래프를 나타낸다.

(A) 10^4 PFU의 투여량에서의 상기 바이러스의 IC 접종

(B) 10^3 PFU의 투여량에서의 상기 바이러스의 IC 접종

도 10은 새로운 생약독화 바이러스와 이전에 발생된 생약독화 땡기 바이러스를 비교하는 예시적인 차트를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0010]

본 발명에서 구현에는 키메라 땡기 바이러스 구조체의 조성물, 방법 및 용도에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 조성물은 적어도 하나의 다른 땡기 바이러스 혈청형 유래 구조 유전자와 약독화 땡기 바이러스 백본을 가지는 키메라 땡기 바이러스 구조체를 포함할 수 있다. 다른 구현예는 하나 이상의 키메라 땡기 바이러스와 병용하는 적어도 하나의 생약독화 바이러스에 관한 것이다. 다른 구현예는 변형된 DEN-2 백본(예를 들면, P1(계대배양-1)에서 개시 백본으로 PDK-53, 및 P2, P3, ...P8..P10 등으로 나타내는 바와 같은 계대배양 변이성(허용 세포주(permissive cell line)에서 시험관 내에서 계대배양되고 성장된 후)); 및 하나 이상의 DEN-1, DEN-2, DEN-3 또는 DEN-4의 구조 성분을 가지는 키메라 땡기 바이러스의 조성물을 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 면역원성 조성물은 개체로 도입할 때에 발생되고, 상기 조성물은 개체에서 하나 이상의 땡기 바이러스에 대한 면역 반응을 생산한다. 따라서, 본 발명에서 고려되는 구조체는 시험관 내에서 발생할 수 있고, 계대배양될 수 있으며, 각 계대배양은 약학적으로 허용가능한 백신 조성물에서 이용이 고려되는 약독화 땡기 바이러스를 제공한다. 어떤 구현예에서, 약독화 바이러스는 단독 또는 하나 이상의 키메라 땡기 바이러스와 병용하는 생약독화 땡기-2 바이러스일 수 있다.

[0011]

특정 실시예에서, 땡기 바이러스 혈청형의 키메라 땡기 바이러스 구조체는 서열번호: 1, 4, 7 및 10으로 나타내는 핵산 서열 또는 서열번호: 2, 3, 5, 6, 8, 9, 11 및 12로 나타내는 폴리펩티드 서열을 가지는, 계대배양 7(P7) 생약독화 바이러스 또는 키메라성 바이러스를 포함할 수 있다. 본 발명에서 기재된 임의의 상기 생약독화 바이러스를 위한 임의의 계대배양은 상기 나타난 땡기 바이러스(예를 들면, 혈청형 1-4)에 대한 면역 반응을 유도하기 위한 면역원성 조성물에 사용될 수 있는 것이 본 발명에서 고려된다. 이러한 구현예에 따르면, P-8 분리된 생약독화 바이러스를 포함하는 면역원성 조성물은 상기 선택된 구조체에 따라 하나 이상의 땡기 바이러스 혈청형에 대하여 면역 반응을 유도하기 위하여 개체에 투여될 수 있다. 게다가, 생약독화 바이러스는 하나 이상의 이러한 키메라성 바이러스와 병용될 수 있다. 이것은 각 다음 세포 계대배양(예를 들면, 아프리카 사바나 원숭이 Vero 세포 생산, 이하 'Vero 세포'로 기재함)에서 분리된/생산된 상기 생약독화 바이러스 각각에 대하여 고려된다. 땡기 바이러스를 생산할 수 있는 임의의 세포주(예를 들면, GMP-생산 세포 은행, FDA 또는 EMA-승인된)는 제조 방법 스케일에서 또는 땡기 바이러스에 대한 백신 또는 면역원성 조성물에 다음 이용을 위하여 본 발명에서 적절히 고려되는 것과 같이 임의의 상기 바이러스 구조체를 계대배양하는 것에 유용한 것이 본 발명에서 고려된다.

- [0012] 다른 구현예에서, 본 발명에서 고려된 조성물은 다른 플라비바이러스, 예컨대 웨스트 나일 바이러스, 일본 뇌염 또는 임의의 다른 플라비바이러스 키메라 구조체 및/또는 생약독화 바이러스에 대한 다른 면역원성 조성물과 병용될 수 있다. 어떤 구현예에서, 단독 조성물은 복수의 플라비바이러스에 대하여 사용될 수 있다.
- [0013] 어떤 구현예에서, 본 발명의 면역원성 조성물은 하나 이상의 DEN-1, DEN-2, DEN-3 및/또는 DEN-4에 대한 키메라 뎅기 바이러스, 단독 또는 생약독화 뎅기 바이러스 조성물과 병용하는 것을 포함할 수 있다.
- [0014] 다른 구현예에서, 구조체는 개체로 도입시에, 상기 바이러스의 약독화 또는 안정성에 영향을 미치는 것 없이 성장 또는 생산을 증가시키는 상기 바이러스의 구조 또는 비구조 영역에서 유도적 돌연변이를 가지는 구조체를 포함할 수 있다. 어떤 구현예에서, 임의의 상기 고려된 키메라 뎅기 바이러스 구조체는 백본으로 사용된 특이적 돌연변이를 가지는 생약독화 DEN-2 바이러스를 포함할 수 있고, 상기 생약독화(live, attenuated) DEN-2 PDK 바이러스는 추가로 하나 이상의 prM(premembrane)의 구조 단백질 및 다른 뎅기 바이러스 혈청형의 E(envelope) 구조 단백질을 추가로 포함한다. 게다가, DEN-2 백본은 개체로 투여시 소정의 조성물(예를 들면, 키메라 뎅기 바이러스 2/1, 2/3 또는 2/4)에 대한 면역 반응의 생산을 증가시키거나, 면역 반응을 향상시키기 위하여 추가적인 돌연변이를 포함할 수 있다.
- [0015] 일부 구현예에서, 구조 단백질 유전자는 생약독화 뎅기 바이러스의 일부인 하나 이상의 돌연변이를 가지는 DEN-2 백본에 DEN-1, DEN-2, DEN-3 또는 DEN-4의 유전자의 prM 및 E 유전자를 포함할 수 있다. 예를 들면, 뎅기 구조체는 어떤 구현예에서 DENVax-1-A, DENVax-2-F, DENVax-3-F, 및 DENVax-4-F(실시에 부분 참조)로 일컫는 이러한 구조체를 포함할 수 있고, 상기 DEN-2 백본은 면역 반응을 유도하기 위해 안전하고 효과적인 것으로 이전에 확인된 상기 DEN-2 생약독화 바이러스 유래 하나 이상의 돌연변이(예를 들면, 상기 P1 또는 다른 이전에 계대배양된 바이러스 또는 PDK-53에서 발견되지 않은)를 갖는다. 본 발명의 상기 DEN-2 생약독화 바이러스는 원래의 사용된 DEN-2 생약독화 바이러스의 개선된 버전이다. 본 발명의 키메라 구조체는 상기 제2 뎅기 바이러스 혈청형의 하나 이상의 구조 단백질을 가지는 변형되고 약독화 DEN-2 PDK-53 백본을 포함할 수 있고, 상기 구조 단백질은 상기 키메라 구조체에 대한 면역 반응을 증가시키기 위하여 추가적인 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 약독화 DEN-2 PDK-53에 의해 수득된 특정 돌연변이는 생산 등을 위한 바람직한 특성을 만들 수 있는 상기 P1 구조체와 전혀 다른 구조체에서 보존적 아미노산 변경을 생산하거나 하지 않을 수 있다.
- [0016] 다른 구현예에서, 생약독화 DEN-2 계놈은 뎅기 바이러스 혈청형 1(DEN-1) 및 뎅기 바이러스 혈청형 3(DEN-3), 뎅기 바이러스 혈청형 4(DEN-4)의 구조체를 발생시키기 위하여 사용될 수 있고, 상기 DEN-2 바이러스 계놈의 하나 이상의 구조 단백질 유전자는 DEN-1, DEN-3 또는 DEN-4 각각의 하나 이상의 구조 단백질 유전자로 대체될 수 있다. 일부 구현예에서, 구조 단백질은 제2 뎅기 바이러스의 C, prM 또는 E 단백질일 수 있다. 어떤 구현예에서, 구조 단백질 유전자는 상기 DEN-1, DEN-3 또는 DEN-4의 prM 및 E 유전자를 포함한다. 이러한 융합 바이러스는 상기 모(parent) 약독화 DEN-2의 약독화 표현형을 유지하면서, DEN-1, DEN-3 또는 DEN-4의 표면 항원을 발현한다.
- [0017] 본 발명에서 개시된 구조체는 백본으로 약독화 DEN-2 바이러스를 사용하여 DEN-1, DEN-3 및 DEN-4의 표면 항원을 발현하는 DEN-4, DEN-2, DEN-1 및 DEN-3의 키메라 구조체를 포함할 수 있다.
- [0018] 어떤 구현예에서, 본 발명의 조성물은 본 발명에서 개시된 단독 키메라 뎅기 바이러스 구조체 및 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 조성물을 포함할 수 있다. 다른 한편으로는, 본 발명의 조성물은 본 발명에 개시된 둘 이상 또는 셋 이상의 키메라 뎅기 바이러스 구조체 및 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 조성물을 포함할 수 있다. 이러한 구현예에 따르면, 본 발명에서 고려된 하나 이상의 뎅기 바이러스 키메라 구조체는 하나 이상의 생약독화 뎅기 바이러스와 병용될 수 있다. 어떤 구현예에서, 생약독화 바이러스는 생약독화 DEN-2 바이러스일 수 있고, NCR, NS1 영역 또는 다른 영역에서 추가적인 돌연변이는 면역 반응을 증가시키거나, 개선된 생약독화 뎅기 바이러스에 대한 바이러스 성장 또는 다른 개선을 증가시킨다.
- [0019] 어떤 구현예에서, 약독화 유전자자리(attenuation loci)인 상기 DENV-2 백신의 뉴클레오타이드 5'NCR-57-T, NS1-53-Asp, 및 NS3-250-Val은 이전에 결정되었고, 모든 이러한 변경은 4개의 DENVax 바이러스의 일반적인 PDK-53 바이러스 특이적 유전적 배경에 의해 공유된다. 상기 3개의 약독화 유전자자리의 유전 서열뿐만 아니라, 이러한 백신 후보의 이전에 수립된 시험관 내 및 생체 내에서 약독화 표현형은 cGMP-가공된 DENVax 시드(seed)에 대하여 주의깊게 모니터링되었다. 본 발명은 마스터 바이러스 시드(master virus seed, MVS)를 발생시키기 위하여 사용된 전략뿐만 아니라, 뎅기 바이러스 백신 조성물의 제조에서 이들의 유전적 및 표현형 특성의 용도를 기재한다. 이러한 MVS는 임상 재료의 제조 및 결국 상업용 백신 공급품의 제조에 사용될 수 있다.

- [0020] **정의**
- [0021] 본 명세서에서 사용된 것과 같은 "한(a)" 또는 "하나의(an)"는 하나 또는 하나 이상의 항목을 의미할 수 있다.
- [0022] 본 명세서에서 사용된 것과 같은 "개체" 또는 "개체들"은 포유동물, 예컨대 인간 또는 포유동물, 사육된 또는 야생의, 예를 들면 개, 고양이, 다른 애완동물(예를 들면, 햄스터, 기니아 피그, 마우스, 랫), 페럿(ferret), 토끼, 돼지, 말, 소, 프레리독, 야생 설치류 또는 동물원 동물을 포함할 수 있지만, 이에 한정되지 아니한다.
- [0023] 본 명세서에서 사용된 것과 같은, 상기 용어 "바이러스 키메라", "키메라성 바이러스", "플라비바이러스 키메라" 및 "키메라성 플라비바이러스"는 뎅기-2 바이러스의 뉴클레오티드 서열의 일부 및 추가로 뎅기-2 바이러스 유래가 아닌 또는 다른 플라비바이러스 유래인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 구조체를 의미할 수 있다. "뎅기 키메라"는 적어도 2개의 다른 뎅기 바이러스 혈청형을 포함하지만, 다른 플라비바이러스는 아니다. 따라서, 다른 뎅기 바이러스 또는 플라비바이러스의 예는 뎅기-1 바이러스, 뎅기-3 바이러스, 뎅기-4 바이러스, 웨스트 나일 바이러스, 일본 뇌염 바이러스, 세인트루이스 뇌염 바이러스, 진드기매개 뇌염 바이러스, 황열병 바이러스 및 이들의 임의의 조합을 포함하지만, 이에 한정되지 아니한다.
- [0024] 본 명세서에서 사용된 것과 같은, "핵산 키메라"는 뎅기-2 바이러스의 뉴클레오티드 서열의 일부를 포함하는 핵산 및 추가로 뎅기-2 바이러스의 뉴클레오티드 서열과 동일한 기원이 아닌 뉴클레오티드 서열을 포함하는 본 발명의 구조체를 의미할 수 있다. 상대적으로 본 발명에 개시된 임의의 키메라성 플라비바이러스 또는 플라비바이러스 키메라가 핵산 키메라의 예로서 인식될 수 있다.
- [0025] 본 명세서에서 사용된 것과 같은, "생약독화 바이러스"는 백신 또는 다른 면역원성 조성물에서 특성의 이용을 위한 야생형 바이러스, 돌연변이된 또는 선택된 것을 의미할 수 있고, 일부 특성은 감소된 병독성, 안정성, 효과 또는 개선된 성장 등을 포함할 수 있다.
- [0026] **설명**
- [0027] 하기 부분에서, 다양한 구현예를 열거하기 위하여 다양한 예시적인 조성물 및 방법이 기재된다. 상기 다양한 구현예를 수행하는 것은 본 발명에서 개략적으로 나타내는 특정한 설명의 모두 또는 심지어 일부의 사용을 필요로 하는 것이 아니라, 오히려, 농도, 시간 및 다른 특정한 설명이 통상적인 실험을 통해 변형될 수 있다는 것이 본 기술 분야의 통상의 기술자에게 자명할 것이다. 일부 경우에서, 잘 알려진 방법 또는 성분이 상기 설명에 포함되지 않았다.
- [0028] 본 발명의 구현예에 따라서, 본 기술 분야 내의 관습적인 분자 생물학, 단백질 화학, 미생물학 및 재조합 DNA 기술이 사용될 수 있다. 이러한 기술은 상기 문헌에 충분히 설명된다. 예를 들면, Sambrook, Fritsch & Maniatis, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Animal Cell Culture, R. I. Freshney, ed., 1986 참조.
- [0029] 본 발명에서 구현예는 개체 내에서 하나 이상의 뎅기 바이러스 혈청형에 대하여 독립적으로 또는 동시에 면역 반응을 유도하기 위한 조성물, 방법 및 용도에 관한 것이다. 이러한 구현예에 따르면, 약독화 뎅기 바이러스 및 핵산 키메라가 발생되고, 본 발명에 개시된 백신 조성물에 사용된다. 일부 구현예는 변형된 또는 돌연변이된 뎅기 구조체 또는 키메라에 관한 것이다. 다른 구현예는 뎅기 바이러스의 구조 단백질의 아미노산 서열을 변형시키기 위하여 돌연변이를 유도하는 것에 관한 것이고, 상기 돌연변이는 상기 바이러스에 대한 면역원성을 증가시킨다.
- [0030] 생약독화 뎅기 바이러스의 4개의 모든 혈청형은 세포 배양에서 야생형 바이러스를 계대배양함으로써 개발되었다. 이것은 플라비바이러스 및 특히 뎅기 바이러스 감염 및/또는 질환에 대하여 면역화에 대한 가장 유망한 생약독화 백신 후보의 일부이다. 이러한 백신 후보는 그들의 뎅기 혈청형, 그들이 계대배양된 것을 통한 상기 세포주 및 그들이 계대배양된 횟수의 병용에 의해 표기되었다. 따라서, PDK 세포에서 13회 계대배양된 뎅기 혈청형 1 야생형 바이러스는 DEN-1 PDK-13로 표기된다. 다른 백신 후보는 DEN-2 PDK-53, DEN-3 PGMK-30/FRhL-3이다(예를 들면, 1차 사마나 원숭이 신장 세포에서 30회 계대배양, 후에 레서스 원숭이 태아 폐 세포에서 3회 계대배양 및 DEN-4 PDK-48). 이러한 4개의 후보 백신 바이러스는 모(parental) 야생형 DEN-1 16007, DEN-2 16681, DEN-3 16562 및 DEN-4 1036 각각의 조직 배양 계대배양에 의해 유래되었다.
- [0031] 어떤 구현예에서, 생약독화 뎅기-2 PDK-53 백신 바이러스는 다른 뉴클레오티드 차이점을 함유하는 상기 개체군과 바이러스의 혼합물을 함유한다. 상기 약독화 돌연변이의 유전적 특성분석 후에, 특정한 약독화 특징은 개략

적으로 나타내고, cDNA 감염성 클론으로 제작되었다. 새로운 특징화되고, PDK-53-Vero-DEN-2-P1 바이러스(예를 들면, 표 1 참조) 유래된 계대배양 1로서, RNA가 이 감염성 클론으로부터 전사되었고 Vero 세포로 도입되었다. 이 약독화 바이러스는 DEN-1, DEN-3 및 DEN-4에 대해서는 각 DEN 혈청형에 대하여 만들어지고, 상기 prM 및 E 유전자는 3개의 분리된 감염성 클론으로 제작되며, 따라서 4개의 분리된 PDK-53-Vero 바이러스를 발생시켰다(본 발명에서 PDK-53-Vero-DEN-2-P 1, PDK-53 -Vero-DEN-1-P 1, PDK-53-Vero-DEN-3-P 1, 및 PDK-53-Vero-DEN-4-P 1로 일컫는다). 이러한 약독화 백신 바이러스 균주는 Vero 세포에서 10회 계대배양되고(표 1), Vero 세포에서 성장하기 위하여 그들의 적응시 각 분리된 계열은 돌연변이를 수득하였다(표 3). 본 발명에서 어떤 구현예는 이러한 생약독화 Dengue 바이러스에 대한 유도물 및 용도에 관한 것이다.

[0032] 이러한 약독화 바이러스로 이전의 인간 임상 실험은 DEN-2 PDK-53이 인간에서 가장 낮은 감염성 투여량(5 플라크 형성 단위 또는 PFU의 50% 최소 감염성 투여량)을 가지고, 강한 면역원성이며, 어떠한 명백한 안정성 문제도 유발하지 않는 것을 나타내었다. 상기 DEN-1 PDK-13, DEN-3 PGMK-30/FRhL-3 및 DEN-4 PDK-48 백신 바이러스 후보는 인간에서 각각 10,000, 3500, 및 150 PFU의 보다 높은 50% 최소 감염성 투여량을 갖는다. 인간 개체에서 100% 혈청변환을 달성하기 위하여 1가 DEN-2 PDK-53 바이러스 또는 DEN-4 PDK-48 바이러스로 하나의 면역화만이 필요하긴 했지만, 인간에 대하여 2개의 가장 높은 감염성 투여량을 가지는 DEN-1 PDK-13 및 DEN-3 PGMK-30/FRhL-3 바이러스에 대한 상기 동일한 혈청변환 비율을 달성하기 위하여 부스터가 필요했다.

[0033] 또한 PDK-53로 축약된 DEN-2 PDK-53 바이러스 백신 후보는, 온도 민감성, 작은 플라크 사이즈, 모기 C6136 세포 배양에서 감소된 복제, 온전한 모기에서 감소된 복제, 이유 마우스(suckling mice)에 대한 신경병원성의 감소 및 원숭이에서 바이러스혈증의 감소된 발생 정도를 포함하는 약독화와 관련된 몇몇의 측정가능한 생물학적 마커를 갖는다. 후보 PDK-53 백신의 임상 실험은 인간에서 그것의 안정성 및 면역원성을 확인하였다. 또한, 상기 PDK-53 백신은 인간 백신 수용자에서 Dengue 바이러스 특이적 T-세포 기억 반응을 유도한다. 본 발명에서 일부 구현예는 본 발명에 개시된 키메라성 구조체에서 사용된 상기 DEN-2 PDK-53에 대한 개선을 기재한다.

[0034] Dengue-2 바이러스 백신 및 적어도 하나의 다른 Dengue 바이러스 혈청형의 구조 단백질을 가지는 면역원성 플라비바이러스 키메라는 Dengue 바이러스 키메라를 준비하는 것 및 기재된 상기 Dengue 바이러스 키메라를 생산하기 위한 방법에 대하여 사용될 수 있다. 상기 면역원성 Dengue 바이러스 키메라는 단독 또는 하나 이상의 혈청형, 예컨대 Dengue 바이러스 혈청형 DEN-1, DEN-2, DEN-3 및 DEN-4, 단독 또는 병용에 의한 감염에 대한 개인을 최소화, 억제 또는 면역화하기 위하여 면역원성 조성물로서 약학적으로 허용가능한 담체를 병용으로 제공된다. 병용시, 상기 면역원성 Dengue 바이러스 키메라는 하나 이상의 플라비바이러스의 한 종 또는 균주에 의한 감염에 대한 동시 방지를 부여하기 위하여 다가 백신(예를 들면, 2가, 3가 및 4가)으로서 사용될 수 있다. 어떤 구현예에서, 상기 Dengue 바이러스 키메라는 상기 알려진 Dengue 바이러스 혈청형에 대한 2가, 3가 또는 4가 백신으로서 유용한 면역원성 조성물에 병용되거나, 다른 플라비바이러스 유래 하나 이상의 단백질을 암호화하는 핵산을 포함함으로써 다른 병원성 플라비바이러스에 대한 면역력을 부여한다.

[0035] 일부 구현예에서, 본 발명에서 제공된 독성이 없는 면역원성 Dengue 바이러스 키메라는 상기 약독화 Dengue-2 바이러스(예를 들면, PDK-53)의 비구조 단백질 유전자 또는 이들의 등가물; 및 개체에 도입되는 것이 면역원성인 상기 플라비바이러스의 하나 이상의 구조 단백질 유전자 또는 이들의 면역원성 부분;을 함유한다. 예를 들면, 일부 구현예는 바이러스 백신으로서 약독화 Dengue-2 바이러스 PDK-53 게놈; 및 DEN-1, DEN-3 또는 DEN-4 또는 상이한 플라비바이러스 또는 상이한 Dengue 바이러스 혈청형과 같이 그로부터 보호되어야 할 다른 플라비 바이러스 유래의 하나 이상의 상응하는 구조 단백질 유전자로 교체되는, 상기 PDK-53 게놈의 캡시드, 전막(premembrane)/막, 또는 외피(envelope)를 암호화하는 하나 이상의 구조 단백질 유전자, 또는 이들의 조합;을 가지는 키메라에 관한 것이다. 이러한 구현예에 따르면, 본 발명에 개시된 핵산 키메라는 상기 약독화 Dengue-2 바이러스의 기능적 특성을 가질 수 있고, 독성이 없을 수 있지만, DEN-1, DEN-3 또는 DEN-4 게다가 다른 플라비바이러스의 구조 유전자 생산물의 항원성 에피토프를 발현할 수 있고, 면역성일 수 있다(예를 들면, 개체에서 유전자 생산물에 대한 면역 반응을 유도한다). 그 후에 이러한 DNA 구조체는 감염성 클론으로부터 RNA를 전사하기 위하여 사용되고, 이 RNA는 다시 Vero 세포로 도입되어 P1에서 새로운 자손 바이러스를 생산한다. 이러한 새로운 자손 바이러스는 PDK-53과 구별할 수 있다(예를 들면, P1-P10 참조).

[0036] 다른 구현예에서, 핵산 키메라는 약독화 Dengue-2 바이러스 유래의 비구조 단백질을 암호화하는 제1 뉴클레오티드 서열, 및 Dengue-4 바이러스 단독 또는 다른 플라비바이러스와 병용 유래 구조 단백질을 암호화하는 제2 뉴클레오티드 서열을 가지는 핵산 키메라일 수 있으나, 이에 한정되지 아니한다. 다른 구현예에서, 상기 약독화 Dengue-2 바이러스는 하나 이상의 돌연변이된 아미노산을 가지는 백신 균주 PDK-53일 수 있다(실시에 참조). 이러한 추가적인 돌연변이는 본 발명에 기재된 생약독화 Dengue-2 또는 키메라성 구조체로서 이용의 바람직한 특성을 부여한

다. 일부 구현예는 제2 땀기 바이러스의 하나 이상의 C, prM 또는 E 단백질의 구조 단백질을 포함한다.

[0037] 다른 측면은 키메라성 바이러스가 PDK-53 땀기-2 계통의 제어에 있어서 뉴클레오티드 및 아미노산 치환, 결실 또는 삽입, 예를 들면 표적 땀기 바이러스 혈청형에 대한 면역원성의 간섭을 감소시키기 위하여 포함할 수 있는 것을 포함한다. 이러한 변형은 구조 및 비구조 단백질 단독 또는 본 발명에 개시된 변형 예와 병용하여 만들어질 수 있고, 상기 약독화 바이러스를 계대배양하고, 하나 이상의 땀기 바이러스 혈청형에 대한 면역 반응을 유도하기 위하여 개선된 조성물을 얻음으로써 발생될 수 있다.

[0038] 본 발명에 개시된 어떤 구현예는 재조합 기술을 이용하여 상기 필요한 치환을 상기 적절한 백본 계통으로 삽입함으로써 본 발명의 상기 키메라성 바이러스를 만드는 방법을 제공한다. 본 발명의 다른 구현예는 추가적인 개선을 위하여 확인된(예를 들면, 안전한 및 효과적인) 생약독화 키메라성 바이러스를 계대배양하는 것에 관한 것이다. 어떤 구현예에서, 본 발명에 사용된 땀기-2 백본은 표 3에 제시된 하나 이상의 돌연변이를 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 본 발명의 땀기-땀기 키메라는 표 3에 제시된 것과 같이 하나 이상의 돌연변이를 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 땀기-땀기 키메라는 Den-2/Den-1, Den-2/Den-3 또는 Den-2/Den-4에 대하여 표 3에 나타난 바와 같이 각 키메라에 대하여 모든 돌연변이를 포함할 수 있다. 표 3의 구조체에 의해 나타난 생약독화 바이러스를 포함하는 약학적 조성물이 고려된다. 예를 들면, 1가, 2가, 3가 또는 4가 조성물은 표 3에 제시된 바와 같이 키메라 및 생약독화 땀기-2 바이러스를 이용한 본 발명에서 이용이 고려된다.

[0039] 어떤 구현예에서, 본 발명에서 고려된 생약독화 DEN-2 변이체는 약학적 조성물로 제형화될 수 있고, 상기 약학적 조성물은 단독 또는 땀기-땀기 키메라 또는 땀기-플라비바이러스 키메라와 병용하여 투여될 수 있다. 어떤 구현예에서, 2가, 3가 또는 4가 조성물은 단일 적용 또는 복수 적용으로 개체에 투여될 수 있다.

[0040] 플라비바이러스 키메라

[0041] 땀기 바이러스 유형 1-4(DEN-1 내지 DEN-4)는 모기-매개 플라비바이러스 병원체이다. 상기 플라비바이러스 계통은 5'-비암호화 영역(5'-NC), 그 다음 캡시드 단백질(C) 암호화 영역, 그 다음 전막/막 단백질(prM) 암호화 영역, 그 다음 외피 단백질(E) 암호화 영역, 그 다음 상기 비구조 단백질(NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5)을 암호화하는 영역 및 마지막으로 3' 비암호화 영역(3'TSTC)을 포함한다. 상기 바이러스 구조 단백질은 C, prM 및 E이고, 비구조 단백질은 NS1-NS5이다. 상기 구조 및 비구조 단백질은 단일 다단백질로 번역되고 세포 및 바이러스의 프로테아제에 의해 처리된다.

[0042] 플라비바이러스 키메라는 땀기 바이러스 또는 플라비바이러스과의 한 유형 또는 혈청형 유래의 비구조 단백질 유전자와; 단백질 유전자, 예를 들면 땀기 바이러스 또는 플라비바이러스과의 다른 유형 또는 혈청형 유래 구조 단백질 유전자;를 융합함으로써 형성된 구조체일 수 있다. 다른 한편으로는, 본 발명의 플라비바이러스 키메라는 땀기 바이러스 또는 플라비바이러스과의 한 유형 또는 혈청형 유래의 비구조 단백질 유전자와; 추가로 다른 땀기 바이러스 혈청형 또는 플라비바이러스과의 다른 바이러스로부터 선택되는 폴리펩티드 또는 단백질의 합성을 유도하는 뉴클레오티드 서열;을 융합함으로써 형성된 구조체이다.

[0043] 다른 구현예에서, 본 발명에서 제공된 독성이 없는, 면역원성 플라비바이러스 키메라는 약독화 땀기-2 바이러스의 비구조 단백질 유전자 또는 이들의 등가물; 및 면역원성이 부여되는 것인 플라비바이러스의 하나 이상의 구조 단백질 유전자, 또는 이들의 항원성 부분;을 함유한다. 적합한 플라비바이러스는 표 1에 열거된 것들을 포함하지만, 이에 한정되지 아니한다.

[0044] 상기 키메라를 구성하는 것에 이용을 위한 다른 적합한 땀기 바이러스는 야생형, 독성이 있는 DEN-1 16007, DEN-2 16681, DEN-3 16562 및 DEN-4 1036; 및 약독화 백신-균주 DEN-1 PDK-13, DEN-2 PDK-53, DEN-3 PMK-30/FRhL-3 및 DEN-4 PDK-48;일 수 있다. DEN-1, DEN-2, DEN-3 및 DEN-4 야생형/약독화 바이러스 쌍 사이의 유전적 차이점은 상기 바이러스 계통에 의하여 암호화된 아미노산 서열의 변경에 따라 고려된다.

[0045] DEN-2 PDK-53에 대한 서열 목록은 상기 DEN-2 PDK-53-V 변이체에 해당하고, 계통 뉴클레오티드 위치 5270이 A 내지 T로 돌연변이되고, 다단백질의 아미노산 위치 1725 또는 상기 NS3 단백질의 아미노산 위치 250이 발린 잔기를 함유한다. 상기 DEN-2 PDK-53 변이체는, 이 뉴클레오티드 돌연변이가 없이 DEN-2 PDK-53-E는 이 한 위치에 서만 PDK-53-V와 다르다. DEN-2 PDK-53-E는 뉴클레오티드 위치 5270에서 A 및 다단백질 아미노산 위치 1725, NS3 단백질 아미노산 위치 250에서 글루타민산을 갖는다. 본 발명에서 구현예는 하나 이상의 분리된 숙주 세포에서 계대배양(예를 들면, Vero 세포, 표 1 참조)을 포함하는 변형된 PDK 53을 포함하고, 이는 본 발명에서 고려된 백신 조성물의 이용의 바람직한 특성이 발생하는 것으로 이해된다.

[0046] 어떤 구현예에서, 상기 키메라의 표기는 상기 DEN-2 바이러스 특이적 감염성 클론 변형된 백본 및 다른 땀기 바

이러스 또는 다른 플라비바이러스의 구조 유전자(prM-E 또는 C-prM-E) 삽입에 기초할 수 있다. 상기 탱기-2 위 한 백본 DEN-2, 다음에는 상기 구조 유전자가 삽입된 상기 군주가 이어진다. DEN-2 백본 변이체는 상기 숫자 표 기 후에 다음 문자에 반영된다. 구성된 키메라인 한 특정한 DEN-2 백본 변이체는 하이픈 뒤에 놓여진 다음 문자 에 의해 표시되고, 모(parent) 16681(P), PDK-53-E(E), 또는 PDK-53-V(V)이며; 상기 마지막 문자는 상기 모 (parental, P) 군주 또는 그들의 백신 유도체(V), 또는 상기 모(P) 군주 또는 그들의 백신 유도체(V) 유래 prM-E 구조 유전자 유래 C-prM-E 구조 유전자를 나타낸다. 예를 들면; DEN-2/1-VP는 야생형 DEN-1 16007 유래 NS3-250 및 상기 C-prM-E 유전자에서 발린을 포함하는 상기 약독화 DEN-2 PDK-53V 백본을 포함하는 키메라를 나타내 고; DEN-2/1-VV는 DEN-1 PDK-13인 탱기-1의 백신 군주가 있는 DEN-2 PDK-53V 백본을 나타내며; DEN-2/1-VP1은 상기 DEN-2 PDK-53V 백본 및 야생형 DEN-1 16007 유래 prM-E 유전자를 나타내고; DEN-2/3-VP1은 상기 DEN-2 PDK-53V 백본 및 야생형 DEN-3 16562 유래 prM-E 유전자를 나타내며; DEN-2/4VP1은 상기 DEN-2 PDK-53V 백본 및 야생형 DEN-4 1036 유래 prM-E 유전자를 나타낸다. 본 발명에 개시된 다른 키메라도 동일한 방식으로 표시된 다.

[0047] 한 구현예에서, 본 발명에 개시된 키메라는 바이러스 백본으로서 약독화 탱기-2 바이러스 PDK-53 계통을 함유하 고, 상기 PDK-53 계통의 C, prM 및 E 단백질을 암호화하는 구조 단백질 유전자 또는 이들의 조합은 탱기-1, 탱 기-3 또는 탱기-4 바이러스 및 선택적으로, 예컨대 상이한 플라비바이러스 또는 상이한 탱기 바이러스 군주와 같이 그로부터 보호되어야 할 다른 플라비바이러스 유래의 상응하는 구조 단백질 유전자로 교체될 수 있다.

[0048] 비구조 단백질 영역에서, Gly-to-Asp(야생형이 PDK-53으로) 돌연변이가 비구조 단백질 NS1-53(계통 뉴클레오티 드 위치 2579)에서 확인되었고; Leu-to-Phe(야생형이 PDK-53으로) 돌연변이가 비구조 단백질 NS2A-181(계통 뉴 클레오티드 위치 4018)에서 확인되었으며; Glu이 Val으로(야생형이 PDK-53으로) 돌연변이가 비구조 단백질 NS3-250(계통 뉴클레오티드 위치 5270)에서 확인되었고; Gly-to-Ala 돌연변이(야생형이 PDK-53으로)가 비구조 단백 질 NS4A-75(계통 뉴클레오티드 위치 6599)에서 확인되었다. 상기 본 발명의 생약독화 DEN-2 바이러스는 표 3의 임의의 키메라 또는 생약독화 탱기-2 바이러스에서 제시된 바와 같은 돌연변이를 추가로 포함한다.

[0049] PDK-53 바이러스는 계통 뉴클레오티드 5270에서 혼합된 유전자형을 갖는다. 상기 바이러스 개체군의 상당한 부 분(대략 29%)은 상기 NS3-250-Val 돌연변이보다 오히려 야생형 DEN-2 16681 바이러스 내에 존재하는 비-돌연변 이된 NS3-250-Glu를 암호화한다. 유전적 변이체들이 모두 독성이 없기 때문에 이 돌연변이는 독성이 없는 키메 라에 필요하지 않을 수 있다.

[0050] 이전에, 상기 약독화 PDK-53 바이러스 군주의 무독성이 비구조 단백질을 암호화하는 상기 뉴클레오티드 서열 내 에 및 상기 5' 비암호화 영역 내에서의 돌연변이로 여겨질 수 있는 것이 확인되었다. 예를 들면, NS1-53에서 단 일 돌연변이, NS1-53 및 5TSTC-57에서 이중 돌연변이, NS1-53 및 NS3-250에서 이중 돌연변이, 및 NS1-53, 5TSTC-57 및 NS3-250에서 삼중 돌연변이는 DEN-2 바이러스의 약독화를 야기한다. 따라서, 이러한 비-보존적 아 미노산 치환 또는 이러한 유전자자리에서 뉴클레오티드 치환을 함유하는 상기 임의의 탱기-2 바이러스의 계통은 본 발명에 개시된 상기 변형된 PDK-53 바이러스를 유도하기 위한 기초 서열로서 이용될 수 있다. 만일 원한다면 5' 비암호화 영역에서 스템/루프 구조 중 스템에서 다른 돌연변이는 추가적인 독성이 없는 표현형 안정성을 제 공할 것이다. 이 영역에 대한 돌연변이는 바이러스 복제를 위해 중요한 가능성 있는 2차 구조를 방해한다. DEN 및 베네스웰라 마형 뇌염 바이러스 모두에서 이 짧은(오직 6 뉴클레오티드 잔기 길이에서만) 스템 구조에서 단 일 돌연변이는 상기 헤어핀 구조의 형성을 방해한다. 이 스템 구조에서 추가 돌연변이는 바이러스 생존력은 유 지하면서 이 유전자자리(locus)의 복귀 가능성을 감소시킨다.

[0051] 본 발명에 개시된 돌연변이는 본 기술 분야의 알려진 임의의 방법에 의하여 달성될 수 있고, 관심있는 세포주 (예를 들면, Vero 세포)에서 한번 계대배양하여 추가적인 특징을 가지는 자연적으로 발생된 또는 선택된 클론을 포함하지만, 이에 한정되지 아니한다. 본 발명에 개시되고 본 기술 분야에 잘 알려진 병독성 스크리닝 분석이 병독성 및 독성이 없는 백본 구조를 구별하기 위하여 사용될 수 있는 것이 본 기술 분야의 통상의 기술자에 의 해 이해된다.

[0052] 플라비바이러스 키메라의 구조

[0053] 본 발명에 기재된 플라비바이러스 키메라는 PDK-53 탱기 바이러스 계통 백본으로 원하는 면역력이 있는 하나 이 상의 플라비바이러스의 구조 단백질 유전자를 스플라이싱하거나, 본 기술 분야에 알려진 다른 기술인 상기 상응 하는 PDK-53 유전자를 제거하고 이것을 탱기-1, 탱기-3 또는 탱기-4 바이러스 유전자 또는 본 기술 분야에 알려 진 다른 유전자로 대체하기 위하여 재조합 제작을 이용하여 생산될 수 있다.

- [0054] 다른 한편으로는, 서열 목록에 제공된 서열을 이용시 상기 플라비바이러스 단백질을 암호화하는 핵산 분자는 알려진 핵산 합성 기술을 이용하여 합성될 수 있고, 적절한 벡터로 삽입될 수 있다. 따라서, 독성이 없는 면역원성 바이러스는 본 기술 분야의 통상의 기술자에게 알려진 재조합 제작 기술을 이용하여 생산된다.
- [0055] 표적 유전자는 DEN-1, DEN-3, DEN-4 또는 다른 플라비바이러스에 대해 관심있는 플라비바이러스 구조 단백질을 암호화하는 상기 백본으로 삽입될 수 있다. 삽입되는 플라비바이러스 유전자는 C 단백질, PrM 단백질 및/또는 E 단백질을 암호화하는 유전자일 수 있다. 상기 탱기-2 백본으로 삽입된 상기 서열은 PrM 및 E 구조 단백질 모두를 암호화할 수 있다. 상기 탱기-2 백본으로 삽입된 상기 서열은 C, prM 및 E 구조 단백질 모두 또는 하나를 암호화할 수 있다.
- [0056] 적합한 키메라성 바이러스 또는 다른 플라비바이러스 또는 탱기 바이러스 혈청형의 구조 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 함유하는 핵산 키메라는 그들을 병독성을 나타내는 전술한 약독화의 표현형 마커에 대하여 스크리닝하고, 그들을 면역원성에 대하여 스크리닝함으로써 백신으로서 유용성에 대하여 평가될 수 있다. 항원성 및 면역원성은 플라비바이러스 항체 또는 면역반응성 혈청으로 시험관 내에서 또는 생체 내에서 반응성을 이용하고, 본 기술 분야의 통상의 기술자에게 알려진 통상적인 스크리닝 절차를 이용하여 평가될 수 있다.
- [0057] **탱기 바이러스 백신**
- [0058] 어떤 구현예에서, 키메라성 바이러스 및 핵산 키메라는 면역원 또는 백신으로서 유용한 생약독화 바이러스를 제공할 수 있다. 일부 구현예는 위험한 병원성 또는 치사 효과를 유발하지 않으면서, 탱기-4 바이러스에 대한 높은 면역원성을 나타내는 키메라를 포함한다.
- [0059] 개체에서 DHF/DSS의 발생 빈도를 감소시키기 위하여, 4가 백신이 상기 바이러스의 4개의 모든 혈청형에 대한 동시 면역력을 제공하기 위하여 필요하다. 4가 백신은 본 발명의 생약독화 탱기-2 바이러스와 다가 백신으로서의 투여에 대하여 적합한 약학적 담체에 전술한 탱기-2/1, 탱기-2/3, 및 탱기-2/4 키메라를 병용함으로써 생산된다.
- [0060] 본 발명의 상기 키메라성 바이러스 또는 핵산 키메라는 독성이 있는 또는 약독화 DEN-2 바이러스 백본 내의 야생형 또는 생약독화 바이러스의 구조 유전자를 포함할 수 있다. 예를 들면, 상기 키메라는 DEN-2 배경에서 그것의 후보 백신 유도체인 야생형 DEN-4 1036 바이러스의 상기 구조 단백질 유전자를 발현할 수 있다.
- [0061] 본 발명에 기재된 상기 키메라에서 사용된 바이러스는 본 기술 분야에 알려진 기술을 이용하여 성장될 수 있다. 그 후 생존력 및 성장 배양의 표현형 특징을 평가하기 위하여 바이러스 플라크 적정(titration)이 수행되고, 플라크가 계수된다. 야생형 바이러스는 약독화 후보 개시 재료를 유도하기 위하여 배양된 세포주를 통해 계대배양될 수 있다.
- [0062] 키메라성 감염성 클론은 이용가능한 다양한 탱기 혈청형 클론으로 구성될 수 있다. 만일 원한다면 바이러스 특이적 cDNA 단편의 클로닝은 또한 달성될 수 있다. 상기 구조 단백질 또는 비구조 단백질 유전자를 함유하는 cDNA 단편은 탱기 바이러스 RNA와 다양한 프라이머로부터 역전사효소-중합효소 연쇄 반응(RT-PCR)에 의해 증폭된다. 증폭된 단편은 다른 중간 클론의 절단 위치로 클로닝된다. 그 후 중간 키메라성 탱기 바이러스 클론은 삽입된 탱기 바이러스-특이적 cDNA의 정확도를 확인하기 위하여 서열분석된다.
- [0063] 탱기 혈청형 바이러스의 상기 구조 단백질 및/또는 비구조 단백질 유전자 영역을 벡터로 삽입하여 구성된 전체 게놈-길이 키메라성 플라스미드는 본 기술 분야의 통상의 기술자에게 잘 알려진 재조합 기술을 이용하여 얻을 수 있다.
- [0064] **뉴클레오타이드 및 아미노산 분석**
- [0065] 상기 DEN-2 PDK-53 백신 바이러스의 NS1-53 돌연변이는 이 바이러스의 약독화 바이러스에 대하여 현저하며, 그 이유는 상기 DEN-2 16681 바이러스의 NS1-53-Gly이 현재까지 서열분석된 상기 진드기매개 바이러스를 포함하는 거의 모든 플라비바이러스에서 보존되기 때문이다. DEN-4 백신 바이러스는 또한 위치 253에서 상기 NS1 단백질에서 아미노산 돌연변이를 함유한다. DEN-4 PDK-48 백신 바이러스에서 Gln-to-His 돌연변이인 이 유전자자리는 탱기 바이러스의 4개의 모든 야생형에서 Gln이다. 이 Gln 잔기는 상기 플라비바이러스속 내에 상기 탱기 바이러스에 유일하다. 상기 NS1 단백질은 플라비바이러스 감염 세포로부터 분비되는 당단백이다. 그것은 상기 감염된 세포의 표면에 존재하고, NS1 특이적 항체가 바이러스 감염된 개체의 혈청에 존재한다. NS1 단백질 또는 수동적으로 NS1 특이적 항체로 면역력을 갖게 하는 동물의 보호가 보고되었다. 이 NS1 단백질은 초기 바이러스 RNA 복제에 참여하는 것으로 보인다.

- [0066] 상기 DEN-1, -2, -3 및 -4 약독화 균주의 NS2A, NS2B, NS4A, 및 NS4B 단백질에서 일어난 돌연변이는 자연에서 보존적이다. DEN-2 및 DEN-4 백신 바이러스 각각의 NS4A-75 및 NS4A-95 돌연변이는 뎅기 바이러스 중에서 아미노산 보존 위치에서 일어나지만, 보통 플라비바이러스 중에서 일어나지 않는다.
- [0067] 상기 플라비바이러스의 NS3 단백질은 적어도 2개의 인식하는 기능을 보유한다: 상기 바이러스 프로티나제 및 RNA 헬리카제/NTPase. 상기 698-aa 긴(DEN-2 바이러스) NS3 단백질은 아미노-말단 세틴 프로테아제 도메인(NS3-51-His, -75-Asp, -135-Ser 3가 촉매의)을 함유하고, 그 다음에 RNA 헬리카제/NTPase 기능에 대한 서열 모티프(NS3-196-GAGKT(서열번호: 147), -284-DEAH, -459-GRIGR)가 이어진다. 인식하는 모티프 내에서 일어난 DEN-1, DEN-2, 또는 DEN-3 바이러스의 NS3 단백질에서 상기 돌연변이는 아무것도 없다. DEN-1 PDK-13 바이러스에서 상기 NS3-510 Tyr의 Phe 돌연변이는 보존적이다. 상기 야생형 DEN-2, -3 및 -4 바이러스는 이 위치에서 Phe를 함유하기 때문에 Tyr의 Phe 돌연변이가 상기 DEN-1 바이러스의 약독화에 역할을 할 것 같지 않다. DEN-1 PDK-13 바이러스에서 NS3-182 Glu의 Lys 돌연변이는 대부분 모기-매개 플라비바이러스에서 Asp 또는 Glu로 보존된 위치에서 일어났고, 그것은 약독화에서 일부 역할을 할 수 있다. 이 돌연변이는 GAGKT 헬리카제 모티프의 상류 15번째 아미노산 잔기에 위치되었다. 이전 연구에서 언급한 바와 같이, DEN-2 16681 바이러스에서 상기 NS3-250-Glu는 황열병 바이러스를 제외한 모든 모기-매개 플라비바이러스에서 보존된다.
- [0068] 핵산 프로브는 선택적으로 상기 DEN-1, DEN-3 및 DEN-4 바이러스 또는 이들의 상보적인 서열을 암호화하는 핵산 분자와 혼성화한다. "선택적인" 또는 "선택적으로"는 상기 뎅기 바이러스의 적절한 검출을 예방하기 위하여 다른 핵산과 혼성화하지 않는 서열을 의미한다. 따라서, 혼성화하는 핵산의 설계에서 선택도는 시료에 존재하는 다른 성분에 따를 것이다. 상기 혼성화하는 핵산은 그것이 혼성화하는 핵산의 부분과 적어도 70% 상보성을 가져야 한다. 핵산을 기재하기 위하여 본 명세서에서 사용된 것과 같은, 상기 용어 "선택적으로 혼성화한다"는 가끔 무작위로 혼성화하는 핵산을 제외하며, 따라서 "특이적으로 혼성화하는"과 동일한 의미를 갖는다. 본 발명의 상기 선택적으로 혼성화하는 핵산은 그것이 혼성화하는 서열의 부분과 적어도 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 및 99%, 바람직하게 85% 이상인 상보성을 가질 수 있다.
- [0069] 상기 암호화된 핵산 또는 상기 핵산의 상보적 또는 반대, 가닥으로 선택적으로 혼성화하는 서열, 프로브 및 프라이머가 고려된다. 기능적인 종류-특이적 혼성화 능력이 유지되는 한, 핵산으로 특이적 혼성화는 상기 핵산에서 작은 변형 또는 치환이 일어날 수 있다. "프로브"는 그들의 검출 또는 증폭을 위하여 상보적인 핵산 서열과 선택적인 혼성화를 위하여 프로브 또는 프라이머로서 사용될 수 있는 핵산 서열을 의미하고, 프로브는 약 5 내지 100개 뉴클레오티드, 또는 바람직하게는 약 10 내지 50개 뉴클레오티드, 더욱 바람직하게는 약 18 내지 24개 뉴클레오티드 길이로 다를 수 있다.
- [0070] 만일 프라이머로서 사용되면, 상기 조성물은 바람직하게는 원하는 영역을 증폭하기 위하여 상기 표적 분자의 다른 영역에 대하여 혼성화하는 적어도 2개의 핵산 분자를 포함한다. 상기 프로브 또는 프라이머의 길이에 따라, 상기 표적 영역은 70% 상보적 염기와 전체 상보성 사이의 범위일 수 있고, 가혹한 조건 하에서 여전히 혼성화한다. 예를 들면, 상기 뎅기 바이러스의 존재를 검출하는 목적으로, 상기 혼성화하는 핵산(프로브 또는 프라이머)과 그것이 혼성화하는 상기 서열 사이의 상보성 정도는 적어도 다른 생물 유래 핵산과 혼성화를 구별하기에 충분하다.
- [0071] 뎅기 DEN-4, DEN-3 또는 DEN-1 바이러스(예를 들면, 구조 성분)를 암호화하는 핵산 서열은 벡터, 예컨대 플라스미드로 삽입될 수 있고, 재조합 뎅기 바이러스 펩티드 및/또는 폴리펩티드 및/또는 바이러스를 생산하기 위하여 살아있는 생물(예를 들면, 뎅기-2 백본으로)에서 재조합형으로 발현될 수 있다.
- [0072] **핵산 검출 방법**
- [0073] 본 발명에 기재된 상기 백신 바이러스 각각에 대한 진단하는 빠른 유전적 시험이 본 발명에 의해 제공된다. 본 발명의 이 구현에는 바이러스혈증이 생긴 백신접종된 인간의 혈청으로부터 분리된 바이러스의 분석을 향상시키고, 상기 후보 백신 바이러스로 면역력을 갖게 된 비인간 영장류에서 바이러스혈증의 특성분석을 향상시킨다.
- [0074] 이 서열은 역-전사효소/중합효소 연쇄 반응(RT/PCR)을 이용함으로써 상기 바이러스 게놈 RNA 주형으로부터 증폭된 cDNA 앰플리콘의 검출을 제공하는 역할을 하는 진단 TaqMan 프로브뿐만 아니라, 하기 기재된 바와 같이 상기 cDNA 앰플리콘을 증폭하기 위하여 설계된 정방향 및 역방향 앰플리머를 포함한다. 특정한 예에서, 앰플리머 중 하나는 상기 앰플리머의 3'-말단 끝에서 백신 바이러스-특이적 돌연변이를 함유하기 위하여 설계되었고, 이는 상기 시험이 상기 백신 균주에 대하여 훨씬 더 특이적이고 효과적으로 하며, 그 이유는 상기 표적 위치에서 상기 프라이머의 연장 및 그 결과에 따른 증폭이 상기 바이러스 RNA 주형이 상기 특이적 돌연변이를 함유하는 경

우에만 일어날 것이기 때문이다.

[0075] 자동화된 PCR에 기초한 핵산 서열 검출 시스템, 또는 핵산 검출에 대한 다른 알려진 기술이 사용될 수 있다. 상기 TaqMan 분석은 시료 핵산 주형 유래 PCR로 발생된 앰플리콘의 자동화되고, 실시간 가시화 및 정량화를 가능하게 하는 매우 특이적이고 민감한 분석이다. TaqMan은 특이적 서열의 존재 또는 부재를 확인할 수 있다. 이 분석에서 정방향 및 역방향 프라이머가 상기 표적 돌연변이 위치의 상류 및 하류 각각을 풀기(anneal) 위하여 설계된다. 상기 앰플리머 중 어느 한쪽보다 약 10℃ 높은 용융 온도 및 상기 백신 바이러스 특이적 뉴클레오티드 돌연변이 또는 그것의 보완물(검출되는 RT/PCR 앰플리콘의 가닥에 따라)을 함유하는 것을 가지기 위하여 설계되는 특이적 검출기 프로브는 이 분석의 3번째 프라이머 성분으로 여겨진다.

[0076] 상기 백신 바이러스 게놈 중 하나에서의 돌연변이된 유전자자리를 특이적으로 검출하기 위하여 설계된 프로브는 상기 프로브의 중간에 상기 백신 특이적 뉴클레오티드를 함유할 것이다. 만일 상기 바이러스 RNA 주형이 백신 바이러스 특이적일 경우, 이 프로브는 상기 TaqMan 분석에서 탐지가능한 형광을 야기할 것이다. 하지만, 야생형 DEN 바이러스로부터 게놈 RNA 주형은 상기 단일 뉴클레오티드 미스매치(상기 모 바이러스 DEN 바이러스의 경우에서) 또는 어쩌면 하나 이상의 미스매치(다른 야생형 DEN 바이러스에서 일어날 수 있는 것과 같은)때문에 프로브 혼성화의 효율이 감소될 것이고, 현저한 형광을 야기하지 않을 것이다. 상기 DNA 중합효소는 상기 리포터 염료를 방출하기 위하여 미스매치된 프로브를 분해하기보다는 RT/PCR 앰플리콘 주형으로부터 미스매치된 프로브를 대체할 가능성이 많다(TaqMan Allelic Discrimination assay, Applied Biosystems).

[0077] 진단 유전 시험을 위한 한 전략은 분자 비콘(beacon)을 이용한다. 또한 상기 분자 비콘 전략은 앰플리콘의 RT/PCR 증폭을 위한 프라이머, 및 상기 프로브 말단에서 리포터 및 퀀처 염료를 함유하는 프로브에 의해 상기 앰플리콘 내의 특이적 서열의 검출을 이용한다. 이 분석에서, 상기 프로브는 스템-루프 구조를 형성한다. 상기 분자 비콘 분석은 TaqMan 분석에서 사용되는 것과 다른 퀀처 및 리포터 염료를 이용한다.

[0078] 약학적 조성물

[0079] 본 발명에서 구현에는 생체 내에서 약학적 투여에 적합한 생물학적으로 호환가능한 형태로 개체에 조성물의 투여를 제공한다. "생체 내에서 투여에 적합한 생물학적으로 호환가능한 형태"는 투여되는 상기 활성제의 형태(예를 들면, 상기 구현예의 약학적 화학 재료, 단백질, 유전자)를 의미하며, 임의의 독성 효과보다 상기 활성제의 치료 효과가 더 크다. 상기 치료적 조성물의 치료적으로 활성있는 양의 투여는 상기 원하는 결과를 달성하기 위하여 필요한 용량에서 및 시간 동안 효과적인 양으로 정의된다. 예를 들면, 치료적으로 활성있는 화합물의 양은 요인, 예컨대 질환 상태, 나이, 성 및 개인의 체중 및 상기 개인에서 원하는 반응을 끌어내기 위한 항체의 능력에 따라 다를 수 있다. 용량 체계는 최적 치료적 반응을 제공하기 위하여 조정될 수 있다.

[0080] 한 구현예에서, 상기 화합물(예를 들면, 상기 구현예의 약학적 화학 재료, 단백질, 펩티드 등)은 편리한 방법으로, 예를 들면 피하, 정맥, 경구 투여에 의해, 흡입, 피내(intradermal), 경피 적용, 질내 적용, 국부 적용, 비강내 또는 직장 투여로 투여될 수 있다. 투여 경로에 따라, 상기 활성 화합물은 보호용 완충액(예를 들면, FTA, F127/트레할로스/알부민)에 함유될 수 있다. 한 구현예에서, 상기 조성물은 경구 투여될 수 있다. 다른 구현예에서, 상기 조성물은 정맥으로 투여될 수 있다. 한 구현예에서, 상기 조성물은 비강내로, 예컨대 흡입으로 투여될 수 있다. 다른 구현예에서, 상기 조성물은 니들-없는 시스템(예를 들면, Pharmajet®) 또는 다른 피내 투여 시스템을 이용하여 피내로 투여될 수 있다.

[0081] 조성물은 적절한 담체 또는 희석제, 효소 억제제와 공-투여 또는 적절한 담체, 예컨대 리포솜으로 개체에 투여될 수 있다. 본 명세서에서 사용된 것과 같은 상기 용어 "약학적으로 허용가능한 담체"는 희석제, 예컨대 염분이 함유된 및 수성 완충액 용액을 포함하는 것을 의도한다. 그것의 비활성화를 예방하기 위하여 상기 화합물에 미네랄을 코팅하거나, 상기 화합물과 미네랄을 공-투여하는 것이 필요할 수 있다. 상기 활성제는 또한 비경구적으로 또는 복강내로 투여될 수 있다. 분산물은 또한 글리세롤, 액체 폴리에틸렌 글리콜 및 이들의 혼합물 및 오일 내에 준비될 수 있다. 저장 및 사용의 일반적인 조건 하에, 이러한 제조물은 미생물의 성장을 예방하기 위하여 방부제 또는 다른 안정화 제형물(예를 들면, FTA)을 함유할 수 있다.

[0082] 주입가능한 이용에 적합한 약학적 조성물은 본 기술 분야에 알려진 수단으로 투여될 수 있다. 예를 들면, 살균한 수성 용액(물에 용해 가능함) 또는 분산물 및 살균한 주입가능한 용액 또는 분산물의 즉석 제조를 위한 살균 분말이 사용될 수 있다. 모든 경우에 있어서, 상기 조성물은 살균될 수 있고, 용이한 실린지어빌리티(syringability)가 존재하는 정도로 유체일 수 있다. 그것은 제조와 저장 조건 하에 안정할 것이고, 미생물, 예컨대 세균 및 곰팡이의 오염 활동에 대하여 보존될 수 있다. 상기 약학적으로 허용가능한 담체는, 예를 들면

물, 에탄올, 폴리올(예를 들면, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 적합한 이들의 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산물 배지일 수 있다. 적절한 유동성이, 예를 들면 코팅, 예컨대 레시틴의 이용에 의해, 분산물의 경우에는 원하는 입자 크기의 유지를 위해, 및 계면활성제의 이용에 의해 유지될 수 있다. 미생물의 예방은 가열, 상기 제제를 세제, 조사에 노출하거나, 다양한 항균제 또는 항진균 제제를 첨가함으로써 달성될 수 있다.

[0083] 살균한 주입가능한 용액은 적절한 용매 단독 또는 상기 열거된 성분을 병용하여 필요한 양으로 활성 화합물(예를 들면, 하나 이상의 Dengue 바이러스 혈청형에 대한 면역 반응을 유도하는 화합물)을 포함시킴으로써, 필요에 따라 그 후에 여과 살균하여 제조될 수 있다.

[0084] 제형화시, 용액은 용량 제형물과 호환가능한 방식으로 및 치료적으로 효과적인 양으로 투여될 것이다. 상기 제형물은 여러 가지 용량 형태, 예컨대 진술한 주입가능한 용액의 유형으로 쉽게 투여된다. 조성물이 특히 근육내, 피하, 피내, 비강내 및 복강내 투여에 적합한 것이 고려된다. 특정한 비율은, 예컨대 1:1, 1:2 또는 다른 비율(예를 들면, 주어진 Dengue 바이러스 혈청형의 PFU)로 구할 수 있다.

[0085] 상기 활성있는 치료적 제제는 미리 결정된 혼합 비율로 제형화될 수 있다. 단일 투여량 또는 복수 투여량은 또한 주어진 상황(예를 들면, 여행, Dengue 발생 전에)에 대한 적절한 일정에 투여될 수 있다.

[0086] 다른 구현예에서, 점비액(nasal solution) 또는 비강 스프레이, 에어로졸 또는 흡입제가 관심있는 상기 화합물을 전달하기 위하여 사용될 수 있다. 다른 방식의 투여에 적합한 추가적인 제형물은 좌약 및 질 좌약을 포함한다.

[0087] 특정한 제형물은 부형제, 예를 들면 약학적 등급의 만니톨, 락토스, 전분, 마그네슘 스테아레이트, 나트륨 사카린, 셀룰로오스, 마그네슘 카보네이트 등을 포함할 수 있다.

[0088] 약학적 조성물은 예컨대 지속적으로 방출하는 제형물 또는 코팅과 같이 생체로부터 빠른 제거에 대하여 활성 성분을 보호하는 담체로 제조될 수 있다. 이러한 담체는 제어된 방출 제형물, 예컨대 마이크로캡슐화된 전달 시스템, 및 생분해성, 생체적합성 폴리머, 예컨대 에틸렌 비닐아세테이트, 폴리안하이드라이드(polyanhydride), 폴리글리콜산, 폴리ortho에스테르, 폴리아세탄산 및 알려진 다른 것을 포함하지만, 이에 한정되지 아니한다.

[0089] 약학적 조성물은 이식의 부작용을 억제하거나 완화하기 위하여 및/또는 거부를 감소시키거나 예방하기 위하여 효과적인 양으로 및 빈도로 투여된다. 처리의 정확한 용량 및 기간은 알려진 시험 프로토콜을 이용하여 경험적으로 결정될 수 있거나, 본 기술 분야에 알려진 모델 시스템에서 상기 조성물을 시험하고 그것으로부터 추정하여 결정될 수 있다. 또한 용량은 상기 중증도 조건에 따라 다를 수 있다. 약학적 조성물은 원하지 않는 부작용을 최소화하면서 치료적으로 유용한 효과를 가하기 위하여 일반적으로 제형화되고 투여된다. 보통, 약 10^2 내지 10^6 PFU 범위인 투여량이 초기 및 선택적으로 투여될 수 있고, 필요하다면 그 다음에 30일 내에 또는 180일 이후까지 2차 투여될 수 있다. 어떤 구현예에서, 개체는 본 발명에 개시된 1가, 2가, 3가 또는 4가 조성물을 수용할 수 있고, 상기 조성물은 단일 조성물 혼합물이거나 다른 Dengue 바이러스 혈청형의 미리 결정된 조성물을 갖는다. 일부 구현예에서, DEN2/4 키메라는 다른 Dengue 바이러스 혈청형, 예컨대 생약독화 Dengue-1보다 더 높은 농도로 존재할 수 있다.

[0090] 임의의 특정한 개체를 위하여 특정한 용량 요법이 상기 필요한 개인에 따라 초과 시간 조정될 수 있는 것이 분명할 것이다.

[0091] 한 구현예에서, 본 발명에 개시된 조성물은 개체에 피하로 또는 피내로 투여될 수 있다.

[0092] 생약독화 Dengue 바이러스를 함유하는 상기 약학적 조성물은, 예를 들면 피하로, 근육내로, 비강내로, 경구로, 국부적으로, 경피로, 비경구적으로, 위장내로, 기관지로 및 치조를 통하여(transalveolarly) 개인, 특히 인간에 투여될 수 있다. 국부 투여는 세린 프로테아제의 억제제의 치료적으로 효과적인 양을 함유하는, 국부적으로 적용하는 크림, 젤, 린스 등을 통하여 달성된다. 경피 투여는 피부를 통과하고, 혈류로 들어가기 위하여 세린 프로테아제의 억제제를 허용할 수 있는 크림, 린스, 젤 등의 적용으로 달성된다. 게다가, 삼투 펌프가 투여를 위하여 사용될 수 있다. 상기 필요한 용량은 처리되는 특정한 조건, 투여 방법 및 생체로부터 분자의 제거 속도에 따라 다를 것이다.

[0093] 본 발명의 방법의 어떤 구현예에서, 상기 개체는 포유동물, 예컨대 인간 또는 가축(veterinary) 및/또는 사육 동물 또는 가축(livestock) 또는 야생 동물일 수 있다.

[0094] **치료 방법**

[0095] 본 발명의 한 구현예에서, 방법은 본 발명에서 고려된 생약독화 및/또는 키메라성 바이러스 구조체의 1가, 2가, 3가 또는 4가 제형물을 이용하여 뎅기 바이러스 혈청형(들)에 대한 면역 반응을 유도하는 것을 제공한다.

[0096] 본 발명의 구현예는 추가로 하기의 비제한적 예로 예시되고, 이는 이들의 범위로 제한을 부과하는 것과 같은 임의의 방법으로 이해되는 것은 아니다. 그와는 반대로, 수단(resort)은 다양한 다른 구현예, 변형 및 이들의 등가물을 가질 수 있는 것이 명확하게 이해되는 것이고, 본 발명의 설명을 읽은 후에, 본 발명의 의미 또는 첨부된 청구항의 범위로부터 벗어남 없이 본 기술 분야의 통상의 기술자에게 그것들을 제안할 수 있다.

[0097] **실시예**

[0098] 하기 실시예는 본 발명에 제시된 어떤 구현예를 증명하기 위하여 포함된다. 하기 실시예에서 개시된 기술이 본 발명에 개시된 내용을 실행시에 잘 기능하는 확인된 기술을 나타내는 것이 본 기술 분야의 통상의 기술자에게 인식되어야 하며, 따라서 그것의 실행을 위하여 바람직한 방식을 구성하는 것으로 고려될 수 있다. 하지만, 본 기술 분야의 통상의 기술자는 본 발명의 개시를 통하여, 개시된 특정한 구현예에서 많은 변경이 만들어질 수 있고, 본 발명의 의미 및 범위로부터 벗어남 없이 같은 또는 유사한 결과를 여전히 얻을 수 있는 것을 인식해야 한다.

[0099] **실시예 1**

[0100] 일부 예시적인 방법에서, 본 발명에 나타난 바와 같이 "마스터 바이러스 시드(MVS)"를 발생시키기 위하여 사용한 조성물이 개시된다. 이러한 조성물은 하나 이상의 생약독화 뎅기 바이러스, 예컨대 DEN-1, DEN-2, DEN-3, 및 DEN-4로부터 유래될 수 있다. 특정한 방법에서, 조성물은 본 발명에서 DENVax-1, DENVax-2, DENVax-3, 및 DENVax-4로 나타난 개시된 특이적 구조체를 포함하지만, 이에 한정되지 않는, 하나 이상의 생약독화 뎅기 바이러스로부터 유래될 수 있다. 다른 예시적 방법에서, 이러한 조성물을 발생시키고 특정화하기 위하여 사용된 전략이 제공된다. 다른 구현예에서, 4가 뎅기 바이러스 제형물 및 이러한 제형물의 유전적 및 표현형적 특성분석이 제공된다.

[0101] **전-마스터(pre-master) DENVax 바이러스의 생산 및 분석**

[0102] 특정한 절차, 예컨대 뎅기 바이러스(예를 들면, DENVax)의 연속 증폭 및 정제가 전-마스터 뎅기 바이러스 시드를 발생시키기 위하여 수행되었다. 먼저, DENVax 바이러스를 전장(full-length) 재조합 DENVax cDNA로부터 전사된 바이러스 RNA를 생산이 증명된 세포(예를 들면, Vero 세포)로 형질감염에 의하여 다시 유도하였고, 결과적으로 P1(계대배양 1) 바이러스 시드를 얻었다. 그 후, 뎅기-1 내지 뎅기-4 각각으로부터 4개의 P1 바이러스를 증폭하였고, 후보 전-마스터 백신 P7 시드를 얻기 위하여 플라크를 정제하였다(표 1 참조). 뎅기 바이러스의 계대배양을 분석하기 위하여 특정한 시험을 수행하였다. 예를 들면, 전장 게놈 서열분석은 4개의 모든 P2(계대배양 2) 시드 바이러스가 그들의 상동성 조상인 연구-유래된, 연구-등급 후보 백신 바이러스와 유전적으로 동일한 것을 나타내었다. 원래의 플라크 표현형은 또한 상기 P2 바이러스에서 유지되었다. 6개의 플라크 정제된 바이러스(P3 A-F)가 상기 P2 시드로부터 각 뎅기 바이러스 혈청형(예를 들면, DENVax1-4)에 대하여 분리되었고, 각 단리된 플라크는 직접적으로 2회 이상 플라크 정제되었다. 각 바이러스의 3차 플라크 정제(P5)는 잠재적인 전-마스터 P7 DENVax 시드를 생산하기 위하여 Vero 세포에서 2회(P6 A-F 및 P7 A-F) 증폭되었다(표 1 참조).

표 1

[0103] WCB-Vero 세포에서 DENVax 바이러스의 cGMP 재유도의 예

계대배양	시드 생산/정제	특성분석
P1	전사된 바이러스 RNA로 WCB-Vero를 형질감염	플라크 적정
P2	P1 바이러스를 증폭	전체 게놈 서열
P3	6개의 플라크(A-F) 선택/P2 유래 혈청형 플라크 분석	플라크 정제
P4	P3 플라크 분석으로부터 플라크 A-F 선택	플라크 정제
P5	P4 플라크 분석으로부터 플라크 A-F 선택	플라크 정제
P6	P5 A-F 플라크 증폭	플라크 적정
P7	전-마스터 시드: P6 A-F 증폭	전체 게놈 서열, TaqMAMA, 플라크 표현형
P8*	MVS: 선택된 P7 바이러스 시드 증폭	전체 유전적 및 표현형 특성 분석

P9	WVS: P8 마스터 시드 바이러스 증폭	전체 게놈 서열, TaqMAMA
P10	BVS: P9 작용성 시드 바이러스 증폭	전체 게놈 서열, TaqMAMA
* 하나의 최적 P7 시드(A, B, C, D, E 또는 F)를 P8 MVS를 만들기 위하여 유전적 및 플라크 분석에 기초하여 선택하였다.		

[0104]

일부 시험을 P7 DENVax 시드를 특징화하기 위하여, 예컨대 상기 P7 시드의 게놈 서열 및 플라크 표현형 분석, 및 P2 시드와 비교를 추가로 수행하였다(표 2). 상기 P7 바이러스의 플라크 표현형은 상기 P2 시드의 것과 대개 유사하였다. 일부 예시적인 실험에서, 바이러스 역가를 모니터하였다. 바이러스 역가는 5개 바이러스를 제외하고 상기 P7 시드의 대부분에 대하여 6.0 log pfu/ml 이상에 도달하였다. Vero 세포에서 10회 이상의 연속 계대 배양 후에 60개 이상의 후보 백신 바이러스 시드의 게놈 서열분석은 DENV-2 PDK-53 유전적 백터의 3개의 주요한 약독화 결정체의 NS1-53 및 NS3-250에서 복귀 현상이 없는 것을 확인하였고, 이는 이러한 2개의 유전자자리가 후보 백신 바이러스 시드에서 매우 안정한 것을 제안한다. 이러한 2개의 위치에 대한 정방향 및 역방향 서열분석 모두로부터 발생된 24개의 후보 균주의 모든 서열 크로마토그램은 NS1-53 및 NS3-250 유전적 유전자자리에서 임의의 작은 뉴클레오타이드 개체군 현상 없이 동일하였다. NS1 및 NS3 위치와 대조적으로, 5'NCR-57 약독화 유전자자리에서 다른 수준의 복귀가 복수의 연속적으로 계대배양된 연구 등급 백신 바이러스로부터 확인되었고, 이는 이 유전자자리가 세포 배양에서 복수의 계대배양 후에 NS1 및 NS3만큼 안정하지 않을 수 있음을 제안한다. 따라서, 민감성 미스매치 증폭 분석(sensitive mismatch amplification assay, TaqMAMA)을 실시간 RT-PCR로 상기 5'NCR-57 유전자자리에서 복귀 비율을 정확히 측정하기 위하여 개발하였다. 일부 연구에서, 상기 P7 시드 중 모든 24개의 5'NCR-57 복귀는 TaqMAMA에 의해 측정되었다. 상기 분석에서 각 바이러스에 대한 유입 바이러스 RNA의 농도에 따라, 상기 TaqMAMA의 민감도 한계는 0.01% 내지 0.07% 복귀 사이의 범위였고, 이는 공통 게놈 서열 분석에 의해 검출가능한 10-30% 복귀 민감도 한계보다 훨씬 더 민감한 것이다. 결과 데이터는 24개의 P7 바이러스 중 15개는 최소 또는 검출불가능한 복귀(< 0.07%)를 나타내고, 하나의 바이러스(DENVax-3-D)는 거의 100% 복귀를 나타내며, 8개 바이러스(DENVax-1 1개, DENVax-2 1개, DENVax-3 2개, 및 DENVax-4 4개)는 0.08% 내지 12.85%의 범위인 부분적 복귀를 나타내는 것을 예시한다(표 2). 전장 게놈 서열분석은 TaqMAMA으로 측정된 것과 같이 낮은 수준의 5'NCR57 복귀가 있는 P7 바이러스 24개 중 16개에 대해 수행되었다. 상기 모든 서열분석된 바이러스는 다른 2개의 DENVax 약독화 결정인자(NS1-53, NS3-250)를 유지하였고, 모두 원래의 가공된 재조합 cDNA 클론에는 존재하지 않았던 추가적인 돌연변이를 수득하였다(표 2). 한 예시적인 표적 백신 조성물에서, DENVax-1-A, DENVax-2-F, DENVax-3-F, 및 DENVax-4-F가 각 혈청형에 대한 표적 전-마스터 시드로 선택되었는데, 그 이유는 그들의 유전자형 및 플라크 표현형이 원래의 설계된 백신 재조합체의 것과 가장 밀접하게 유사했기 때문이다. 상기 DENVax-1-A, DENVax-2-F, 및 DENVax-4-F는 2개의 밀접하지 않은(non-synonymous) 돌연변이를 가지고, 상기 DENVax-3-F은 하나를 갖는다. 상기 증거는 이러한 4개의 전-마스터 시드에서 관찰되는 이러한 추가적인 돌연변이가 상기 바이러스에 대한 안전성 문제 또는 면역원성 변화를 유발하지 않음을 제안한다. 이러한 전-마스터 시드는 상기 MVS(표 1에서 P7로 표기된 마스터 시드)를 발생시키기 위하여 추가로 증폭되었다.

[0105]

본 발명에서 제공된 예시적인 방법은 백신 바이러스를 발생시키기 위하여 백신-증명된 Vero 세포를 형질감염시키는 순수한 원료로서 클로닝된 cDNA 플라스미드로부터 정제되고 시험관 내에서 전사된 바이러스 RNA를 사용하였다. 연속 플라크 정제 및 전체 게놈 서열 분석은 최적의 순도 및 유전적 안정성이 있는 가공된 백신 시드를 보장하기 위하여 제조방법 절차에 포함되었다. 6개의 클로닝된 바이러스를 각 DENVax 혈청형에 대한 잠재적인 전-마스터 시드로서 제조하였다. TaqMAMA 및 완전한 게놈 서열분석을 포함하는 게놈 분석뿐만 아니라 바이러스 플라크 표현형 특성분석을 통하여, 각 혈청형(혈청형 1-4)에 대한 마스터 바이러스 시드 생산으로 나아가기 위하여 전-마스터 시드를 선택하였다. 상기 선택된 전-마스터 시드는 그들의 게놈에 1개 또는 2개의 아미노산 치환이 있는 상기 5'NCR-57 유전자자리에서 검출불가능한 복귀(<0.01% 또는 <0.07%)를 가지며, 이전에 관찰된 작은 플라크 표현형을 유지하였다.

표 2

바이러스	클론 ^a	TaqMAMA ^b	Log ₁₀ pfu/ml	플라크 ^c	게놈에서 확인된 돌연변이 ^d
DENVax-1	A	**	6.85	P2	NS2A-116 I-L, NS2B-92 E-D, 하나의 사일런트
	B	*	6.93	P2	nd ^e
	C	*	6.93	D	nd
	D	**	7.02	D	C-67 K-A; 하나의 사일런트
	E	0.57%	7.28	P2	nd
	F	**	7.18	P2	E473 T-M; 하나의 사일런트
DENVax-2	A	0.03%	6.33	P2	NS1-341 K-N
	B	*	6.33	P2	E-305 K-T, 두 개의 사일런트
	C	*	5.84	L	NS4A-18 T-A, 네 개의 사일런트
	D	0.08%	6.20	P2	NS2B-99 I-L, 하나의 3'NCR
	E	0.03%	6.31	P2	prM-52 K-E, NS5-412 I-V, 두 개의 사일런트
	F	**	6.15	P2	prM-52 K-E, NS5-412 I-V
DENVax-3	A	*	6.00	P2	NS5-200 K-N, 하나의 사일런트, 하나의 3'NCR
	B	0.05%	6.27	P2	NS2A-33 I-T, NS2A-59 M-T
	C	0.30%	6.25	P2	nd
	D	100.00%	6.27	P2	nd
	E	0.31%	6.00	P2	nd
	F	**	6.30	P2	E-223 T-S, 하나의 사일런트
DENVax-4	A	0.47%	5.60	P2	E323 K-R/K, NS2B-21 L-F/L, NS2B-39 T-S, 하나의 사일런트
	B	*	5.65	D	NS2A-126 A-V; NS4A-5 N-D; NS5-383 K-R, 하나의 사일런트
	C	4.50%	5.90	P2	nd
	D	12.85%	5.97	D	nd
	E	0.52%	6.85	S	prM-85 E-D, NS2B-45 T-A, NS5-320 M-T, NS5-551 E-G, 두 개의 잠재성
	F	0.02%	6.93	S	NS2A-66 D-G, NS4A-21 A-V, 네 개의 사일런트

^aMVS의 추가 개발에 의해 선택된 클로닝된 바이러스(연속 플라크 정제에 의해)가 볼드체로 표기된다.
^b**: 복귀 비율 < 0.07%(검출 한계) **: 복귀 비율 < 0.01%(검출 한계)
^c플라크 표현형: P2: P2 바이러스와 유사함; L = P2 바이러스보다 큼, D = 작은 크기이지만, 상기 플라크의 선명함에서 약간 다르게 보임; S = P2보다 작음.
^d상기 제작된 DENVax cDNA 클론과 다른 차원, 아미노산 돌연변이가 상기 바이러스 단백질 및 변경(wt-돌연변이)의 잔기 위치와 열거된다.
^e각 씨드의 구조 및 비구조 유전자의 잠재성(silent) 돌연변이의 총 수가 열거된다.
^f비-암호화 영역(NCR)에서 돌연변이가 또한 언급된다.
^gnd = 수행되지 않음. 이러한 클론은 다른 클론보다 높은 5'NCR-57 복귀 비율(TaqMAMA에 의해)을 가지므로, 추가 서열 분석에서 제외하였다.

[0106]

[0107]

실시예 2

[0108]

일부 예시적인 방법에서, 마스터 바이러스 시드, 작용성 바이러스 시드 및 벌크 바이러스 시드의 조성물뿐만 아니라 그들의 유전적 및 표현형 특성분석이 기재된다. 이러한 조성물이 임상 재료의 제조 및 최종적으로 상업적 백신 공급용으로 제공된다. 연속 플라크 정제 및 전체 게놈 서열 분석은 임상 시도 재료의 제조를 위해 최적의 안전성 및 유전적 안정성을 갖는 백신 시드 조성물을 보장하기 위하여 제조방법으로 포함되었다.

[0109]

MVS, WVS, 및 BVS에 대한 생산 및 제조 품질 관리

[0110]

일부 연구에서, 상기 4개의 DENVax의 MVS는 증명된 Vero 세포에서 상기 전-마스터 P7 시드를 증폭함으로써 생산되었다. 다른 연구에서, 세포 공장에서 다량의 WVS를 만들기 위하여 MVS가 이용되었다. 추가로, 상기 DENVax의 BVS 저장물(stock)은 상기 WVS로부터 증폭되었고, 인간 임상 시험을 위해 이용되는 4가 약물 생산 혼합물로 제형화되었다. 생산물 방출의 품질 관리는 동일성에 대한 모든 MVS, WVS, 및 BVS의 시험, 감염성 역가, 멸균율, 마이코플라즈마 및 시험관 내 및 생체 내에서 오염 인자(adventitious agent)를 포함하지만, 이에 한정되지 않는 일부 예시적인 방법에서 수행되었다. 모든 시드는 혈청형-특이적 RT-PCR 분석을 이용한 바이러스 동일성 시험을 통과하였으며, 이는 그들의 혈청형에 상응하는 양성 증폭 및 비상동성 혈청형에 대하여 음성을 나타내었다(데이터는 나타내지 않음). 검출가능한 마이코플라즈마 또는 오염 인자는 상기 MVS, WVS, 또는 BVS 저장물에서 검출되지 않았다.

[0111]

상기 MVS, WVS, 및 BVS의 유전적 분석

[0112]

특정한 예시적인 방법에서, 상기 선택된 전-MVS로부터 MVS 발생 후에 상기 선택된 (P7) 균주가 생산되었고, 해당 바이러스 RNA가 다시 서열분석되었다. 전장 게놈 서열분석은 DENVax-1에 대한 MVS가 그것의 전-마스터 시드

와 동일하였음을 나타낸 반면, WVS 및 다음의 BVS는 E-483 및 NS4B-108에서 2개의 추가적인 치환을 획득하였다(표 2 및 표 3 참조). E-483에서의 Ala 치환은 상기 MVS 내의 유전자형의 일부를 나타냈지만, BVS에서는 우세한 유전자형이 되었다. DENVax-2 및 DENVax-3는 그들의 해당 전-마스터 시드와 동일하였다(표 2 및 표 3). 상기 DENVax-2 MVS는 그것의 전-마스터 시드와 동일하였고, 상기 WVS 및 BVS는 NS4A-36 및 NS4B-111에서 2개의 추가적인 돌연변이를 가졌다. 양쪽 돌연변이 모두는 WVS에서 부분적이었고, BVS에서는 주요 유전자형이었다. DENVax-3의 MVS는 다시 상기 전-마스터 시드와 다시 동일하였으나, 상기 WVS 및 BVS는 NS4A-23에서 추가적인 아미노산 치환을 함유하였다. 상기 DENVax-4 MVS는 MVS의 생산 동안, 유전자자리 NS2A-99에서 추가적인 아미노산 돌연변이를 획득하였다(Lys으로부터 Lys/Arg 혼합 유전자형)(표 3). 그것의 WVS 및 BVS는 상기 NS2A-99 Lys/Arg 혼합 유전자형을 유지하였고, 상기 BVS는 추가의 NS4B-238 Ser/Phe 혼합 유전자형을 가졌다. 공통 서열 결과는 또한 MVS, WVS뿐만 아니라 BV가 상기 5'NCR-57, NS1-53, 및 NS3-250 유전자자리에서 3개의 유전적 약독화 결정체를 유지하는 것을 확인하였다. TaqMAMA에 의해 적어도 안정한 약독화 유전자자리의 분석은 MVS에서 <0.7% 및 0.13% 사이, WVS에서 ≤0.07%, 및 BVS에서 <0.07 및 0.21% 사이의 5'NCR-57 복귀 비율을 나타내었다. 상기 5'NCR-57 유전자자리에서의 3% 복귀는 백신 로트(lot)의 수용을 위한 최대 허용 비율로 여겨졌다(표 3).

표 3

DENVax	뉴클레오타이드	아미노산	전-마스터	MVS ^a	WVS ^a	BVS ^a
DENVax-1	2384 G-C	E-483 Gly-Ala	-	-	Gly/Ala	Ala
	3823 A-C	NS2A-116 Ile-Leu	Leu	Leu	Leu	Leu
	4407 A-T	NS2B-92 Glu-Asp	Asp	Asp	Asp	Asp
	7148 C-T	NS4B-108 Thr-Ile	-	-	Ile	Ile
	7311 A-G	사일런트	G	G	G	G
	TaqMAMA 5'NCR-57 복귀 % ^b	--	-	-	-	-
DENVax-2	592 A-G	prM-52 Lys-Glu	Glu	Glu	Glu	Glu
	6481 G-C	NS4A-36 Ala-Pro	-	-	Ala/Pro	Pro
	7156 C-T	NS4B-111 Leu-Phe	-	-	Leu/Phe	Phe
	8803 A-G	NS5-412 Ile-Val	Val	Val	Val	Val
	TaqMAMA 5'NCR-57 복귀 % ^b	--	-	0.07%	0.21%	
DENVax-3	1603 A-T	E-223 Thr-Ser	Ser	Ser	Ser	Ser
	6436 G-A	NS4A-23 Asp-Asn	-	-	Asn	Asn
	7620 A-G	사일런트	G	G	G	G
	TaqMAMA 5'NCR-57 복귀 % ^b	--	-	-	-	-
DENVax-4	225 A-T	사일런트	T	T	T	T
	3674 A-G	NS2A-66 Asp-Gly	Gly	Gly	Gly	Gly
	3773 A-A/G	NS2A-99 Lys-Lys/Arg	-	Lys/Arg	Lys/Arg	Lys/Arg
	5391 C-T	사일런트	T	T	T	T
	6437 C-T	NS4A-21 Ala-Val	Val	Val	Val	Val
	7026 T-C	사일런트	T/C	T/C	T/C	T/C
	7538 C-C/T	NS4B-238 Ser-Ser/Phe	-	-	Ser/Phe	Ser/Phe
	9750 A-C	사일런트	C	C	C	C
	TaqMAMA 5'NCR-57 복귀 % ^b	-	0.13%	-	-	-
^a 볼드체:MVS 저장물에서 시작된 변경						
^b "-"는 복귀 비율을 나타낸다<0.01%(검출 한계), "-"는 복귀비율을 나타낸다<0.07%(검출 한계)						

[0113]

[0114]

전체-게놈 서열 분석은 추가적인 아미노산 돌연변이가 DENVax-4 MVS에서 생겼지만, 다른 3개의 DENVax MVS 로트는 그들의 전-마스터 시드의 공통 게놈 서열을 유지하는 것을 나타내었다. 전반적으로, 상기 P1 시드로부터 전-마스터(P7) 시드로 유도할 때, 오직 1개 또는 2개의 밀접하지 않은 돌연변이가 주어진 시드에서 발생하였다. P1 으로부터 MVS(P8) 시드까지는 2 내지 7개 뉴클레오타이드 치환이 임의의 주어진 DENVax 시드에서 확인되었고, 이러한 치환 중 오직 2 내지 3개만이 아미노산 변경을 야기하였다. 따라서, 작은 변경이 일어났다. RNA 바이러스는 그들의 게놈 복제에서 오류 발생이 쉽고, 따라서 세포 계대배양 동안 플라비바이러스 게놈에서 유전적 치환은 예상치 못한 것은 아니다. 상기 MVS에서 사일런트(silent) 돌연변이는 바이러스 복제에 영향을 줄 수 있는 상기 5' 또는 3 'NCR 내에는 없다. 오직 상기 DENVax-2의 prM-52 Lys-Glu에서의 변경 및 DENVax-4의 NS2A-66 Asp-Gly에서의 상기 치환만이 보존적 변경이 아니었다. 상기 DENVax-4의 NS2A-66 돌연변이는 상기 DENV-2 PDK-53의 비구조 백본 부분 내에 있다. NS2A-66 유전자자리는 보통 다양한 DENV-2 균주에서 Asp이기는 하지만, 그것은 DENV-4에서는 보통 Gly이다. 상기 DENVax-4에서 Asp의 Gly 변경이 Vero 세포에서 상기 DENVax-4의 적합함에 대하여 적절한 것이 가능하다. 상기 DENVax-2 prM-52 돌연변이는 성숙한 바이러스 입자로부터 잘려나가는 prM의 C-말단 부분에 있다. 일부 예시적인 방법에서, 상기 MVS 시드 내의 상기 돌연변이가 상기 백신의 약독화 표현형을 현저하게 바꾸지 않는 것을 확인하기 위하여 표현형 특성분석을 수행하였다.

[0115] 상기 DENVax 바이러스는 제조 공정 동안 높은 유전 안정성을 나타내었다. 5'NCR, NS1-53, 및 NS3-250에 위치한 상기 3개의 정의된 DENV-2 PDK-53 약독화 유전자자리는 백신 제조를 벌크화하기 위하여 전-마스터 균주로부터 상기 DENVax의 연속 계대배양시 상기 공통 게놈 서열에서 안정하게 유지하였다. 상기 5'NCR-57 유전자자리의 매우 민감한 TaqMAMA는 탱기 바이러스 혈청형의 상기 MVS, WVS(P9/작용성), 및 BVS(백신용 벌크 바이러스 시드)에서 최소 또는 검출불가능한 복귀를 나타내었다. 상기 DENVax BVS 제조물(P10-등가물)의 5'NCR-57 복귀 비율은 Vero 세포에서 10회 연속 계대배양 후 연구-등급 백신 후보에서 진화한 상기 5'NCR-57 복귀 비율(4-74% 복귀)보다 현저히 낮았다. 본 발명에 제공된 상기 DENVax 시드의 대규모 제조를 위한 전략은 상기 후보 백신 바이러스 내에 상기 약독화 마커를 유지하는 유전적으로 안정한 백신 시드를 야기하였다.

[0116] **DENVax MVS의 플라크 표현형**

[0117] 한 예시적인 방법에서, 상기 DENVax MVS의 플라크 표현형을 야생형 탱기 바이러스 및 Vero 세포에서 그들의 상동성 연구-등급 키메라 바이러스와 비교하였다(도 2). DENVax-1, -2, 및 -3의 모든 MVS는 그들의 야생형 상동체(homolog)보다 현저히 작고, Vero 세포에서 그들의 상동성 연구-등급의 바이러스와 매우 유사한(0.4-mm 차이 내로) 플라크를 생산하였다. 또한 DENVax-4 MVS는 야생형 DENV-4보다 현저히 작았지만, 원래의 실험실 유래 D2/4-V 키메라보다 약간 컸다(0.9mm 차이).

[0118] 도 2는 대조군 야생형 바이러스 및 연구-등급 백신 후보 바이러스와 비교하여 상기 DENVax MVS의 플라크 사이즈를 나타내는 예시적인 히스토그램을 나타낸다. 9pi일에 아가로스 오버레이 하의 Vero 세포에서 상기 바이러스 플라크의 평균 플라크 직경 $\pm$ SD(오차 막대)를 측정하였다. 검정색 막대로 나타낸 상기 야생형 DEN 바이러스 및 흰색 막대로 나타낸 이전에 공개된 연구-등급 백신 후보 바이러스는 회색 막대로 나타낸 DENVax 마스터 백신 시드에 대한대조 및 비교를 위해 포함되었다.

[0119] **DENVax MVS의 온도 민감성**

[0120] 다른 예시적인 방법에서, 온도 민감성이 상기 DENVax MVS에 대하여 Vero 세포에서 시험되었고, 그들의 상동성 야생형 및 원래의 연구-등급 키메라 백신 바이러스와 비교되었다. 상기 야생형(wt) DENV-3 16562는 온도 민감성이 아니었다. 상기 wt 탱기 바이러스 혈청형 1 및 탱기 바이러스 혈청형-4은 39℃에서 적당히 온도 민감성이었다(역가는 37℃에서보다 39℃에서 대략 1.0 log₁₀ pfu/ml 더 낮았다, 도 3). Wt 탱기 바이러스 혈청형-2 16681은 시험된 wt 탱기 바이러스들 중에서 가장 온도 민감성이었고, 39℃에서 100배 역가 하락을 야기하였다. DENVax-1, -2, 및 -3은 그들의 원래의 상동성 연구-등급 키메라 백신 바이러스만큼 온도 민감성이었다(도 2). 39℃에서의 역가는 이러한 DENVax 균주에 대하여 2.0 및 3.0 log₁₀ pfu/ml 사이로 하락하였다. 또한 DENVax-4는 온도 민감성이었고, 역가에서 5배 감소를 나타내었다. 하지만, 원래의 연구-등급 D2/4-V는 역가에서 약 10배 감소를 나타내었다. 최종 안정화된 DENVax-4 MVS는 탱기 바이러스의 온도 안정성을 향상시키는 것을 나타낸 F127(및 이러한 제형물을 안정화하는 것으로 알려진 다른 제제(FTA))를 함유하였다. DENVax-4 MVS 내에 상기 F127가 존재하면 상기 Vero 배양 분석에서 상기 바이러스의 덜 확연한 온도 민감성에 기여할 것이다. 별도의 실험에서, F127가 부재한 MSV-유래 DENVax-4 균주의 온도 민감성이 추가로 평가되었다. 상기 균주로부터 상기 F127를 제거하기 위하여, 바이러스 RNA가 DENVax-4 벌크 바이러스 제조물로부터 분리되었으며, Vero 세포로 형질감염되었다. 이 DENVax-4 바이러스는 F127가 부재시 3pi일에 상기 D2/4V 연구 균주만큼 온도 민감성인 것을 나타내었다(1.5 log₁₀ pfu/ml 감소된 역가)(도 3).

[0121] 도 3은 DENVax MVS의 온도 민감성을 나타내는 예시적인 히스토그램을 나타낸다. 상기 야생형 탱기 바이러스 및 이전에 공개된 연구-등급 백신 후보 바이러스가 비교를 위해 포함되었다. 상기 DENVax-4 MVS는 이 분석에서 상기 바이러스의 온도 민감성 결과를 가릴 수 있는 추가적인 F-127를 함유한다. F127가 부재한 대용 DENVax-4을 분석하는 별도의 실험이 또한 포함되었다. 상기 바이러스의 평균 역가 $\pm$ SD(오차 막대)는 37℃ 또는 39℃에서 반복 검증하였다.

[0122] **모기 C6/36 세포에서 DENVax MVS 복제**

[0123] 일부 예시적인 방법에서, 상기 연구-등급 키메라 백신 바이러스가 이러한 모기 세포에서 상기 백신 DENV-2 PDK53 바이러스의 약독화 표현형을 유지한다는 지식을 갖고서, 시험관 내에서 약독화 표현형을 유지하는지 확인하기 위하여 C6/36 세포에서 성장시켰다. wt 탱기 바이러스와 비교시, DENVax-1, DENVax-2 및 DENVax-4 MVS는 6pi일에 상기 DENVax MVS를 C6/36 세포에서 현저한 성장 감소(적어도 3 log₁₀ pfu/ml 감소)를 나타내었다(도 4). 상기 DENVax-3 MSV는 또한 상기 wt DENV-3 16562와 비교하여 감소된 성장을 나타내었지만, 상기 감소는 뚜

릿하지 않았다($1-2 \log_{10}$ pfu/ml 감소). 하지만, 상기 DENVax-3 시드 로트의 C6/36 역가는 원래의 연구-등급 키메라 D2/3-V 백신 바이러스의 C6/36 역가와 유사하였다($1 \log_{10}$ pfu/ml 차이 내로).

[0124] 도 4는 wt 땡기 바이러스(검정색 막대) 및 연구-등급 백신 바이러스(흰색 막대)와 비교하여 C6/36 세포에서 DENVax MVS(회색 막대)의 제한 성장을 플롯팅한 예시적인 히스토그램을 나타낸다. 상기 바이러스의 평균 역가 $\pm$ SD(오차 막대)는 C6/36 세포에서 6일 pi에서 복제되었다.

[0125] **전체 모기에서 바이러스 감염, 전반(dissemination) 및 전염(transmission) 비율**

[0126] 일부 예시적인 방법에서, 상기 DENVax의 감염 및 전반 비율이 그들의 모 wt 땡기 바이러스와 비교되었다. 특정 예시적인 실험에서, 경구 감염 실험이 *Ae. aegypti* 모기에서 수행되었다. 감염성 혈액 식사가 상기 바이러스 역가를 측정하기 위하여 역-적정되었고(back-titrated), 오직 모 땡기 바이러스 및 각 혈청형에 대한 DENVax 사이의 상기 혈액 식사에서 유사한 바이러스 역가($1 \log_{10}$ pfu/ml 차이 이하)가 있는 실험만이 표 4의 비교군에 대하여 포함되었다. DENVax-1, DENVax-2, 및 연구-등급 D2 PDK-53-VV45R은 경구 투여를 통해 모기를 감염시키지 않았고, 이는 그들의 모 바이러스, DENV-1 16007(44% 감염) 및 DENV-2 16681(43.3% 감염)과 현저하게 달랐다($p < 0.0001$). 모기가 DENVax-1 및 -2에 의해 감염되지 않았기 때문에, 이러한 2개의 백신 바이러스에 대한 전반 문제가 별로 없었다. DENVax-4가 구강 투여를 통해 일부 모기를 감염시키는 반면(55마리 중 2마리), 상기 감염 비율은 그것의 모 wt 바이러스인 DENV-4 1036(50마리 중 8마리)보다 현저하게 낮았다($p < 0.05$). DENVax-3은 $5.2 \pm 0.02 \log_{10}$ pfu/ml의 혈액 식사 바이러스 역가가 있는 2개의 실험에서 임의의 모기를 감염시키지 않았고(표 4), $6.0 \log_{10}$ pfu/ml의 혈액 식사 바이러스 역가가 있는 별도의 실험에서, 오직 30마리 중 1마리 모기만이 감염되었다(데이터는 나타내지 않음). 하지만, wt 땡기 바이러스-3 16562는 또한 $5.2 \log_{10}$ pfu/ml에서 매우 낮은 감염 비율(8%)을 가졌고, 상기 비율은 $6.2 \log_{10}$ pfu/ml에서 더 높은 혈액 식사 바이러스 역가(3%, 30마리 모기 중 양성 1마리, 데이터는 나타내지 않음)가 있는 별도의 실험에서 증가하지 않았다. 상기 야생형(wt) 땡기 바이러스-3 및 땡기 바이러스-4가 상기 wt 땡기 바이러스-1 및 땡기 바이러스-2보다 현저하게 낮은 감염 비율을 가지긴 했지만, 상기 감염된 모기에서 평균 바이러스 역가는 유사하였다(3.1 내지 $3.9 \log_{10}$ pfu/모기). 대조적으로, 상기 2개의 감염된 모기로부터 상기 DENVax-4 역가는 모두 최소였고($0.7 \log_{10}$ pfu/모기), 이는 wt 땡기 바이러스 혈청형-4 1036에 의해 감염된 모기로부터 역가보다 1,000배 낮았다(3.9 ± 1.5 pfu/모기).

[0127] 중장(midgut) 밖으로 감염된, 전반된 그 모기들에 대하여 바이러스가 다리에 존재하는지 확인함으로써 평가될 수 있다. 상기 4개의 모 DENV는 36.3% 및 62.5% 사이의 범위인 전반 비율을 야기하였고, 다리로부터 그들의 평균 바이러스 역가($\log_{10}$ pfu에서)는 0.9 ± 0.3 및 2.2 ± 0.7 사이였다(음성 시료를 제외함). 상기 2개의 DENVax-4 감염된 모기는 모두 다리에 대하여 바이러스 전반을 야기하지 않았다(표 4). 전반된 바이러스는 다리에서 검출 가능한 반면, 상기 4개의 wt 땡기 바이러스는 경구 감염된 모기의 타액에서 검출가능하지 않았고, 이는 경구 투여 조건이 이러한 DENV의 전염 속도를 측정하기 위하여 충분히 민감하지 않을 수 있는 것을 제안한다. 따라서, 다른 예시적인 방법에서, 직접적인 IT 접종으로 매우 가혹한 인공적인 모기 감염을 이어서 수행하였다(표 4). DENVax-4를 제외하고, 모든 바이러스(wt 및 DENVax)는 상기 IT 접종된 *Ae. aegypti*의 100% 감염을 달성하였다. 상기 DENVax-4 접종원은 다른 3개의 바이러스 접종원보다 약간 낮은 바이러스 역가를 가졌지만, 이것은 여전히 상기 접종된 모기의 70%를 성공적으로 감염시켰다. IT 접종에 의해 달성된 높은 생체 감염 비율에도 불구하고, 4개의 모든 DENVax 바이러스는 상기 wt 땡기 바이러스(43-87%, 표 4)에 비하여 현저하게 낮거나($p < 0.005$), 검출가능하지 않은 전염 비율(0-10%)을 나타내었다. 경구 투여 후 상기 DENVax 바이러스는 감염 및 전반이 별로 나타나지 않았고, 상기 매우 가혹한 IT 결과는 *Ae. aegypti*에서 이러한 DENVax 바이러스의 최소 전염 능력을 확인하였다.

표 4

바이러스	경구 투여					IT 접종				
	혈액 식사 ^a	감염 ^b	생체 역가 ^c		전반 ^e	접종원	감염 ^b	생체 역가 ^c	타액 ^f	
	평균± SD	% (P/N)	평균± SD	<i>p</i> ^d	% (P/N) ^f	pfu/d ose	% (P/N)	평균± SD	% (P/N)	<i>p</i> ^d
DENV-1 16007	6.6	44.0% (11/25)	3.6 ± 1.5		36.3% (4/11)	53.9	100% (30/30)	4.7 ± 0.48	43% (13/30)	
DENVax-1	6.9	0% (0/30)	NA	<0.0 001	NA	67.8	100% (30/30)	3.4 ± 0.39	10% (3/30)	<0.00 5
DENV-2 16681	6.6	43.3% (13/30)	3.1 ± 1.5		38.5% (5/13)	67.8	100% (30/30)	5.2 ± 0.34	87% (26/30)	
D2 PDK53- VV45R	6.4	0% (0/30)	NA	<0.0 001	NA	56.4	100% (30/30)	4.0 ± 0.20	0% (0/30)	<0.00 01
DENVax-2	6.4	0% (0/30)	NA	<0.0 001	NA	52.7	100% (30/30)	3.5 ± 0.27	7% (2/30)	<0.00 01
DENV-3 16562	5.2	8% (2/25)	3.8 ± 0.2		50% (1/23)	34.0	100% (30/30)	4.2 ± 0.50	67% (20/30)	
DENVax-3	5.2 ± 0.02	0% (0/50)	NA	0.10 8	NA	37.3	100% (30/30)	3.3 ± 0.36	3% (1/30)	<0.00 01
DENV-4 1036	5.8 ± 0.5	16% (8/50)	3.9 ± 1.5		62.5% (5/8)	69.4	100% (30/30)	5.2 ± 0.45	70% (21/30)	
DENVax-4	5.4 ± 0.4	3.6% (2/55)	0.7 ± 0.0	0.03 3	0% (0/2)	11.8	70% (21/30)	1.1 ± 0.46	0% (0/21)	<0.00 01

^a역 적정 비율로 혈액 식사(log₁₀ pfu/ml)에서 1번 이상의 실험의 경우, 바이러스 역가 또는 평균 ± 표준 편차
^b모기 생체에서 검출된 바이러스의 비율 P/N = 양성/총 모기
^c모기 생체에서 평균 바이러스 역가 ± 표준 편차(log₁₀ pfu/모기), 오직 양성 시료만이 계산에 포함된다.
^d피셔의 직접 확률검증에 의한 wt DENV 및 DENVax 사이의 차이의 통계 분석
^e상기 양성적으로 감염된 모기의 다리에서 검출된 바이러스의 비율
^f상기 양성적으로 감염된 모기의 타액에서 검출된 바이러스의 비율. 전염 효율을 측정하기 위하여 사용됨.

[0128]

[0129]

백터 수용능은 생약독화 플라비바이러스 백신 바이러스에 대한 중요한 안전성 요소이다. 이전에, 상기 연구-등급 DENV-2 PDK-53-VV45R 바이러스 및 wt 유도체가 *Ae. aegypti*에서 시험되었고, 상기 NS1-53-Asp 약독화 돌연변이가 손상된 모기 복제에 대하여 우세한 결정인자였던 것으로 나타났다. 상기 DENV-2 PDK-53 백신의 다른 2개의 주요 약독화 유전자자리인 뉴클레오타이드 5'NCR-57-T 및 NS3-250-Val은 또한 모기에서 복제에 대한 일부 저해 효과를 나타내었고, 따라서 모기 백터 수용능에 대한 추가적인, 불필요한 제한을 제공한다. 본 발명에 기재된 일부 예시적인 방법은 4개의 모든 DENVax에 대한 상기 모기 경구 및 IT 감염 및 복제를 시험하기 위하여 사용하였다. DENVax-1, -2, 및 -3은 경구 감염을 통하여 임의의 *Ae. aegypti* 모기를 감염시키지 않았다(표 4). 상기 DENVax-4는 경구로 노출된 모기의, wt DENV-4 감염된 모기의 것보다 낮은 모기 생체에서 복제하는 평균 역가를 갖는 상기 wt DENV-4의 것보다 현저하게 낮은 수준인, 오직 3.6%만을 감염시켰다. 놀랍게도, DENVax-4는 상기 감염된 모기의 다리에서 검출되었고, 이는 DENVax-4가 경구 감염 후의 상기 모기 증장으로 전파될 수 없는 것을 제안한다. 상기 DENVax-1, -2, 및 -4에 대한 감염 비율은 그들의 wt 대응물보다 모두 덜 현저하지만, 상기 차이는 두 바이러스에 대한 매우 낮은 감염 비율때문에 DENVax-3 및 wt DENV-3 16562 사이에서 유의하지 않다. 태국 매솟주(Mae Sot Province)에서 함께 수집된 *Ae. aegypti*에서 평가된 DENV의 다른 wt 균주와 비교하여, DENVax를 제작하기 위해 사용된 상기 모 wt 탱기 바이러스 균주는 경구 감염에 의해 낮은 감염성 및 전반 비율을 가지는 것으로 보였다. 황열병(YF) 17D 백신-기초한 키메라 Vax-DEN 백신을 제작하기 위해 사용된 wt DENV-1 PU0359, DENV-2 PU0218, DENV-3 PaH881/88, 및 DENV-41288은 47-77% 범위의 감염 비율을 가졌다. 대조적으로, 상기 YF 17D는 *Ae. aegypti*를 감염시킬 수 없었다. 상기 키메라 Vax 균주는 이러한 매우 감염성 wt DENV으로부터 prM-E를 함유하기는 했지만, 상기 키메라 Vax는 그들의 YF 17D 복제 백신의 모기 약독화 표현형을 유지한다. 본 발명에서 제공된 결과는 또한 DENV-2 PDK-53 백신의 모기 약독화가 상기 DENVax 균주에서 유지되었던 것을 나타내었다. 게다가, 본 발명에 기재된 조성물에 포함된 구조체에서 낮은 모기 감염성을 갖는 상기 wt 탱기 바이러스 균주를 이용하여 추가적인 안전성 특징을 제공한다.

[0130]

경구 감염 결과는 상기 DENVax가 최소의 모기 감염성 및 전반 능력을 가지는 것을 예시한다. 게다가, 더 민감하고 가혹한 IT 감염 실험은 DENVax가 *Ae. aegypti*에 의해 전염될 가능성을 추가로 분석하기 위하여 수행하였다. 상기 IT 결과는 4개의 모든 DENVax 바이러스가 그들의 wt 대응물에 비하여 검출가능하지 않은 또는 최소의 모기 전염 가능성을 나타내었다. 만일 (1) 백터를 충분한 바이러스혈증 역가로 백신을 맞은 모기(vaccinee)에 공급하여 모기 증장을 감염시키고, (2) 상기 바이러스가 상기 증장 상피 내에서 복제할 수 있으며, 이어서 상기 증장 밖으로 전파되는 것이 가능하며, (3) 상기 전파된 바이러스가 타액선에서 복제할 수 있고, 전염을 위해 타액에서 충분한 바이러스가 타액으로 뱉어질 수 있는 경우, DENVax 전염은 이론상으로만 일어날 수 있을 것이다. 모

기를 감염시키기 위해 필요한 인간 바이러스혈증의 임계값은 적절하게 수립되지 않았지만, 인간 바이러스혈증은 자연의 wt DENV 감염 후에 10^6 - 10^8 모기 감염성 투여량(mosquito infectious dose)₅₀(MID₅₀)/mℓ일 수 있다. 이 MID₅₀은 회석된 인간 혈장을 갖는 모기의 직접 IT 접종에 기초하였다. 비인간 영장류에서 DENVax의 분석은 DENVax 면역화 후에 바이러스혈증 역가가 매우 낮았고($2.4 \log_{10}$ pfu/mℓ 이하), 2-7일 동안 지속되는 것을 나타내었다. 상기 DENVax의 낮은 바이러스혈증 수준 및 낮은 모기 감염, 전반 및 전염 능력을 고려해 볼 때, 이러한 백신 바이러스가 자연에서 모기로 전염될 수 있거나, 바이러스혈증을 유발할 수 있을 것 같지는 않다.

[0131] 따라서, 임의의 상기 혈청형의 임의의 계대배양(P1-P10)이 1개, 2개, 3개 또는 4개의 모든 탱기 바이러스 혈청형에 대하여 안전하고 효과적인 백신을 발생시키기 위하여 조성물에 사용될 수 있는 것이 제안된다.

[0132] **이유 마우스에서 신경병원성**

[0133] 상기 원래의 연구-등급 백신 바이러스는 사내 DVBD/CDC에서 유지되는 신생 ICR 마우스에서 신경병원성에 대하여 매우 약독화되었다. 모든 이러한 마우스는 각 백신 바이러스의 10^4 pfu로 ic(대뇌 뇌로) 시험에서 생존했다. 반면에, 상기 wt 탱기 바이러스 혈청형-2 16681 바이러스는 다양한 실험에서 이러한 CDC-ICR 마우스에서 62.5%-100% 치사율을 야기하였다. 일부 실험에서, Taconic Labs(Taconic-ICR)에서 얻어진 상업용 ICR 마우스가 신생 마우스에서 신경병원성을 연구하기 위하여 사용되었다. 신생 Taconic-ICR 마우스가 상기 이전의 CDC-ICR 마우스보다 탱기 바이러스 혈청형-2 감염에 대하여 더 현저하게 예민하였던 것이 관찰되었다. 도 5의 A는 상기 바이러스의 10^4 pfu로 ic 시험된 CDC-ICR 콜로니 및 Taconic-ICR 신생 마우스에서 wt 탱기 바이러스 혈청형-2 16681의 신경병원성을 요약한다. 상기 Taconic-ICR 마우스(32마리 마우스에서 100% 치사율, 8.3 ± 0.5 일의 평균 생존 시간)는 상기 이전의 CDC-ICR 마우스(72마리 마우스에서 91% 사망수, 14.6 ± 2.3 일의 평균 생존 시간)보다 ic 탱기 바이러스 혈청형-2 16681 시험에 대해 더 예민하였다.

[0134] 다른 예시적인 방법에서, 처음에 상기 DENVax MVS의 신경병원성을 평가하기 위하여, 상기 Taconic-ICR 마우스는 하나(n=16) 또는 두(n=31-32) 실험에서 wt 탱기 바이러스 혈청형-2 16681, D2 PDK-53 VV45R, D2/3-V, 또는 DENVax1-4 바이러스의 대략 10^4 pfu의 투여량으로 ic(대뇌 뇌로) 시험되었다(도 5의 B). 이 투여량에서, D2/3-V 연구 등급 바이러스뿐만 아니라, DENVax-1 및 DENVax-3 MVS는 완전히 약독화 신경병원성 표현형(병 또는 치사율 없음)을 나타내었다. 예상대로, wt 탱기 바이러스 혈청형-2는 8.3 ± 0.8 일의 평균 마우스 생존 시간(AST)으로, "치명적인" 것으로 나타났다. 이러한 탱기 바이러스 혈청형-2-민감성 Taconic-ICR 마우스에서, 상기 D2 PDK-53-VV45R 연구 등급 바이러스는 81.3% 치사율을 야기하였다. 상기 DENVax-2 MVS 및 DENVax-4 MVS는 각각 9.8 ± 1.7 , 10.2 ± 1.4 , 및 11.3 ± 0.4 일의 AST 값을 나타내면서, 상기 Taconic-ICR에서 균일하게 치명적이었다.

[0135] 일부 예시적인 방법에서, wt 탱기 바이러스 혈청형-2 16681 바이러스의 상기 신경병원성은 10배 낮은 투여량(10^3 pfu, 도 5의 C)에서 D2 PDK-53 VV45R, DENVax-2 MVS 및 DENVax-4 MVS뿐만 아니라 D2/4-V 연구 등급 바이러스의 것과 비교되었다. 상기 wt 탱기 바이러스 혈청형-2은 이 낮은 시험 투여량에서 9.0 ± 1.4 일의 AST로 균일하게 치명적인 신경병원성 표현형을 유지하였다. 중간 신경병원성 표현형 및 신경병원성 정도를 나타내는 상기 다른 4개의 바이러스는 혈청형-특이적이었다. 상기 D2 PDK-53-VV45R 바이러스 및 그것의 DENVax-2 MVS 동족은 현저한 약독화(각각 32.3%, 13.1 ± 3.8 일의 AST로 생존; 및 31.2%, 10.5 ± 3.4 일의 AST로 생존)를 나타내었다. 상기 DENVax-4 MVS 및 상기 연구 등급 D2/4-V 바이러스 모두는 신경병원성에 대하여 매우 약독화되었다(각각, 81.3%, 18.8 ± 5.8 일의 AST로 생존; 및 100% 생존). 상기 결과는 DENVax-1 및 -3의 MVS가 신경병원성의 완전한 약독화를 나타낸 반면에, DENVax-2 및 -4 MVS 로트는 그들의 상응하는 연구-등급의 바이러스 백신 후보와 밀접하게 유사한 약독화 표현형을 유지하는 것을 제안했다.

[0136] 도 5의 A 내지 C는 wt 탱기 바이러스 혈청형-2 및 다른 약독화 탱기 바이러스를 포함하는 다양한 조성물로 시험된 신생 마우스에서 신경병원성을 나타내는 예시적인 그래프를 나타낸다. 상기 바이러스의 10^4 pfu로 ic 시험된 CDC-ICR(n=72) 및 Taconic-ICR(n=32) 신생 마우스에서 wt 탱기 바이러스 혈청형-2 16681 바이러스의 신경병원성을 요약하는 많은 실험을 모은 결과(A). 10^4 pfu(B) 또는 10^3 pfu(C)의 투여량으로 Taconic-ICR 마우스에서 시험된 DENVax MVS의 신경병원성. 하나의 실험(n=16) 또는 2개의 모은 실험(n=31 또는 32)의 그룹당 시험된 동물의 수가 표시된다.

[0137] **MVS 및 BVS의 플라크 표현형**

- [0138] 특정한 연구를 수행하여 WVS 및 BVS와, MVS, wt 뎅기 바이러스 및 그들의 상응하는 실험실 유래인 Vero 세포에서 연구-등급 키메라를 비교하였다(도 6). 평균 플라크 크기를 wt DENV-1, -3, 및 -4의 감소된 수로부터가 아니라 각 백신 바이러스에 대하여 10개의 플라크로부터 계산하였다. DENVax-1, -2, 및 -3의 모든 MVS 바이러스는 그들의 wt 상동체보다 현저하게 작고, Vero 세포에서 그들의 상동성 연구-등급의 바이러스와 매우 유사한(0.4-mm 차이 내로) 플라크를 생산하였다. 또한 DENVax-4 MVS는 상기 wt DENV-4보다 현저하게 작았지만, 상기 원래의 실험실 유래된 D2/4-V 키메라보다 약간 컸다(0.9mm). 상기 DENVax-2은 제외하고, 상기 DENVax-1, -3, -4의 모든 WVS 및 BVS는 그들의 wt 상동체로부터 생산된 것보다 현저하게 작은 플라크 크기를 유지하였다. 상기 DENVax-2 WVS 및 BVS는 Vero 세포에서 wt DENV-2 바이러스의 플라크와 유사한 플라크를 생산하였지만, LLC-MK2 세포에서 시험시 상기 DENVax-2 가공된 시드는 모두 상기 wt DENV-2(1.4 ± 0.4)의 것보다 약간 작고, 상기 실험실 유래된 D2 PDK-53-VV45R(1.0 ± 0.3)와 유사한 플라크를 생산하였다(도 6).
- [0139] 작은 플라크 표현형, 온도 민감성, 모기 세포에서 감소된 복제, 모기에 의한 감소된 감염/전반/전염, 및 신생 ICR 마우스에서 감소된 신경병원성을 포함하는 바이러스 약독화의 표현형 마커의 평가가 상기 MVS 저장물 조성물에 대하여 평가되었다. 결과는 모든 상기 DENVax가 상기 원래의 연구-등급 백신 바이러스와 유사한 예상된 약독화 표현형을 유지하는 것을 나타내었다. 약독화에 원인이 있는 돌연변이가 모든 MVS, WVS 및 BV에서 보존되는 것을 고려해 볼 때, 그것은 인간 임상 시험을 위해 가공된 재료에서 유지되는 약독화 표현형이 예상될 수 있다.
- [0140] 도 6은 상기 DENVax MVS, WVS, 및 BVS의 플라크 크기를 나타내는 예시적인 히스토그램을 나타낸다. 9pi일에 아가로스 오버레이 하에 Vero 또는 LLC-MK2 세포에서 상기 바이러스 플라크의 평균 플라크 직경 $\pm$ SD(오차 막대)를 측정하였다. 상기 wt DENV 및 이전에 공개된 연구-등급의 백신 후보 바이러스가 대조 및 비교를 위해 포함되었다.
- [0141] **모기 C6/36 세포에서 바이러스 복제**
- [0142] 이전의 연구는 상기 연구-등급 PDK-53-기초한 키메라성 백신 바이러스가 C6/36 세포에서 상기 백본 DENV-2 PDK53 바이러스의 약독화 표현형을 유지하는 것을 나타내었다. 일부 예시적인 방법에서, 상기 DENVax MSV, WVS, 및 BVS를 C6/36 세포에서 성장시켜 대규모 제조 후에 이 시험관 내에서 약독화 마커의 그들의 유지를 확인하였다. DENVax-3를 제외하고, wt 뎅기 바이러스에 비하여, 상기 가공된 시드는 C6/36 세포에서 6pi일에 현저한 성장 감소(적어도 $3 \log_{10}$ PFU/ml 감소)를 나타내었다(도 7). 상기 DENVax-3 시드는 또한 상기 wt DENV-3 16562에 비하여 감소된 성장을 나타내었지만, 상기 감소는 현저하지 않았다($1-2 \log_{10}$ PFU/ml 감소). 하지만, 상기 DENVax-3 시드 로트의 역가는 상기 원래의 연구-등급의 키메라 D2/3-V 백신 바이러스와 유사하였다($1 \log_{10}$ PFU/ml 차이 내로).
- [0143] 도 8은 C6/36 세포에서 DENVax MVS, WVS, 및 BVS의 제한된 성장을 플롯팅한 예시적인 히스토그램을 나타낸다. 상기 바이러스의 평균 역가 $\pm$ SD(오차 막대)는 7일 pi에 C6/36 세포에서 반복 검증하였다. 상기 wt 뎅기 바이러스 및 이전에 공개된 연구-등급의 백신 후보 바이러스가 비교군에 포함되었다.
- [0144] **이유 마우스에서 신경병원성**
- [0145] 추가적인 실험을 수행하여 신생 ICR 마우스에서 신경병원성을 분석하였다. 10^4 PFU의 두개 내의(intracranial) 투여량에서, 상기 ICR 마우스에서 wt DENV-2 16681 및 상기 D2 PDK-53-VV45R에 대한 생존 비율은 각각 0% 및 18.8%였지만(도 9의 A), 상기 CDC ICR 마우스에서는 wt DENV-2 16681에 대하여 약 20% 및 D2 PDK-53-VV45R에 대하여 100%였다. 이 연구에서, 10^4 PFU의 투여량에서 상기 마우스에 대하여 DENVax-1 및 DENVax-3 MVS는 약독화되었지만(100% 생존), DENVax-2 및 DENVax-4의 MVS는 10^4 PFU 이상의 투여량에서 100% 치사율을 유발하였다(도 5의 A). 하지만, 10^3 PFU 바이러스 투여량에서 시험시, 상기 DENVax-2(31.3% 생존) 및 DENVax-4(81.3% 생존)는 wt 뎅기 바이러스 혈청형-2 16681(0% 생존)에 대해 감소된 신경병원성을 나타내었고, 그들의 생존 비율은 각각 상기 연구-등급의 백신 후보 D2 PKD-53-VV45R(32.3%) 및 D2/4-V(100%)와 유사하였다(도 9의 B). 이 연구에서 wt DENV-1, -3, 또는 -4가 비교군에 포함되지 않기는 했지만, 이전의 논문은 ic 경로로 상기 CDC-ICR 마우스에서 wt DENV-1 16007가 약독화되었던 반면에, wt DENV-3 16562 및 DENV-4 1036 모두는 상기 CDC-ICR 마우스에 대하여 매우 독성이 있는(0% 생존) 것을 나타내었다. 이러한 3개의 wt DENV는 더 예민한 Taconic ICR 마우스에서 유사한 또는 더 큰 병독성을 나타낼 가능성이 크다. 따라서, 상기 wt 뎅기 바이러스를 그들의 상동성 DENVax MVS들과 비교를 위해 포함하는 것은 정보력이 없는 것으로 여겨졌다. 이 연구는 4개의 모든 DENVax MVS

및 원래의 실험실 유래된 후보 백신 바이러스가 상기 wt DENV-2 16681에 대해 비슷한 마우스 약독화 표현형을 나타내는 것을 보여주었다.

[0146] 도 9의 A 및 B는 신생 ICR 마우스에서 DENVax MVS의 신경병원성 데이터의 예시적인 그래프를 나타낸다. (A) 10^4 PFU 투여량에서 상기 바이러스의 IC 접종. (B) 10^3 PFU 투여량에서 상기 바이러스의 IC 접종.

[0147] 상기 DENVax의 모든 시드 로트는 바람직하지 않은 제제 없이 동일성 및 평균율에 대해 시험되었다. 전체-게놈 서열 분석은 상기 DENVax-4 MVS에서 하나의 추가 아미노산 돌연변이가 진화한 반면, 상기 다른 3개의 DENVax MVS는 그들의 전-마스터 시드의 공통 게놈 서열을 유지하는 것을 나타내었다. WVS 로트에서, 상기 DENVax-3는 추가 아미노산 돌연변이를 수득하였고, 다른 3개의 혈청형은 그들의 전-마스터 시드에 대해 2개의 추가 아미노산 치환을 누적하였다. 모든 상기 4개의 BVS의 게놈 서열은 모두 그들의 WVS 로트와 동일하였다. 상기 P2 시드로부터 상기 전-마스터(P7)까지 전반적으로, 주어진 시드에서 오직 1개 또는 2개의 비-사일런트 돌연변이가 발생하였다. 전-마스터 및 BCS(P10) 시드 사이에서 오직 1개 내지 2개 뉴클레오타이드 치환만이 관찰되었고, 이들 모두는 잔기 E-483에서 보존된 글리신 및 알라닌을 야기한 단일 뉴클레오타이드 변경을 제외하고는 NS2A, 4A, 또는 4B에서 발생하였다. P2에서 BVS(P10) 시드까지, 총 3개 내지 8개의 뉴클레오타이드 치환이 임의의 주어진 DENVax 시드에서 확인되었고, 이러한 치환의 오직 2개 내지 4개만이 아미노산 변경을 야기하였다. 상기 BVS에서 상기 사일런트 돌연변이는 바이러스 복제에 영향을 줄 수 있는 5'- 또는 3'-NCR 영역 내에 없었다. 이러한 결과는 상기 DENVax 바이러스가 제조 동안 유전적으로 매우 안정하다는 것을 제안한다. 5'NCR, NS1-53, 및 NS3-250에 위치한 상기 3개의 정의된 DENV-2 PDK-53 약독화 유전자자리는 BVS 저장물을 발생시키기 위하여 상기 DENVax의 연속 계대배양시 상기 공통 게놈 서열에서 변하지 않은 채로 유지하였다. 상기 5'-NCR-57 유전자자리의 매우 민감한 TaqMAMA는 DENVax의 상기 MVS, WVS, 및 BVS에서 최소 또는 검출불가능한 복귀를 나타냈다. 0.21%의 최고 복귀 비율이 상기 DENVax-2 BVS에서 확인되었다. 상기 P10-등가물 BVS(<0.07% 내지 0.21%)의 복귀 비율은 Vero 세포에서 연속 계대배양 후에 다른 백신 후보에서 진화한 상기 복귀 비율(P10에 의해 4-74% 복귀)보다 현저하게 낮았다. 이것은 상기 DENVax 시드의 대규모 제조에 대한 이 전략이 상기 후보 백신 바이러스에서 유전적 안정성 및 약독화 마커의 유지를 유지하는 것에 대하여 성공적인 것을 제안한다.

[0148] 본 발명에 개시된 MVS 저장물이 WVS 및 BVS 로트의 추가 제조에 이용될 것이기 때문에, 작은 플라크 표현형, 온도 민감성, 모기 세포에서 감소된 복제, 온전한 모기에서 감소된 감염/전반/전염, 신생 ICR 마우스에서 감소된 신경병독성을 포함하는 바이러스 약독화 표현형 평가의 전체 패널이 모든 MVS 또는 그들의 등가물 대용 저장물에 대하여 수행되었다. 상기 WVS 및 BVS 저장물에 대하여, 플라크 사이즈, 모기 세포에서 감염성 또한 수행하여 그들의 약독화를 확인하였다. 결과는 상기 DENVax의 4개의 혈청형의 모든 MVS 저장물이 원래의 실험실-유래된 백신 바이러스와 유사한, 상기 예상된 약독화 표현형, 예컨대 작은 플라크, C6/36 세포에서 감소된 복제 및 감소된 마우스 신경병원성을 유지하는 것을 나타내었다(도 6, 8 및 9). 상기 DENVax-4를 제외하고, DENVax의 모든 다른 3개 MVS 저장물은 도 3 및 도 7에서 나타난 바와 같이 39°C에서 TS였다.

[0149] 상기 WVS 및 BVS 저장물에 대하여, 2개의 약독화 표현형인 작은 플라크 및 C6/36 세포에서 감소된 복제가 분석 및 확인되었다. 상기 MVS 및 BVS 사이에서 매우 작은 유전적 변경이 있었기 때문에, 그들이 MVS로서 상기 약독화 표현형을 유지할 것이라는 것이 예상되었다. 본 발명에 기재된 실험에 더하여, Ag129 마우스 및 비인간 영장류에서 상기 가공된 DENVax의 안전성 및 면역원성이 시험되었다.

[0150] 본 발명에서 예시적인 방법이 cGMP 하에 DENVax MVS, WVS, 및 BVS 저장물의 제조를 확인하기 위하여 제공된다. 상기 BVS 저장물은 현재 인간 임상 시험 평가에서 4가 DENVax를 제형화하기 위해 사용되었다. 상기 가공된 MVS의 유전적 안정성 및 안전성을 최적화하기 위하여 특유의 제조 전략이 일부 예시적인 방법에서 제공되었다. 상기 DENVax의 주요 약독화 유전자자리가 이전에 잘 특징화되었기 때문에, 매우 민감하고 정량가능한 SNP 분석인 TaqMAMA가 게놈 서열을 통합하기 위해 개발되었고, 상기 MVS를 만들기 위한 최적의 전-마스터 시드를 확인하기 위하여 TaqMAMA를 사용하였다. 상기 MVS의 유전적 및 표현형적 특성분석을 완전히 분석하여 이러한 바이러스가 상기 백신의 안전성에 대하여 바람직한 약독화를 유지하는 것을 확인하였다. 이것은 전-마스터에서 BVS 저장물까지 동안 내내 모든 주요한 약독화 유전적 유전자자리에 대하여 효율적으로 분석될 수 있는 유일한 생약독화 바이러스 백신일 수 있다. 본 발명에서 제공된 결과는 백신 안전성에서 전략적으로 설계된 생약독화 백신의 이점을 예시하였다.

[0151] 도 10은 새로운 생약독화 바이러스와 이전에 발생된 생약독화 덩기 바이러스를 비교하는 예시적인 표를 나타낸다. 돌연변이는, 여기서 대조군 바이러스(예를 들면, 16681), 또는 다른 생약독화 덩기-2 바이러스와 다르게 표

시된다.

[0152] **재료 및 방법**

[0153] **바이러스 및 세포**

[0154] DENV-1 16007, DENV-2 16681, DENV-3 16562, 및 DENV-4 1034가 야생형(wt) DENV 대조군으로서 제공되었고, 그들은 상기 4개의 제조함 DE Vax 백신 후보에 대하여 모(parental) 유전자형 바이러스였다. D2/1-V, D2 PDK-53-VV45R, D2/3-V, 및 D2/4-V로 표기되는 DENVax 조상 연구-등급의 바이러스가 이전에 제조되었고, 특징화되었다. 백신 생산을 위하여 상기 마스터 및 작용성 세포 은행을 만들기 위해서 사용된 Vero(아프리카 사바나 원숭이 신장) 세포는 백신 제조를 위해 세계보건기구(WHO)에 의해 특징화되었던 American Type Culture Collection(ATCC) CCL81 세포주(WCB-Vero 세포)로부터 유래되었다.

[0155] **cDNA 클론으로부터 살아있는 제조함 DENVax 바이러스의 유도**

[0156] cGMP 제조 조건 하에 상기 후보 백신 바이러스를 재-유도하기 위하여, 이전에 가공된 DENV 감염성 cDNA 클론인, pD2-PDK-53-W45R, pD2/1-V, pD2/4-V 및 상기 전체 게놈-길이 바이러스 cDNA를 함유하는 시험관 내에서-라이게이트된 pD2/3-V를 이용하여 이전에 기재된 바와 같이 시험관 내에서 전사로 새로운 바이러스 RNA 전사물을 만들었다. 간단하게, XbaI-선형화된 DENV 게놈 cDNA를 프로티나제 K로 처리하였고, 페놀/클로로포름으로 추출하였으며, 에탄올에 침전시켜 임의의 단백질을 제거하였고, 그 후 전사 전에 RNase-부재 Tris-EDTA 완충액에 부유시켰다. 시험관 내에서 전사는 AmpliScribe T7 고효율 전사 키트(Epicentre Technologies)를 이용하여 제조업자의 권장 프로토콜에 따라 수행하였다. RNA A-cap 유사체인 m7G(5')ppp(5')A(New England BioLabs)를 2시간 전사 반응 동안 포함시켜 상기 RNA 전사물에 5'-말단 A-cap을 첨가하였다. 그 후 상기 시료를 DNase I으로 처리하여 주형 cDNA를 소화시켰고, 그 다음에 낮은 pH 페놀/클로로포름 추출 및 에탄올 침전을 하여 남은 DNA 및 단백질을 제거하였다. RNase-부재 물에 부유된 정제된 RNA 전사물을 20 μ l 분액으로 나누었고, 세포의 형질감염을 위한 준비까지 -80 $^{\circ}$ C에서 보관하였다. 상기 RNA 전사물의 무결성 및 농도를 아가로스 젤 전기영동으로 분석하였다. 각 20- μ l 분액은 전기천공법으로 0.4-1 $\times 10^7$ 개의 생산-증명된 Vero 세포의 형질 감염을 허용하기 위해 충분한 게놈-길이 바이러스 RNA를 함유하는 것으로 추정되었다.

[0157] WCB-Vero 세포로 각 RNA 전사물의 형질감염을 Shantha Biotechnics에서 cGMP 시설에서 수행하였다. DENVax RNA 전사물을 해동하였고, Vero 세포 현탁액(1 $\times 10^7$ 세포/ml) 400 μ l와 혼합하였으며, Gene Pulser Xcell total system(BioRad Laboratories)에 의한 전기천공법을 위해 미리-냉장한 살균한 전기천공 큐비트(4-mm 간격)으로 이동시켰다. 각 시료를 250V/ ∞ Ohms/500 μ F에서 한번 펄스하였고, 실온에서 10-15분간 배양하였으며, 세포 성장 배지(10% FBS가 있는 MEM) 30ml를 함유하는 75-cm² 플라스크로 이동시켰으며, 6 내지 11일 동안 36 $^{\circ}$ C $\pm$ 1 $^{\circ}$ C, 5% CO₂에서 배양하였다. 상기 배양 배지를 수확하였고, 원심분리로 투명하게 하였으며, 안정화하였고, 작은 분주로 -60 $^{\circ}$ C 이하에서 보관하였다. 형질감염으로부터의 결과물인 후보 백신 저장물(계대배양 수준 1에 대해 P1이라 일컫음)의 역가를 Vero 세포에서 적정 분석으로 확인하였고, 상기 DENVax 시드의 추가 증식을 위해 사용하였다.

[0158] **DENVax 바이러스 시드의 제조**

[0159] P1 바이러스 시드를 사용하여 DENVax 전-마스터, 마스터, 작용성, 및 벌크 바이러스 시드 로트를 가공된 로트의 최적의 유전적 안정성 및 안전성을 보장하도록 설계된 전략을 통하여 증식시켰다. 이 전략은 지속적인 시드 생산을 위한 최적의 복제 바이러스 개체군을 선별하기 위하여 3가지 연속 플라크 정제뿐만 아니라 다양한 계대배양 수준에서 바이러스의 유전적 분석을 포함하였다(표 1). 간단하게, 형질감염된 세포로부터 수확된 상기 P1 시드를 0.001의 MOI에서 Vero 세포의 감염으로 한번 증폭하여 P2 시드를 발생시켰다. 상기 P2 시드 저장물의 분액을 플라크 형태 및 완전한 바이러스 게놈 서열분석으로 평가하였다. 상기 유전적으로 확인된 P2 저장물을 플라크 적정 부분 이하에서 기재된 바와 같이 잘-단리된 플라크를 발생시키기 위하여 오버레이 배지로 Vero 세포 단층 위에 도말하였다. 뉴트럴 레드(neutral red)로 가시화한 후, 백신 바이러스의 4개의 혈청형 각각으로부터 6개의 개별 플라크를 분리하였고(플라크 클론 A 내지 F), 배양 배지 0.5ml과 혼합하였다(계대배양 P3). 각 6개의 플라크 현탁액을 플라크 정제의 2개의 추가적인 라운드에 처리하였고, 그 결과 계대배양 P4 및 P5 각각에서 2배 및 3배 플라크 정제된 바이러스 시드를 생성하였다. 상기 P5 바이러스를 2번의 순차적인 Vero 계대배양을 통해 증폭하여 P7 시드 저장물을 생산하였다.

[0160] 이전에 개시된 바와 같이 스팟 서열분석 및/또는 Taqman-기초한 미스매치된 증폭 돌연변이 분석(TaqMAMA)을 이용하여 상기 3개의 주요 DENVax 약독화 유전자자의 유전적 분석 및 플라크 표현형 분석을 수행하여 모든 24개

의 P7 시드를 선별하였다. 그 후 적절한 초기 특징을 보유하는 시드는 추가로 전체 게놈 서열분석으로 특징화하였다. 이러한 분석들의 결과로서, 각 DENVax 혈청형의 6개(클론 A-F) P7 시드 중 하나를 상기 DENV-2 PDK-53 약독화 돌연변이, 최소 게놈 서열 변경 및 예상된 플라크 표현형의 존재에 기초한 상기 전-마스터 시드로 선택하였다. 각 선택된 전-마스터 시드를 복수의 175cm² 플라스크 내의 Vero 세포에서 0.001 MOI에서 상기 바이러스의 1회 계대배양으로 마스터 바이러스 시드(MVS 또는 P8)로 확장시켰다. 상기 DENVax-4 MVS를 제외하고, 상기 마스터 바이러스 시드를 감염 후 8-10일에 수확하였다. 상기 MVS 저장물을 감염 후 6-10일에 수확하였고, 원심분리로 투명화시켰으며, 수크로스/포스페이트/글루타메이트 용액(각각 최종 농도 7.5% 수크로스, 3.4 mM 칼륨 디하이드로겐 포스페이트, 7.2 mM 디칼륨 하이드로겐 포스페이트, 5.4 mM 모노나트륨 글루타메이트) 및 0.95 내지 1.90% FBS(최종 농도)의 첨가로 안정화시켰다. DENVax-4 MVS를 다르게 제조하여 그것의 수율을 최적화하였다. 간단하게, 복수 플라스크의 세포를 DENV 바이러스 온도 안정성을 향상시키는 것으로 확인되었던 F-127TM인 폴록사머 407(다른 EO-PO 블록 공중합체가 평가되었고 본 발명에서 대체될 수 있음, 등록 특허 참조)의 0.1% 존재시 0.001 MOI에서 DENVax-4 전-마스터 시드로 감염시켰다. 감염성 배지를 6-10pi일에 수확하였고, 17% FBS(최종 농도)로 안정화시켰으며, 모으고, 냉동시켰다. 4개의 모든 DENVax MVS 저장물을 1ml 분액으로서 -60℃ 이하에 보관하였다.

[0161] 상기 DENVax 작용성 바이러스 시드(WVS)를 0.001 MOI에서 상기 MVS의 Vero 세포 배양에서 1회 계대배양으로 제조하였다. 상기 절차는 그들이 복수층 세포 공장(6360cm²)에서 배양되는 것을 제외하고, MVS의 생산과 유사하였다. 상기 WVS 저장물을 10μm 및 0.45μm 필터를 통과하여 여과하였고, 상기 MVS를 위해 사용된 동일한 안정화제로 안정화시켰으며, 30ml PETG 병 또는 2.0ml 저온유리병으로 분액하였고, -60℃ 이하에 보관하였다.

[0162] 특정한 방법에서, 벌크 바이러스 시드(BVS)를 융합성(confluent) Vero 세포의 복수의 세포 공장(각 6360cm²)에 0.001 MOI에 이르기 위해 희석된 WVS 90ml를 감염시킴으로써 생산하였다. 상기 WVS 접종원의 희석액을 위해 사용된 배지는 혈청 없이 0.1% F-127TM를 함유하였다. 1.5시간 흡착 후에, 세포를 PBS로 3회 세척하였고, 무혈청 DMEM 배지 800ml를 각 세포 공장에 첨가하였으며, 상기 공장을 5(±0.5)% CO₂에서 36(±1)℃에서 배양하였다. 4일 동안 배양 후, 배지의 작은 분액을 멸균을 시험용으로 수집하였다. 바이러스를 5 및 10pi일 사이에 수확하였고, 즉시 0.45μm 구멍 크기 필터를 통해 여과하여 투명화하였으며, 1L의 각 투명화된 바이러스 풀을 500ml의 3x FTA 완충액(15% 트레할로스 최종 농도, 1.0% Pluronic® F-127TM 폴록사머 407, PBS 내의 0.1% 인간 알부민 USP, pH 7.4)의 첨가로 안정화시켰다. 상기 안정화된 바이러스를 1-L PETG 병에 나누었고, 다음 풀링(pooling) 및 품질 조절 시험을 위해 -60℃에 냉동 보관하였다. 10⁵ PFU/ml 이상의 바이러스 역가 및 남아있는 DNA의 허용 가능한 수준을 갖는 모든 안정화된 바이러스 수확물을 32℃에서 워터 배스에서 빠르게 해동하였고, 그 후 무균성으로 모았으며, 혼합하였다. 각 모은 1가 BVS를 라벨링된 PETG 용기로 나누었고, 추가로 사용할 때까지 -60℃ 이하에서 보관하였다.

[0163] 제조 생산물 품질 관리

[0164] 상기 MVS, WVS, 및 BVS 시드를 동일성, 멸균을 및 검출가능한 오염 인자에 대하여 시험하였다. 각 백신 저장물의 동일성을 DENVax 혈청형-특이적 프라이머로 RT-PCR하여 확인하였다. 상기 증폭된 cDNA 단편은 상기 각 4개의 DENVax 혈청형의 확인을 허용하기 위하여 상기 E/NS1 키메라 접합 위치(junction site)를 함유하였다. 각 시드를 4개의 모든 혈청형-특이적 RT-PCR 반응에서 시험하여 바이러스 동일성 및 비상동성 DENVax 혈청형으로 교차 오염이 없는 것을 확인하였다. 멸균을 시험을 USP 71(United States Pharmacopeia, section 71)에 따라 수행하였다. 마이코플라즈마 시험을 수행하였다.

[0165] 그 후 바이러스 오염에 대한 시험관 내 및 생체 내 시험을 상기 시드의 제조 동안 투명화되지 않고, 안정화되지 않은 수집된 DENVax 수확물을 이용하여 모두 수행하였다. 수확된 감염성 배지를 36 ± 1℃에서 1시간 동안 DENV 토끼 폴리클로날 항혈청(Inviragen)으로 1차 중성화하여 상기 DENV를 불활성화시켰다. 시험관 내 시험을 위해, 상기 중성화된 시드를 3개의 표지 세포주인 MRC5, VERO 및 MA104로 25cm² 플라스크에서 접종하였다. 에코 바이러스(CPE 대조군) 또는 볼거리 바이러스(혈구흡착 대조군)를 양성 CPE 또는 혈구흡착 대조군으로 각각 이용하였다. 모든 세포를 총 14일 동안 CPE에 대하여 매일 모니터링하였다. 14일의 종료일에서, 상기 배양 상등액을 제거하였고, 10ml 기니아 피그 적혈구(RBC) 용액(인산염 완충 식염수에 0.5% 기니아 피그 RBC 3ml, 세포 성장 배지로 10ml이 구성됨)으로 교체하였다. 그 후 상기 플라스크를 5 ± 3℃에서 30분 동안 배양하였고, 그 다음에 실온에서 30분 동안 배양하였다. 단층을 PBS로 세척하였고, 혈구흡착을 위한 RBC의 임의의 별모양 클럼프의 존재

를 위해 10X 확대 하에 관찰하였다.

[0166] 오염 인자에 대한 생체 내 시험을 이뮤 마우스, 이뮤 후(post-weaning) 마우스 및 기니아 피그에서 수행하였다. 이뮤 마우스에 복강내(ip) 주입을 통하여 상기 DENV-항혈청 중성화된 시드 시료의 0.1ml 또는 0.01ml(각 투여군에서 10마리 마우스)를 접종하였다. 유사하게, 10마리 이뮤 후 마우스에 각 상기 시료의 0.5ml 또는 0.03ml를 ip 접종하였다. 각 기니아 피그(5/군)를 5.0ml로 ip 접종하였다. 이뮤 마우스를 접종 후 총 14일 동안 발병률 및 치사율에 대해 매일 관찰하였다. 이뮤 후 마우스를 28일 동안 관찰하였고, 기니아 피그를 접종 후 총 42일 동안 관찰하였다. 만일 상기 접종된 동물의 $\geq 80\%$ 가 상기 관찰 기간 동안 건강을 유지하는 경우, 상기 시험 조항은 허용 기준을 충족하였다.

[0167] 오염물질에 대한 생체 내 시험도 또한 배아를 가진 계란에서 수행하였다. 모든 시료에 대하여, 10개의 배아를 가진 계란(9일 된)에 각 0.5ml의 상기 DENV 항혈청-중성화된 시료를 요막액(allantoic fluid) 내로 접종하였고, 35℃에서 3일 동안 배양하였다. 이러한 10개의 알로부터 요막액을 수확하였고, 모았으며, 10개의 새로운 배아를 가진 알(10-11일 된; 0.5ml/알)의 요막액으로 계대배양하였고, 35℃에서 추가로 3일 동안 배양하였다. 유사하게, 각 시료에 대하여, 10개의 배아를 가진 알(6-7일 된)에 각 알 당 0.5ml(DENVax-2 1가 BVS) 또는 알 당 0.25ml(DENVax-1, DENVax-3 및 DENVax-4 BVS)을 난황낭(yolk sac)으로 주입하여 접종하였으며, 35℃에서 9일 동안 배양하였다. 이러한 10개의 알로부터 난황낭을 수확하였고, 모았으며, 10% 현탁액을 10개의 새로운 배아를 가진 알(6-7일 된; 0.5ml/알)의 난황낭으로 계대배양하였고, 35℃에서 추가로 9일 동안 배양하였다. 상기 요막액 내로 접종된 알(초기 및 계대배양 접종 모두)을 접종 3일 후에 생존력에 대하여 관찰하였다. 요막액의 풀(pool) 모두를 닭, 기니아 피그 및 인간 0형 적혈구를 이용하여 4℃ 및 25℃에서 혈구응집반응 활성을 시험하였다. 상기 난황낭 내로 접종된 알(초기 및 계대배양 접종 모두)을 접종 9일 후에 생존력에 대하여 관찰하였다.

[0168] **바이러스 플라크 분석 및 면역포커스(immunofocus) 분석**

[0169] 바이러스 역가를 Vero 세포를 이용하여 플라크 분석 또는 면역포커스 분석으로 측정하였다. 플라크 분석을 이전에 기재된 바와 같이 6개 웰플레이트의 융합성 Vero 세포에서 이중 아가로스 오버레이에서 수행하였으며, 또한 그들을 사용하여 상기 DENVax 시드의 플라크 표현형을 평가하였다. 정확한 비교를 위하여, 모든 바이러스의 플라크 크기를 측정하였고, 동일한 시험에서 비교하였다. 9pi일에 뉴트럴 레드로 가시화한 후, 각 바이러스에 대해 10개까지의 잘 단리된 플라크를 특정하여 평균 플라크 크기를 계산하였다. wt DENV-1, -3, 및 -4의 경우에는 더 적은 플라크가 측정되었고, 그것의 더 큰 플라크 사이즈는 종종 10개의 잘 단리된 플라크의 측정을 허용하지 않았다.

[0170] 4가 DENVax가 4개의 모든 DENV 혈청형을 함유하기 때문에, DENV 혈청형-특이적 면역포커스 분석을 개발하여 4가 제형물에서 각 DENVax 요소의 양을 평가하였다. 각 개별 DENVax MVS의 면역포커스 분석을 바이러스 적정 결과가 상기 두 분석 사이에서 비슷한 것을 보장하도록 상기 플라크 분석과 비교하였다. 상기 면역포커스 분석을 연속적으로 희석된 바이러스로 감염된 6웰 플레이트의 융합성 Vero 세포에서 수행하였다. 세포를 0.7% 높은 점착성 카르복시메틸 셀룰로오스(Sigma)를 함유하는 균형이 유지된 염분 배지(BSS/YE-LAH 배지)로 오버레이하였고, 7일 동안 37℃에서 5% CO₂로 배양하였다. 오버레이를 제거한 후에, 세포 시트를 PBS로 3회 세척하였고, 30분 동안 -20℃에서 차가운 80% 아세톤으로 고정하였으며, PBS로 1회 세척하였고, PBS에 2.5%(w/v) 건조 탈지유, 0.5% Triton X-100, 0.05% Tween-20을 함유하는 차단 완충액으로 37℃에서 30분 동안 차단하였다. 차단된 세포를 희석된 DENV 혈청형-특이적 MAbs인 1F1(DENV-1), 3H5(DENV-2), 8A-1(DENV-3), 또는 1H10(DENV-4)로 37℃에서 1시간 동안 또는 4℃에서 하룻밤 동안 차단 완충액에서 배양하였고, 세척 완충액(PBS에 0.05% Tween-20)으로 3회 세척하였으며, 알카라인 포스파타제 또는 서양고추냉이 퍼옥시다제(HRP)가 결합된 순수-친화도 염소 항-마우스 IgG(Jackson Immuno Research Laboratories)로 37℃에서 45-60분 동안 배양하였다. 적절한 기질 전에 플레이트를 3회 세척하였고, 알카라인 포스파타제에 대한 1-Step NBT/BCIP plus suppressor(Pierce) 또는 HRP에 대한 Vector-VIP kit(Vector Labs)를 색 현상을 위해 첨가하였다. 초점이 완전히 현상될 때 색 현상을 물로 씻음으로써 중단하였다. 염색된 면역초점이 직접적으로 가시화되었으며 라이트 박스에서 계수되었다.

[0171] **유전자 서열**

[0172] 상기 MVS 및 WVS의 전장 게놈을 서열분석하였다(하기 참조). 간단하게, 바이러스 RNA를 DENVax 시드로부터 QIAamp viral RNA kit(Qiagen)를 이용하여 추출하였으며, 상기 전체 게놈을 포함하는 오버래핑(overlapping) cDNA 단편을 Titan One Tube RT-PCR kit(Roche Applied Science, Inc.)를 이용하여 증폭하였다. 증폭된 cDNA 단편을 BigDye(염료) Terminator v3.1 사이클 서열분석 키트(Applied Biosystems)를 이용하여 정방향 및 역방향 프라이머 모두로 서열분석하기 전에 젤 정제하였다. 서열 반응물을 BigDye(염료) X Terminator Purification

키트(Applied Biosystems)을 이용하여 깨끗히 하였고, DVBD/CDC에서 3130x1 유전자 분석기(Applied Biosystems)에서 작동시켰다. Lasergene SeqMan 소프트웨어(DNAStar, Inc)를 게놈 분석 및 비교에 이용하였다.

[0173] **Taqman-기초한 미스매치 증폭 돌연변이 분석(TaqMAMA)**

[0174] TaqMAMA는 상기 약독화의 5'NC-57 유전자자리에서 복귀 수준의 세밀한 평가를 허용하도록 개발된 민감하고 정량적인 단일 뉴클레오타이드 다형성 분석으로서, 본 연구를 위해 추가로 최적화하였다. MVS 및 WVS로부터 추출된 바이러스 RNA를 wt 또는 백신 5TSTC-57 영역에 대하여 특이적인 프라이머/Taqman 프로브 세트 모두를 갖는 TaqMAMA로 분석하였다. DENV-2 wt 및 백신 서열을 검출하기 위해 사용된 정방향 프라이머는 각각 D2-41-GC 및 D2-40-TT였다. 각 정방향 프라이머의 3'-말단 뉴클레오타이드는 각 바이러스에 대한 특이적 5'NCR-57 뉴클레오타이드와 일치하는 반면에, 각 프라이머에서 상기 3'-말단 뉴클레오타이드에 인접한 상기 뉴클레오타이드는 미스매치 효과를 향상시키기 위하여 상기 DENV-2 바이러스 게놈 서열과 달랐다. wt 및 백신 세트 모두를 위한 역방향 프라이머인 CD-207, 및 상기 Taqman 프로브인 CD-169F는 동일하였다. 프라이머 및 프로브의 서열뿐만 아니라 사이클 조건은 이전에 기재하였다. 실시간 RT-PCR을 iQ5 또는 CFX-95 system(BioRad)으로 BioRad iScript RT-PCR(프로브용) 키트를 이용하여 바이러스 RNA 주형 5 μ l, 각 프라이머 0.4 μ M, 및 프로브 0.2 μ M를 함유하는 25 μ l 반응에서 수행하였다. 각 wt- 및 백신-특이적 분석에 대한 3회 반응을 각 시료에 대하여 수행하였다. 게놈 카피 수를 각 바이러스 유전자형에 대하여 준비한 표준 곡선에 관하여 확인하였고, 여기서 상기 RNA 표준은 각 유전자형-특이적 cDNA의 nt1-2670을 함유하는 플라스미드로부터 유래한 전사물이었다. 게다가, 상기 분석의 특이성을 모든 실험에서 최소 교차-반응성을 보장하기 위하여 비상등성 유전자형 프라이머/프로브 세트로 각 RNA 표준을 시험함으로써 확인하였다. 상기 결과는 복귀를 나타내는 바이러스 게놈의 백분율로서 제공되었다. 이전에, 이 분석을 위한 유입 RNA 수준을 제한하였던 더 높은 교차-반응성 배경때문에, 원래의 검출 민감도는 약 0.1% 복귀였다(변별도(discrimination power)). 그 후, 상기 분석을 개선된 실시간 PCR 장비 및 반응 키트를 이용하여 추가로 최적화하였기 때문에, 상기 교차-반응 배경은 RNA 주형 유입의 매우 높은 수준(7-8 log₁₀ 카피)에서 상당히 감소하였다. 이 최적화는 0.01-0.07% 복귀에 이르기까지 검출 민감도의 현저한 개선을 야기하였다.

[0175] **모기 C6/36 세포에서 바이러스 복제 및 포유류 Vero 세포에서 온도 민감성**

[0176] 4개의 DENVax MVS 저장물 및 wt DENV-1, -2, -3, 및 -4 바이러스의 복제 표현형을 C6/36 모기 세포(*Aedes albopictus*)에서 평가하였다. 6-웰 플레이트에서 성장시킨 C6/36 세포를 각 바이러스로 0.001 MOI에서 중복해서 감염시켰고, 2% FBS를 함유하는 DMEM 배지 4ml/웰로 5% CO₂ 배양기에서 28°C에서 배양하였다. 상기 배양 상등액의 작은 분액을 6pi일에 각 바이러스에 대하여 수집하였고, 동일한 부피의 40% FBS를 함유하는 배지와 혼합하였으며, 바이러스 플라크 적정을 위한 준비까지 -80°C에서 보관하였다.

[0177] 온도 민감성을 6웰 플레이트에서 Vero 세포의 39°C에서 바이러스 성장 대 37°C에서 성장을 비교함으로써 수행하였다. 세포를 0.001 MOI에서 37°C에서 각 바이러스로 4번 중복하여 감염시켰다. 바이러스 흡착 후에, 상기 감염된 배양물을 2% FBS를 함유하는 DMEM 배지 4ml/웰로 2개의 분리된 5% CO₂ 배양기에서, 한 세트(중복된 플레이트)는 37°C에서 및 다른 세트는 39°C에서 배양하였다. 상기 배양 상등액의 분액(50 μ l)을 5pi일에 수집하였고, 동일한 부피의 40% FBS를 함유하는 DMEM과 혼합하였으며, 바이러스 플라크 적정을 위한 준비까지 -80°C에서 보관하였다. 배양기 온도는 NIST-traceable factory-calibrated thermometers(-1 내지 51°C; ERTCO)로 보정하였다.

[0178] **모기 감염, 전반 및 전염**

[0179] 본 연구를 위해 사용된 *Aedes aegypti* 모기는 태국 매솟(16° N, 33° E) 근처 마을로부터 2002년에 수집된 군집 유래였다. 유충으로부터 발생한 후, 성체 모기를 임의로 제공된 10% 수크로스 용액과 16:8(광:암) 광주기에서 28°C에서 유지하였다. 5일 내지 7일 된 암컷 모기를 감염성 혈액 식사 공급 또는 흉막 내(intrathoracic, IT) 접종을 위해 사용하였다. 새롭게 배양된 DENVax 및 wt DENV 분액을 수확시(임의의 냉동-해동 주기 없이) 즉시 사용하여 경구 감염을 위하여 하기에 나타난 바와 같이 바이러스 혈액 식사를 만들었다. 남아있는 바이러스 상등액은 최종 농도 20%로 FBS로 보충하였으며, 분액을 추가로 바이러스 플라크 적정 및 IT 접종 실험을 위하여 -80°C에서 보관하였다. 이러한 실험을 위하여 상기 새롭게 제조된 DENVax 시드를 Vero 세포에서 전-마스터 시드로 증폭하였고, DENVax MVS 등가물로 간주하였다.

[0180] 감염성 혈액 식사를 경구 감염 일자에 새로운 바이러스와 탈섬유소 닭 혈액(Colorado Serum Company)을 1:1 비율로 혼합함으로써 제조하였다. 모기를 하룻밤 동안 당-결핍시켰고, 그 후 상기 바이러스:혈액 혼합물을 Hemotek 막 공급 시스템(Discovery Workshops)를 이용하여 1시간 동안 제공하였다. 상기 혈액 식사의 50 μ l 분액

을 바이러스 투여량의 역-적정을 위하여 -80℃에서 유지하였다. 완전히 혈액이 축적된 암컷을 차가운 마취 하에 골랐고, 임의로 제공된 10% 수크로스 용액을 갖는 상자에 두었다. 상자를 28℃에서 16:8h(광:암)의 광주기로 두었다. 14일 후에, 각 바이러스군으로부터 25-30마리 모기를 트리에틸아민(Flynap[®], Carolina Biological Supply Company)에 노출하여 마취시켰으며, 하나의 뒷다리를 제거하였고, 10% FBS 및 5% 페니실린/스트렙토마이신(각각 100U/ml 및 100μg/ml)을 갖는 0.5ml DMEM에 두었다. 마취된 모기의 입을 2.5% FBS 및 25% 수크로스 용액을 함유하는 모세관으로 넣음으로써 타액을 수집하였다. 모기를 적어도 15분 동안 침을 흘리도록 하였으며, 그 후 모세관 및 생체를 DMEM을 함유하는 분리된 관에 두었다. 모기 생체, 다리 및 타액을 그들을 감염성 바이러스에 대하여 적정하고, 분석할 때까지 -80℃에서 보관하였다. IT 접종을 위하여, 모기를 차갑게-마취시켰고, 0.34μl 접종원으로 대략 50 pfu 바이러스로 접종하였다. 접종된 모기를 전술한 바와 같이 동일한 조건에서 7일 동안 유지하였다. 그 후 모기를 마취시켰고, 그들의 타액 및 생체를 전술한 바와 같이 수집하였다. 시료를 추가 처리할 때까지 -80℃에서 보관하였다.

[0181] 바이러스 적정을 위한 시료 처리를 위하여, 생체 및 다리 시료를 구리 코팅된 BBs(Crossman Corporation, NY)로 24회/초에서 4분 동안 믹서 밀을 이용하여 균질화하였고, 그 후 3,000 x g에서 3분 동안 원심분리하여 투명화시켰다. 타액 시료를 3,000 x g에서 3분 동안 원심분리하여 모세관으로부터 유체를 제거하였다. 상기 생체 및 다리 균질화물 및 타액 시료의 10배 희석을 플라크 분석으로 감염성 바이러스의 존재를 위해 시험하였다. 생체, 다리 및 타액으로부터 결과를 상기 감염, 전만 및 전염 비율을 각각 확인하는 것에 이용하였다.

[0182] **마우스 신경병원성**

[0183] 지정 임신된 암컷 ICR 마우스를 Taconic Labs으로부터 구입하였고, 거의 정확한 한 배(litter) 새끼들의 출생 시간을 결정하기 위하여 매일 몇 차례씩 모니터링하였다. 주어진 실험에서, 출생 후 대략 12-24시간, 바이러스(n=16)당 두 배(litter)의 8마리 새끼를 30-게이지 바늘을 이용하여 두개 내의(ic) 접종으로 20μl의 희석제 내에 10^3 내지 10^4 pfu의 바이러스로 챌린지(challenge)하였다. 동물을 챌린지한 후에 적어도 32일 동안 적어도 매일 3회 모니터링하였다. 제1 병 징후(거친 털, 흰 등, 체중 감소, 비정상적 움직임, 마비 또는 무기력)에서, 동물을 이소플루레인 가스로 치명적인 마취한 후, 그 후 경추 탈구하여 안락사시켰다. 감염 후 안락사 일자를 상기 동물에 대하여 "병/발병률에 대한 시간" 또는 "생존 시간"으로 나타내었다. 동물 실험을 DVBD/CDC IACUC-승인된 동물 프로토콜에 따라 수행하였다.

[0184] **마스터 시드 바이러스의 유도**

[0185] **DENVax-1 마스터 바이러스 시드(MVS)**

[0186] 상기 키메라 바이러스 게놈의 뉴클레오타이드 서열 및 번역된 단백질의 추측 아미노산 서열이 본 발명에서 제공된다. prM-E 유전자(nt 457 내지 -2379, 밑줄친)의 대부분은 야생형(wt) DEN-1 16007 바이러스 특이적이다; 나머지 게놈은 DEN-2 PDK-53 바이러스 특이적이다. 모든 가공된 치환은 wt 바이러스(D1 16007 또는 D2 16681)와 다르며, 상기 MVS에서 검출된 추가 돌연변이(가공된 cDNA 클론으로부터 변경)가 표시되었다.

[0187] **게놈 및 단백질에 포함된 치환:**

[0188] D1(prM-E) 및 D2 백본 사이의 접합 위치:

[0189] a. MluI(nt 451-456): 가공된 사일런트 돌연변이, nt-453 A-to-G

[0190] b. NgoMIV(nt 2380-2385): 가공된 돌연변이, nt-2381/2382 TG-to-CC

[0191] (E-482 Val-to-Ala 변경을 야기함)

[0192] D2 PDK-53 바이러스 백본(wt D2 16681로부터 변경): 모든 굵은 글씨

[0193] a. 5'-비암호화 영역(NCR)-57(nt-57 C-to-T): 주요 약독화 유전자자리(굵은색)

[0194] b. NS1-53 Gly-to-Asp(nt-2579 G-to-A): 주요 약독화 유전자자리(굵은색)

[0195] c. NS2A-181 Leu-to-Phe(nt-4018 C-to-T)

[0196] d. NS3-250 Glu-to-Val(nt-5270 A-to-T): 주요 약독화 유전자자리(굵은색)

[0197] e. nt-5547(NS3 유전자) T-to-C 사일런트 돌연변이

[0198] f. NS4A-75 Gly-to-Ala(nt-6599 G-to-C)

- [0199] *PDK-53의 nt-8571 C-to-T 사일런트 돌연변이는 상기 백신 바이러스에서 가공되지 않는다.
- [0200] DEN-1 prM-E(wt D1 16007로부터 변경)
- [0201] a. 천연 Xba I 위치를 제거하기 위하여 가공된 nt-1575 T-to-C 사일런트 돌연변이
- [0202] 백신 시드에서 나타난 추가적인 치환(원래의 클론과 0.03% nt 다름)
- [0203] a. NS2A-116 Ile-to-Leu(nt-3823 A-to-C, 굵은 글씨)
- [0204] b. NS2B-92 Glu-to-Asp(nt-4407 A-to-T, 굵은 글씨)
- [0205] c. nt-7311 A-to-G 사일런트 돌연변이(굵은 글씨)

NCR-57-T, D2 PDK-53 역독화 유전자서리 (wt D2 16681: C)

>5'-비암호화 영역 **>C**

10 20 30 40 50 60 70 80 90 100

AGTTGTTAGTCTACGTGGACCGACAAAGACAGATTCTTTGAGGGAGCTAAGCTCAAAGTAGTTCTTAACAGTTTTTTAATTAGAGAGCAGATCTCTGATGA
M N

110 120 130 140 150 160 170 180 190 200

ATAACCAACGGAAAAAGCGAAAAACAGCCTTTCAATATGCTGAAACGCGAGAGAAACCGCGTGTGCACTGTGCAACAGCTGACAAAGAGATTCTCACT
N Q R K K A K N T P F N M L K R E R N R V S T V Q Q L T K R F S L

210 220 230 240 250 260 270 280 290 300

TGGAATGCTGCAGGGACGAGGACCAATTAAGCTGTTTATGGCCCTGGTGGCGTTCCCTTCCTTAACAATCCCAACAGCAGGGATATTGAAGAGA
G M L Q G R G P L K L F M A L V A F L R F L T I P P T A G I L K R

310 320 330 340 350 360 370 380 390 400

TGGGGAACAATTAAGAAATCAAAAGCTATTATGTTTGTAGAGGGTTCAGGAAAGAGATTGGAAGGATGCTGAACATCTTGAATAGGAGACGAGATCTG
W G T I K K S K A I N V L R G F R K E I G R M L N I L N R R R R S A

>prM **D1 16007 시퀀스의 시작**

410 420 430 440 450 460 470 480 490 500

CAGGCATGATCATTATGCTGATTCCAACAGTGTGGCGTTCCATTTAACCAACGCGTGGGGGAGAGCCGCATATGATAGTTAGCAAGCAGGAAAGAGGAAA
G M I I M L I P T V M A F H L T T R G G E P H M I V S K Q E R G K

가공된 M1uI 스프레이싱 위치 (nt-453 A-to-G 사일런트)

510 520 530 540 550 560 570 580 590 600

GTCACCTTTGTTCAAGACCTCTGCAGGTGTCAACATGTGCACCCCTCATTCGCGATGGATTGGGAGAGTTGTGTGAGGACACGATGACCTACAAATGCCCC
S L L F K T S A G V N M C T L I A M D L G E L C E D T M T Y K C P

610 620 630 640 650 660 670 680 690 700

CGGATCACTGAGGCGGAACAGATGACGTTGACTGTTGGTGCAATGCCACGGACACATGGGTGACCTATGGAACGTGCTCTCAAACTGGCGAACACCGAC
R I T E A E P D D V D C W C N A T D T W V T Y G T C S Q T G E H R R

>M

710 720 730 740 750 760 770 780 790 800

GAGACAAACGTTCCGTCGATTGGCCCCACACGTGGGGCTTGGCCTAGAAAACAAGAGCCGAAACGTGGATGTCCTCTGAAGGTGCTTGGAAAACAGATACA
D K R S V A L A P H V G L G L E T R A E T W M S S E G A W K Q I Q

810 820 830 840 850 860 870 880 890 900

AAAAGTAGAGACTTGGGCTCTGAGACATCCAGSATTACGCGTGATAGCCCTTTTCTAGCACATGCCATAGGAACATCCATCACCCAGAAAAGSGATCATT
K V E T W A L R H P G F T V I A L F L A H A I G T S I T Q K G I I

>E

910 920 930 940 950 960 970 980 990 1000

TTCATTTTGCTGATGCTGGTAACACCATCTATGGCCATGCGATGCGTGGGAATAGGCAACAGAGACTTCGTGGAAGGACTGTGAGGAGCAACATGGGTGG
F I L L M L V T P S M A M R C V G I G N R D F V E G L S G A T W V D

1010 1020 1030 1040 1050 1060 1070 1080 1090 1100

ATGTGGTACTGGAGCATGGAAGTTGCGTCCACCATGGCAAAAAACAAACCACTGGACATTGAACCTCTTGAAGACGGAGGTCAACAACCCCTGCAGT
V V L E H G S C V T T M A K N K P T L D I E L L K T E V T N P A V

1110 1120 1130 1140 1150 1160 1170 1180 1190 1200

TCTGCGTAATTTGTCATTGAAGCTAAAATATCAACACCAACCCGATTGAGATGTCCAAACACAAGGAGAGCCACACTGGTGGAAAGAACAGAGCGCG
L R K L C I E A K I S N T T T D S R C P T Q G E A T L V E E Q D A

1210 1220 1230 1240 1250 1260 1270 1280 1290 1300

AACTTTGTGTGCCGACGAACGTTGCTGGACAGAGGCTGGGGCAATGGCTGTGGGTATTTCGGAAGGAGTAGTCTAATAACGTTGCCAAGTTTAAGTGTG

[0206]

N F V C R R T F V D R G W G N G C G L F G K G S L I T C A K F K C V

1310 1320 1330 1340 1350 1360 1370 1380 1390 1400
TGACAAACTAGAAGGAAGATAGTTCAATATGAAAACCTAAAAATATTCAAGTGATAGTCACCGTCCACACTGGAGATCAGCACCCAGTGGGAAATGAGAC
T K L E G K I V Q Y E N L K Y S V I V T V H T G D Q H Q V G N E T

1410 1420 1430 1440 1450 1460 1470 1480 1490 1500
TACAGAACATGGAACTGCAACCATACACCTCAAGCTCCTACGTGCGAAATACAGCTGACCGACTACGGAAACCTTACATTAGATTGTTACCTAGG
T E H G T T A T I T P Q A P T S E I Q L T D Y G T L T L D C S P R
1510 1520 1530 1540 1550 1560 1570 1580 1590 1600
ACAGGGCTAGATTTTAACGAGATGGTGTGCTGACAAATGAAAGAAAGATCATGGCTTGTCCACAAACATGGTTCTAGACTTACCACTGCCTTGGACCT
T G L D F N E M V L L T M K E R S W L V H K Q W F L D L P L P W T S

가공된 사일런트 돌연변이 (nt-1575 T-to-C) : 자연형 DEN-1 바이러스-특이적 xbaI 위치를 제거함

1610 1620 1630 1640 1650 1660 1670 1680 1690 1700
CTGGGGCTTCAACATCCCAAGAGACTTGGAACAGACAAGATTACTGGTCACATTTAAGACAGCTCATGCAAAGAAGCAGGAAGTAGTCGTACTAGGATC
G A S T S Q E T W N R Q D L L V T F K T A H A K K Q E V V V L G S

1710 1720 1730 1740 1750 1760 1770 1780 1790 1800
ACAAGAAGGAGCAATGCACACTGCGCTGACTGGAGCGACAGAAATCCAAACGTCAGGAACGACACAATTTTCGAGGACACCTAAATGCAGACTAAAA
Q E G A M H T A L T G A T E I Q T S G T T T I F A G H L K C R L K

1810 1820 1830 1840 1850 1860 1870 1880 1890 1900
ATGGACAACTAACTTTAAAGGGATGTCATATGTGTATGTGCACAGGCTCATTCAGTTAGAGAAAGAAAGTGGCTGAGACCCAGCATGGAACTGTTCTGG
M D K L T L K G M S Y V M C T G S F K L E K E V A E T Q H G T V L V

1910 1920 1930 1940 1950 1960 1970 1980 1990 2000
TGCAGGTTAAATATGAAAGAACAGACGACCATGCAAGATTCCTTTTCGACCCCAAGATGAGAAAGGAGCAACCCAGAAATGGGAGATTAAATACAGCCAA
Q V K Y E G T D A P C K I P F S T Q D E K G A T Q N G R L I T A N

2010 2020 2030 2040 2050 2060 2070 2080 2090 2100
CCCCATAGTCACTGACAAAGAAAAACCAATATTGAGGCGAGAACCAACCTTTGGTGAGAGCTACATCGTGGTAGGAGCAGGTGAAAAAGCTTTGAAA
P I V T D K E K P V N I E A E P P F G E S Y I V V G A G E K A L K

2110 2120 2130 2140 2150 2160 2170 2180 2190 2200
CTAAGCTGGTTCAAGAAAGGAAGCAGCATAGGGAAATGTTTGAAGCAACTGCCCGAGGAGCAGAAAGATGGCCATTCTGGGAGACACCGCATGGGACT
L S W F K K G S S I G K M F E A T A R G A R R M A I L G D T A W D F

2210 2220 2230 2240 2250 2260 2270 2280 2290 2300
TCGGTTCTATAGGAGGAGTGTTCACGCTCTATGGGAAAACGGGTACACCAAGGTTTTTGGAACTGCATATGGAGTTTTGTTTAGCGGAGTTTCTTGGACCAT
G S I G G V F T S M G K L V H Q V F G T A Y G V L F S G V S W T M

D1 16007 서열의 끝

2310 2320 2330 2340 2350 2360 2370 2380 2390 2400
GAAAAATAGGAATAGGGAATCTGCTGACATGGCTAGGATTAATTCAGGAACACGTCCTTTTCGATGATGTGATCGCAGCCCGGCATTGTGACACTGTAT
K I G I G I L L T W L G L N S R N T S L S M M C I A A G I V T L Y

가공된 NgoMIV 스플레이싱 위치, E-482 Val-to-Ala (nt-2381/2382 TG-to-CC)

>NS1

2410 2420 2430 2440 2450 2460 2470 2480 2490 2500
TTGGGAGTCATGGTCAGGCCGATAGTGGTTGCGTTGTGAGCTGGAAAAACAAGAACTGAAATGTGGCAGTGGGATTTTCATCACAGACAACGTGCACA
L G V M V Q A D S G C V V S W K N K E L K C G S G I F I T D N V H T

2510 2520 2530 2540 2550 2560 2570 2580 2590 2600
CATGGACAGAAACAATACAAGTTCCAACAGAAATCCCTTCAAACTAGCTTCAGCTATCCAGAAAGCCCATGAAGAGGACATTGTGGAAATCCGCTCAGT
W T E Q Y K F Q P E S P S K L A S A I Q K A H E E D I C G I R S V

D2 PDX-53 NS1-53-Asp attenuation locus (wt D2 1663i: Gly, nt-2573-G)

2610 2620 2630 2640 2650 2660 2670 2680 2690 2700
AACAAAGACTGGAGAATCTGATGTGGAACAAATAACACCAAGATTGAATCACATTTCTATCAGAAAATGAGTGAAGTTAACTATTATGACAGGAGACATC
T R L E N L M W K Q I T P E L N H I L S E N E V K L T I M T G D I

2710 2720 2730 2740 2750 2760 2770 2780 2790 2800
AAAGGAATCATGCGGCAGGAAAACGATCTCTGCGGCTCAGCCCACTGAGCTGAAGTATTCTATGGAAGAAATGCGGCAAGCAAAATGCTCTCTACAG
K G I M Q A G K R S L R P Q P T E L K Y S W K T W G K A K M L S T E

2810 2820 2830 2840 2850 2860 2870 2880 2890 2900
AGTCTCATACACAGACCTTTCTCATTGATGGCCCCGAAAACAGCAGAATGCCCAACACAAATAGAGCTTGAATTCGTTGGAAGTTGAAGACTATGGCTT
S H N Q T F L I D G P E T A E C P N T N R A W N S L E V E D Y G F

2910 2920 2930 2940 2950 2960 2970 2980 2990 3000
TGGAGTATTCACCAATATATATGGCTAAATTTGAAAGAAAAACAGGATGTATTCTGCGACTCAAACTCATGTCAGCGGCCATAAAAGACAACAGAGGCC
G V F T T N I W L K L K E K Q D V F C D S K L M S A A I K D N R A

3010 3020 3030 3040 3050 3060 3070 3080 3090 3100
GTCCATGCCGATATGGGTTATTGGATAGAAAAGTGCACTCAATGACACATGGAAGATAGAGAAAGCCTCTTTCATTGAAGTTAAAACTGCCACTGGCCAA
V H A D M G Y W I E S A L N D T W K I E K A S F I E V K N C H W P K

3110 3120 3130 3140 3150 3160 3170 3180 3190 3200
AATCACACACCCCTCTGGAGCAATGGAGTGTCTAGAAAAGTGAGATGATAATTCCAAAGAATCTCGCTGGACCAGTGTCTCAACACAACTATAGACCAGGCTA
S H T L W S N G V L E S E M I I P K N L A G P V S Q H N Y R P G Y

3210 3220 3230 3240 3250 3260 3270 3280 3290 3300
CCATACACAAATAACAGGACCATGGCATCTAGGTAAAGCTTGAGATGGACTTTGATTTCTGTGATGGAACAACAGTGGTAGTGACTGAGGACTGCGGAAAT
H T Q I T G P W H L G K L E M D F D F C D G T T V V V T E D C G N

3310 3320 3330 3340 3350 3360 3370 3380 3390 3400
AGAGGACCCCTCTTTGAGAACCACTGCTCTGGAAAACTCATAACAGAATGGTGTCTGCGATCTTGCACATTACCAACCGCTAAGATACAGAGGTGAGG
R G P S L R T T T A S G K L I T E W C C R S C T L P P L R Y R G E D

>NS2A

3410 3420 3430 3440 3450 3460 3470 3480 3490 3500
ATGGTGCTGGTACGGGATGGAATCAGACCATGAAGGAGAAAGAGAGAATTGGTCAACTCCTTGGTCACAGCTGGACATGGGCAGGTGACACAACTT
G C W Y G M E I R P L K E K E E N L V N S L V T A G H G Q V D N F

3510 3520 3530 3540 3550 3560 3570 3580 3590 3600
TTCACTAGGAGTCTTGGGAATGGCAATTGTTCTGGAGGAAAATGCTTAGGACCCGAGTAGGAACGAAACATGCAATACTACTAGTTGCAGTTTCTTTTGTG
S L G V L G M A L F L E E M L R T R V G T K H A I L L V A V S F V

3610 3620 3630 3640 3650 3660 3670 3680 3690 3700
ACATTGATCACAGGAACATGTCCTTTAGAGACCTGGGAAAGAGTGATGTTATGGTAGCGCCACTATGACGGATGACATAGGTATGGGCGTGACTTATC
T L I T G N M S F R D L G R V M V M V G A T M T D D I G M G V T Y L

3710 3720 3730 3740 3750 3760 3770 3780 3790 3800
TTGCCCTACTAGCAGCCTTCAAAGTCAGACCACTTTTGACGCTGGACTACTCTTGAGAAAGCTGACCTCCAAGGAATTGATGACTACTATAGGAAT
A L L A A F K V R P T F A A G L L L R K L T S K E L M M T T I G I

3810 3820 3830 3840 3850 3860 3870 3880 3890 3900
TGTACTCCTCTCCAGAGCACCTTACCAGAGACCACTTTGAGTTGACTGATGCGTTAGCCTTAGGCATGATGGTCTCAAAATGGTGAGAAATATGGAA
V L L S Q S T L P E T I L E L T D A L A L G M M V L K M V R N M E
|

마스터 및 전-마스터 시드에서의 추가적인 NS2A-116 Ile-to-Leu (nt3823 A-to-C) 돌연변이

3910 3920 3930 3940 3950 3960 3970 3980 3990 4000
AAGTATCAATTGGCAGTGACTATCATGGCTATCTTGTGCGTCCCAAACGCGAGTGATATTACAAAACGCGATGGAAAGTGAGTTGCACAAATATTGGCAGTGG
K Y Q L A V T I M A I L C V P N A V I L Q N A W K V S C T I L A V V

4010 4020 4030 4040 4050 4060 4070 4080 4090 4100
TGTCCGTTTCCCACTGTCTTAAACATCTCACAGCAAAAACAGATGGATACCATTAGCATTGACGATCAAAGGTCTCAATCCAACAGCTATTTTCT
S V S P L F L T S S Q K T D W I P L A L T I K G L N P T A I F L
|

D2 PDK-53 특이적 NS2A-181-Phe (wt D2 16681: Leu, nt-4018-C)

>NS2B

4110 4120 4130 4140 4150 4160 4170 4180 4190 4200
AACAAACCCCTCTCAAGAACCCAGCAAGAAAAGGAGCTGGCCATTAAATGAGGCTATCATGGCAGTCGGGATGGTGAGCATTTTAGCCAGTTCTCTCTAATA
T T L S R T S K K R S W P L N E A I M A V G M V S I L A S S L L K

4210 4220 4230 4240 4250 4260 4270 4280 4290 4300
AATGATATTCCCATGACAGGACCATTAGTGGCTGGAGGGCTCCTCACTGTGTGCTACGTGCTCACTGGACGATCGGCCGATTGGAACTGGAGAGAGCAG
N D I P M T G P L V A G G L L T V C Y V L T G R S A D L E L E R A A

4310 4320 4330 4340 4350 4360 4370 4380 4390 4400
CCGATGTCAAATGGGAAGACCAGGCAGAGATATCAGGAAGCAGTCCAATCCTGTCAATAACAATATCAGAAGATGGTAGCATGTGATGATAAAAAATGAAGA
D V K W E D Q A E I S G S S P I L S I T I S E D G S M S I K N E E

4410 4420 4430 4440 4450 4460 4470 4480 4490 4500
GGAAGATCAAACACTGACCATCTATTAGAACAGGATTGCTGGTGATCTCAGGACTTTTTCCTGTATCAATACCAATCACGGCAGCAGCATGGTACCTG
E D Q T L T I L I R T G L L V I S G L F P V S I P I T A A A W Y L
|

(마스터 및 전-마스터 시드에서의) 추가적인 NS2B-92 Glu-to-Asp (nt-4407 A-to-T) 돌연변이

>NS3

4510 4520 4530 4540 4550 4560 4570 4580 4590 4600
TGGGAAGTGAAGAAACAACGGGCGGAGTATTGTGGGATGTTCTTCACCCCACCCATGGGAAAGGCTGAACTGGAAGATGGAGCCTATAGAATTAAGC

W E V K K Q R A G V L W D V P S P P P M G K A E L E D G A Y R I K Q

4610 4620 4630 4640 4650 4660 4670 4680 4690 4700
 AAAAGGGATTCTTGGATATTCCTCAGATCGGAGCGGAGTTTCAAGAAGGAACATTCATACATGTGGCATGTACACGTGGCGCTGTTCTTAATGCA
 K G I L G Y S Q I G A G V Y K E G T F H T M W H V T R G A V L M H

4710 4720 4730 4740 4750 4760 4770 4780 4790 4800
 TAAAGGAAAGAGGATTGAACCATCATGGGCGGACGTCAAGAAAGACCTAATATCATATGGAGGAGGCTGGAAAGTTAGAAGGAGAATGGAAGGAAGGAGAA
 K G K R I E P S W A D V K K D L I S Y G G G W K L E G E W K E G E

4810 4820 4830 4840 4850 4860 4870 4880 4890 4900
 GAAGTCCAGGTATTGGCACTGGAGCCTGGAAAAAATCCAAGAGCGCTCCAAACGAAACCTGGTCTTTTCAAAACCAACGCCGGAACAATAGGTGCTGTAT
 E V Q V L A L E P G K N P R A V Q T K P G L F K T N A G T I G A V S

4910 4920 4930 4940 4950 4960 4970 4980 4990 5000
 CTCTGGACTTTTCTCCTGGAACGTGAGGATCTCCAATTATCGACAAAAAGGAAAGTTGTGGGTCTTTATGGTAATGGTGTGTACAGGAGTGGAGC
 L D F S P G T S G S P I I D K K G K V V G L Y G N G V V T R S G A

5010 5020 5030 5040 5050 5060 5070 5080 5090 5100
 ATATGTAGTCTATAGCCAGACTGAAAAAGCATTGAAGACAAACCGAGATCGAAGATGACATTTTCCGAAGAGAAGACTGACCATCATGGACCTC
 Y V S A I A Q T E K S I E D N P E I E D D I F R K R R L T I M D L

5110 5120 5130 5140 5150 5160 5170 5180 5190 5200
 CACCCAGAGCGGGAAGACGAAGAGATACCTTCGGCCATAGTCAGAGAAGCTATAAAACGGGGTTTGAGAACATTAACTCTGGCCCCACTAGAGTTG
 H P G A G K T K R Y L P A I V R E A I K R G L R T L I L A P T R V V

5210 5220 5230 5240 5250 5260 5270 5280 5290 5300
 TGGCAGCTGAAATGGAGGAAGCCCTTAGAGGACTTCCAATAAGATACAGACCCAGCCATCAGAGCTGTGCACACCGGGCGGAGATTGTGGACCTAAT
 A A E M E E A L R G L P I R Y Q T P A I R A V H T G R E I V D L M

⋮

D2 PDK-53 NS3-250-Val 약독화 유전자자리 (wt D2 16681: Glu, nt-5270-A)

5310 5320 5330 5340 5350 5360 5370 5380 5390 5400
 GTGTATGCCACATTTACCATGAGGCTGCTATCACCAGTTAGAGTGCCAACTACAACCTGATTATCATGGACGAAGCCCATTTACAGACCCAGCAAGT
 C H A T F T M R L L S P V R V P N Y N L I I M D E A H F T D P A S

5410 5420 5430 5440 5450 5460 5470 5480 5490 5500
 ATAGCAGCTAGAGGATACATCTCAACTGAGTGGAGATGGGTGAGGCAGCTGGGATTTTATGACAGCCACTCCCCCGGGAAGCAGAGACCCATTTCTCTC
 I A A R G Y I S T R V E M G E A A G I F M T A T P P G S R D P F P Q

5510 5520 5530 5540 5550 5560 5570 5580 5590 5600
 AGAGCAATGCACCAATCATAGATGAAGAAAGAGAAATCCCTGAACGCTCGTGGAAATTCGGACATGAATGGGTACGGATTTTAAAGGGAAGACTGTTTG
 S N A P I I D E E R E I P E R S W N S G H E W V T D F K G K T V W

|

D2 PDK-53 시퀀스 돌연변이 nt-5547-C (wt D2 16681: T)

5610 5620 5630 5640 5650 5660 5670 5680 5690 5700
 GTTCGTTCCCAATATAAAGCAGGAATGATATAGCAGCTTCCTGAGGAAAAATGGAAGAAGTGATACAACTCAGTAGGAAGACCTTTGATTCTGAG
 F V P S I K A G N D I A A C L R K N G K K V I Q L S R K T F D S E

5710 5720 5730 5740 5750 5760 5770 5780 5790 5800
 TATGTCAAGACTAGAACCAATGATTGGGACTTCGTGGTTACAACCTGACATTTTCAAGAAATGGGTGCCAATTTCAAGGCTGAGAGGGTTATAGACCCAGAC
 Y V K T R T N D W D F V V T T D I S E M G A N F K A E R V I D P R R

5810 5820 5830 5840 5850 5860 5870 5880 5890 5900
 GCTGCATGAAACCGATCATACTAACAGATGGTGAAGAGCGGGTATTCTGGCAGGACCTATGCCAGTGACCACTCTAGTGCAGCACAAAGAAGAGGGAG
 C M K P V I L T D G E E R V I L A G P M P V T H S S A A Q R R G R

5910 5920 5930 5940 5950 5960 5970 5980 5990 6000
 AATAGGAAGAAATCCAAAAATGAGAATGACCAAGTACATATACATGGGGGAACCTCTGGAAATGATGAAGACTGTGCACACTGGAAAGAAGCTAAAATG
 I G R N P K N E N D Q Y I Y M G E P L E N D E D C A H W K E A K M

6010 6020 6030 6040 6050 6060 6070 6080 6090 6100
 CTCCTAGATAACATCAACACGCCAGAGGAATCATTTCTAGCATGTTTGAACCCAGAGCGTGAAAAGGTGGATGCCATTGATGGGAATACCGCTTGAGAG
 L L D N I N T P E G I I P S M F E P E R E K V D A I D G E Y R L R G

6110 6120 6130 6140 6150 6160 6170 6180 6190 6200
 GAGAAGCAAGGAAACCTTTGTAGACTTAATGAGAAGAGGAGACCTACCAAGTCTGGTTGGCTACAGAGTGGCAGCTGAAGGCATCAACTACGCAGACAG
 E A R K T F V D L M R R G D L P V W L A Y R V A A E G I N Y A D R

6210 6220 6230 6240 6250 6260 6270 6280 6290 6300
 AAGGTGGTGTTTTGTAGGAGTCAAGAACCAACCAATCTAGAGAAAAAGCTGGAAGTTGAAATCTGGACAAAAGAGGGGAAAGGAGAAATGAAACCC
 R W C F D G V K N N Q I L E E N V E V E I W T K E G E R K K L K P

>NS4A

[0209]

6310 6320 6330 6340 6350 6360 6370 6380 6390 6400
AGATGGTTGGATGCTAGGATCTATTCTGACCCACTGGCGCTAAAAGAATTTAAGGAATTTGCAGCCGGAAGAAATCTCTGACCCCTGAACCTAATCACAG
R W L D A R I Y S D P L A L K E F K E F A A G R K S L T L N L I T E

6410 6420 6430 6440 6450 6460 6470 6480 6490 6500
AAATGGGTAGGCTCCCAACCTTCATGACTCAGAAGCCAGAGACGCATCGGACAACTTAGCAGTGCCTGCACACGGCTGAGGCAGGTGGAGGGCGTACAA
M G R L P T F M T Q K A R D A L D N L A V L H T A E A G G R A Y N

6510 6520 6530 6540 6550 6560 6570 6580 6590 6600
CCATGCTCTCAGTGAATGCCGAGACCCCTGGAGACATTGCTTTTACTGACACTTCTGGCTACACTCACGGAGGGATCTTTTATTCTTGATGAGCGCA
H A L S E L P E T L E T L L L L T L L A T V T G G I F L F L M S A
|

D2 PDK-53 특이적 NS4A-75-1a (wt D2 16681: Gly, nt-6599-G)

6610 6620 6630 6640 6650 6660 6670 6680 6690 6700
AGGGGCATAGGGAAGATGACCCCTGGGAATGTGCTGCATAATCACGGCTAGCATCCTCCTATGGTACGCACAAATACAGCCACACTGGATAGCAGCTTCAA
R G I G K M T L G M C C I I T A S I L L W Y A Q I Q P H W I A A S I

6710 6720 6730 6740 6750 6760 6770 6780 6790 6800
TAATACTGGAGTTTTTCTCATAGTTTTGCTTATTCCAGAACCTGAAAAACAGAGAACACCCCAAGACAACCAACTGACCTACGTTGTATAGCCATCCT
I L E F F L I V L L I P E P E K Q R T P Q D N Q L T Y V V I A I L

>NS4B

6810 6820 6830 6840 6850 6860 6870 6880 6890 6900
CACAGTGGTGGCCGCAACCACTGGCAACGAGATGGGTTTCTAGAAAAACGAAGAAAGATCTCGGATTGGGAAGCATTGCAACCCAGCAACCCGAGAGC
T V V A A T M A N E M G F L E K T K K D L G L G S I A T Q Q P E S

6910 6920 6930 6940 6950 6960 6970 6980 6990 7000
AACATCCTGGACATAGATCTACGTCCTGCATCAGCATGGACGCTGTATGCGGTGGCCACAACTTTGTTACACCAATGTTGAGACATAGCATTGAAAATT
N I L D I D L R P A S A W T L Y A V A T T F V T P M L R H S I E N S

7010 7020 7030 7040 7050 7060 7070 7080 7090 7100
CCTCAGTGAATGTGTCCTTAACAGCTATAGCCCAACCAAGCCACAGTGTTAATGGGTCTCGGGAAAGGATGGCCATTGTCAAAGATGGACATCGGAGTTCC
S V N V S L T A I A N Q A T V L M G L G K G W P L S K M D I G V P

7110 7120 7130 7140 7150 7160 7170 7180 7190 7200
CCTCTCGCCATTGGTACTACTCACAAGCAACCCCATTAATCTCACAGCAGCTCTTTTCTTATTGGTAGCATATATGCCATCATAGGCCAGGACTC
L L A I G C Y S Q V N P I T L T A A L F L L V A H Y A I I G P G L

7210 7220 7230 7240 7250 7260 7270 7280 7290 7300
CAAGCAAAAGCAACGAGAGAAGCTCAGAAAAGAGCAGCGCGGCATCATGAAAAACCCCACTGTCGATGGAATAACAGTGATTGACCTAGATCCAATAC
Q A K A T R E A Q K R A A A G I M K N P T V D G I T V I D L D P I P

7310 7320 7330 7340 7350 7360 7370 7380 7390 7400
CTTATGATCCGAAGTTTGAAAGCAGTTGGGACAAGTAATGCTCCTAGTCTCTGCGTGACTCAAGTATTGATGATGAGGACTACATGGGCTCTGTGTGA
Y D P K F E K Q L G Q V M L L V L C V T Q V L M M R T T W A L C E
|

추가적인 서열란트 돌연변이 (nt-7311 A-to-G, 마스터 및 전-마스터 시드에서)

7410 7420 7430 7440 7450 7460 7470 7480 7490 7500
GGCTTTAACTTAGCTACCGGGCCATCTCCACATTGTGGGAAGGAAATCCAGGGAGGTTTTGGAACACTACCATTGCGGTGTCAATGGCTAACATTTTT
A L T L A T G P I S T L W E G N P G R F W N T T I A V S M A N I F

> NS5

7510 7520 7530 7540 7550 7560 7570 7580 7590 7600
AGAGGGAGTTACTTGGCCGAGCTGGACTTCTCTTTTCTATTATGAAGAACACAACCAACACAAGAAAGGGGAACCTGGCAACATAGGAGAGACGCTTGGAG
R G S Y L A G A G L L F S I M K N T T N T R R G T G N I G E T L G E

7610 7620 7630 7640 7650 7660 7670 7680 7690 7700
AGAAATGAAAAAGCCGATTGAACGCATTGGGAAAAAGTGAATTCAGATCTACAAGAAAAAGTGGAAATCCAGGAAGTGGATAGAACCTTAGCAAAAGAAAGG
K W K S R L N A L G K S E F Q I Y K K S G I Q E V D R T L A K E G

7710 7720 7730 7740 7750 7760 7770 7780 7790 7800
CATTAAAAGAGGAGAAACCGACCATCAGCTGTGTGCGAGGCTCAGCAAACTGAGATGGTTGAGAGAAACATGGTCACACCCAGAAAGGAAAGTA
I K R G E T D H A V S R G S A K L R W F V E R N M V T P E G K V

7810 7820 7830 7840 7850 7860 7870 7880 7890 7900
GTGACCTCGTGTGTGGCAGAGGAGGCTGGTCATCTATTGTGGAGGACTAAAGATGTAAGAGAAGTCAAAGGCCTAACAAAAGGAGGACCCAGGACACG
V D L G C G R G G W S Y Y C G G L K N V R E V K G L T K G G P G H E

7910 7920 7930 7940 7950 7960 7970 7980 7990 8000
AAGAACCCATCCCCATGTCAACATATGGGTGGAATCTAGTGGCTCTTCAAAGTGGAGTTGACGTTTTCTTCATCCCGCCAGAAAAAGTGTGACACATTATT
E P I P M S T Y G W N L V R L Q S G V D V F F I P P E K C D T L L

8010 8020 8030 8040 8050 8060 8070 8080 8090 8100
GTGTGACATAGGGGAGTCATCACCAAATCCCAAGTGGGAAGCAGGACGAACTCAGAGTCCCTTAACTTAGTAGAAAAATTGGTTGAACAACCACTCAA
C D I G E S S P N P T V E A G R T L R V L N L V E N W L N N N T Q

8110 8120 8130 8140 8150 8160 8170 8180 8190 8200
TTTTGCATAAGGTTCTCAACCCCATATATGCCCTCAGTCATAGAAAAAATGGAAGCACTACAAAGGAAATATGGAGGAGCCTTAGTGAGGAATCCACTCT
F C I K V L N P Y M P S V I E K M E A L Q R K Y G G A L V R N P L S

8210 8220 8230 8240 8250 8260 8270 8280 8290 8300
CACGAACTCCACATGAGATGTACTGGGTATCCAATGCTTCCGGGAACATAGTGTCTCATCAGTGAACATGATTTCAAGGATGTTGATCAACAGATTTAC
R N S T H E M Y W V S N A S G N I V S S V N M I S R M L I N R F T

8310 8320 8330 8340 8350 8360 8370 8380 8390 8400
AATGAGATACAAGAAAGCCACTTACGAGCCGGATGTTGACCTCGGAAGCGGAACCCGTAACATCGGGATTGAAAGTGAGATACCAAAACCTAGATATAATT
M R Y K K A T Y E P D V D L G S G T R N I G I E S E I P N L D I I

8410 8420 8430 8440 8450 8460 8470 8480 8490 8500
GGGAAAGAATAGAAAAAATAAGCAAGAGCATGAAACATCATGGCACTATGACCAAGACCAACCATACAAAAACGTGGGCATACCATGGTAGCTATGAAA
G K R I E K I K Q E H E T S W H Y D Q D H P Y K T W A Y H G S Y E T

8510 8520 8530 8540 8550 8560 8570 8580 8590 8600
CAAAACAGACTGGATCAGATCATCCATGGTCAACGGAGTGGTCAGGCTGCTGACAAAACCTTGGGACGTCGTCGCCATGGTGACACAGATGGCAATGAC
K Q T G S A S S M V N G V V R L L T K P W D V V P M V T Q M A M T

8610 8620 8630 8640 8650 8660 8670 8680 8690 8700
AGACACGACTCCATTTGGACAACAGCGCGTTTAAAGAGAAAGTGGACACGAGAACCCAGAACCGAAAGACGACGAGAACTAATGAAAATAACA
D T T P F G Q Q R V F K E K V D T R T Q E P K E G T K K L M K I T

8710 8720 8730 8740 8750 8760 8770 8780 8790 8800
GCAGAGTGGCTTTGGAAAAGTAAGGAGAAAAAGACACCCAGGATGTGCACCCAGAGAGAATTCACAAGAAAGGTGAGAAAGCAATGCAGCCTTGGGGG
A E W L W K E L G K K K T P R M C T R E E F T R K V R S N A A L G A

8810 8820 8830 8840 8850 8860 8870 8880 8890 8900
CCATATTCACTGATGAGAACAAAGTGAAGTCCGACGTCAGGCTGTTGAAGATAGTAGTGTTCGAGAGCTGGTTCACAAGGAAAGGAATCTCCATCTTGA
I F T D E N K W K S A R E A V E D S R F W E L V D K E R N L H L E

8910 8920 8930 8940 8950 8960 8970 8980 8990 9000
AGGAAAGTGTGAAACATGTGTGTACAAATGATGGGAAAAAGAGAGAAGAAGCTAGGGGAATTCGGCAAGGCAAAAGGCAGCAGGCCATATGGTACATG
G K C E T C V Y N M M G K R E K K L G E F G K A K G S R A I W Y M

9010 9020 9030 9040 9050 9060 9070 9080 9090 9100
TGGCTTGGAGCACGCTTCTTAGAGTTTGAAGCCCTAGGATTCCTAAATGAAGATCACTGGTTCCTCCAGAGAGAACTCCCTGAGTGGAGTGGAAAGGAGAAG
W L G A R F L E F E A L G F L N E D H W F S R E N S L S G V E G E G

9110 9120 9130 9140 9150 9160 9170 9180 9190 9200
GGCTGCACAAGCTAGTGTACATTCTAAGAGACGTGAGCAAGAAAGAGGAGCAATGTATGCCGATGACACCCGAGGATGGGATACAAGAAATCACACT
L H K L G Y I L R D V S K K E G G A M Y A D D T A G W D T R I T L

9210 9220 9230 9240 9250 9260 9270 9280 9290 9300
AGAAGACCTAAAAAATGAAGAAATGGTAACAAACACATGGAAGGAGAAACACAAGAACTAGCCGAGGCCATTTCAAACCTAACGTACCAAAACAAGGTG
E D L K N E E M V T N H M E G E H K K L A E A I F K L T Y Q N K V

9310 9320 9330 9340 9350 9360 9370 9380 9390 9400
GTGCGTGTGCAAGACCAACCAAGAGGCACAGTAATGACATCATATCGAGAAGAGACCAAGAGGTAGTGGACAAGTTGGCACCTATGGACTCAATA
V R V Q R P T P R G T V M D I I S R R D Q R G S G Q V G T Y G L N T

9410 9420 9430 9440 9450 9460 9470 9480 9490 9500
CTTTCAACAATATGGAAGCCCACTAATCAGACAGATGGAGGGAGAAGGAGTCTTTAAAAACATTCAGCACCTAACAAATCACAAGAAATCGCTGTGCA
F T N M E A Q L I R Q M E G E G V F K S I Q H L T I T E E I A V Q

9510 9520 9530 9540 9550 9560 9570 9580 9590 9600
AAACTGGTTAGCAAGATGGGGCCGAAAGGTTATCAAGAATGGCCATCAGTGGAGATGATTGTGTTGTGAACCTTTAGATGACAGGTTGCAAGCGCT
N W L A R V G R E R L S R M A I S G D D C V V K P L D D R F A S A

9610 9620 9630 9640 9650 9660 9670 9680 9690 9700
TTAACAGCTCTAAATGACATGGGAAGATTAGGAAAGACATACAAACAATGGGAACCTTCAAGAGGATGGAATGATTGGACACAAGTGCCCTTCTGTTCAC
L T A L N D M G K I R K D I Q Q W E P S R G W N D W T Q V P F C S H

9710 9720 9730 9740 9750 9760 9770 9780 9790 9800
ACCATTCCATGAGTTAATCAGAAAGACGCTCGCTACTCGTTGTTCCATGTAGAAACCAAGATGAAGTATTGGCAGAGCCCGAATCTCCCAAGGAGC
H F H E L I M K D G R V L V P C R N Q D E L I G R A R I S Q G A

9810 9820 9830 9840 9850 9860 9870 9880 9890 9900
AGGGTGGTCTTTTGGCGGAGACGGCCTGTTTGGGGAAGTCTTTACGCCCAATGTGAGCTTGATGTACTTCCACAGACGCGACCTCAGGCTGGCGGCAAT
G W S L R E T A C L G K S Y A Q M W S L M Y F H R R D L R L A A N

9910 9920 9930 9940 9950 9960 9970 9980 9990 10000
GCTATTGCTCGGCAAGTACCATCATATTGGGTTCCAACAAGTCGAACAACCTGGTCCATACATGCTAAACATGAATGGATGACAAACGGAAGACATGCTGA
A I C S A V P S H W V P T S R T T W S I H A K H E W M T T E D M L T

10010 10020 10030 10040 10050 10060 10070 10080 10090 10100

CAGTCTGGAACAGGGGTGGATTCAAGAAAACCCATGGATGGAAGACAAAACCTCCAGTGAATCATGGGAGGAAATCCCATACTTGGGGAAAAAGAGAAGA
V W N R V W I Q E N P W M E D K T P V E S W E E I P Y L G K R E D

10110 10120 10130 10140 10150 10160 10170 10180 10190 10200
CCAATGGTGGCGCTCATTGATTGGGTTAAACAAGCAGGGCCACCTGGCAAGAAACATCCAAGCAGCAATAAATCAAGTTAGATCCCTTATAGGCAATGAA
Q W C G S L I G L T S R A T W A K N I Q A A I N Q V R S L I G N E

10210 10220 10230 10240 10250 10260 10270 10280 10290 10300
GAATACACAGATTACATGCCATCCATGAAAAGATTGAGAAGAGAAGGAAGAGCAGGAGTTCTGTGTAGAAAGCAAAACCTAACATGAAACAAGGCTA
E Y T D Y M P S M K R F R R E E E E A G V L W *

10310 10320 10330 10340 10350 10360 10370 10380 10390 10400
GAAGTCAGGCTCGGATTAAAGCATAGTACGGAAAAAATATGCTACCTGTGAGCCCGCTCCAAGGACGTTAAAAAGAAAGTCAGGCCATCATAAATGCCATAG

10410 10420 10430 10440 10450 10460 10470 10480 10490 10500
CTTGAGTAAACTATGACGCTGTAGCTCCACCTGAGAAGGTGTAAAAAATCCGGGAGGCCACAAACCATGGAAGCTGTACGCAATGGCGTAGTGGAAGTAC

10510 10520 10530 10540 10550 10560 10570 10580 10590 10600
GGTTAGAGGAGACCCCTCCCTTACAAATCGCAGCAACAATGGGGGCCAAGGCGAGATGAAGCTGTAGTCTCGCTGGAAGGACTAGAGGTTAGAGGAGAC

10610 10620 10630 10640 10650 10660 10670 10680 10690 10700
CCCCCGAAACAAAAACAGCATATTGACGCTGGGAAGACCAAGAGATCCTGCTGTCTCTCAGCATCATTCAGGCGACAGAACGCCAGAAATGGAATG

10710 10720
GTGCTGTTGAATCAACAGGTTCT

DenVax-2 마스터 바이러스 시드(MVS)

제조합 바이러스 게놈의 뉴클레오티드 서열 및 번역된 단백질의 추측 아미노산 서열이 본 발명에서 제공된다.

상기 가공된 바이러스는 D2 PDK-53 바이러스에 기초한다. 모든 가공된 치환은 야생형 DEN-2 16681 바이러스(또한 PDK-53에 대한 상기 모 바이러스)와 다르며, 상기 MVS에서 검출된 추가 돌연변이(가공된 cDNA 클론으로부터 변경)가 표시되었다.

계놈 및 단백질에 포함된 치환:

D2 PDK-53 바이러스 백본(wt D2 16681로부터 변경): 모두 굵은 글씨

a. 5'-비암호화 영역(NCR)-57(nt-57 C-to-T): 주요 약독화 유전자자리(붉은색)

b. prM-29 Asp-to-Val(nt-524 A-to-T)

c. nt-2055 C-to-T(E 유전자) 사일런트 돌연변이

d. NS1-53 Gly-to-Asp(nt-2579 G-to-A): 주요 약독화 유전자자리(붉은색)

e. NS2A-181 Leu-to-Phe(nt-4018 C-to-T)

f. NS3-250 Glu-to-Val(nt-5270 A-to-T): 주요 약독화 유전자자리(붉은색)

g. nt-5547(NS3 유전자) T-to-C 사일런트 돌연변이

h. NS4A-75 Gly-to-Ala(nt-6599 G-to-C)

* PDK-53의 nt-8571 C-to-T 사일런트 돌연변이는 상기 백신 바이러스에서 가공되지 않는다.

가공된 클론 마커(사일런트 돌연변이):

a. nt-900 T-to-C 사일런트 돌연변이: 감염성 클론 마커

백신 시드에서 나타난 추가 치환(원래의 클론과 0.02% nt 다름)

a. prM-52 Lys-to-Glu(nt-592 A-to-G), 굵은 글씨

b. NS5-412 Ile-to-Val(nt-8803 A-to-G), 굵은 글씨

HCR-57-T, D2 PDK-53 약독화 유전자자리 (wt D2 16681: C)
 >5'-NC 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 >C
 AGTTGTTAGTCTACGTGGACGACAAAGACAGATTCTTTGAGGGAGCTAAGCTCAAATGTAGTTCTAACAGTTTTTTAAATTAGAGAGCAGATCTCTGATGAATAACCAACGGAAAAAGGCG
 M N N Q R K K A

130 140 150 160 170 180 190 200 210 220 230 240
AAAAACAAGCCTTTCAATATGCTGAAAGCGAGAGAAACCGCGTGTGACCTGTGCAACAGCTGACAAAGAGATTCTCAGTTTGGAAATGCTGCAGGGACGGGACCAATTTAAACTGTTCAATG
K N T P F N M L K R E R N R V S T V Q Q L T K R F S L G M L Q G R G P L K L F M

250 260 270 280 290 300 310 320 330 340 350 360
GCGCTGGTGGGTTCTGTTTCTTAACAAATCCCAACCAACAGCAGGATATTGAAGAGATGGGGAACAATTTAAAAATCAAAAGCTTAATTAATGTTTGGAGGGTTACGGAAAGAGATT
A L V A F L R F L T I P P T A G I L K R W G T I K K S K A I N V L R G F R K E I

370 380 390 400 410 420 430 440 450 460 470 480
GGAAGGATGCTGAAACATCTTGAATAGGAGACCGAGATCTGCAGGATGATCATTATGCTGATTCCAGCTGATGGGTTCCATTAAACACACGTAAACGGAGAACACACATGATGCTC
G R M L I N I L N R R R R S A G M I I M L I P T V M A F H L T T R N G E P H M I V

490 500 510 520 530 540 550 560 570 580 590 600
AGCAGACAAGAGAAAGGAAAACTCTCTCTTTAAACAGAGGTTGGCGTGAAACATGTGTACCTCATGGCCATGGACCTTGGTGAATTGTGTGAAGACAAATCAAGTACGAGTGTCCC
S R Q E K G K S L L F K T E V G V N M C T L M A M D L G E L C E D T I T Y E C P

D2 PDK-53 특이적 prM-29 Val (wt D2 16681 Asp, nt-524-A) 추가적인 prM-52 Lys-to-Glu 돌연변이 (nt-592 A-to-G)

610 620 630 640 650 660 670 680 690 700 710 720
CTTCTCAGGCAGAAATGGCCAGAGACATAGACTGTGTGTGCAACTCTACGTCCAGTGGGTAACTTATGGGACGTGTACCCACATGGGAGAACATAGAAAGAAAAAGATCATGGGCA
L L R Q N E P E D I D C W C N S T S T W V T Y G T C T T M G E H R R E K R S V A

730 740 750 760 770 780 790 800 810 820 830 840
CTCGTTCACATGTGGAAATGGGACCTGAGACACAGCAAGAACTGTGCATCAGAAAGGGCGCTGAAAACATGTCCAGAGAAATGAAACCTTGGATCTTGAGACATCCAGGCTTCACC
L V P H V G M G L E T R T E T W M S S E G A W K H V Q R I E T W I L R H P G F T

850 860 870 880 890 900 910 920 930 940 950 960
ATGATGGCAGCAATCTGGCATACACATACAGGAACGACATTTCCAAAAGCGCTGATCTTCACTCTTACCTGACAGCTGTCACTCTTCAATGCAATGGTGTGCATAGGAATGTCAAAT
M M A A I L A Y T I G T T H F Q R A L I P I L L T A V T P S M T M R C I G M S N

가공된 사일런트 클론 매커: nt-900 T-to-C 사일런트 돌연변이

970 980 990 1000 1010 1020 1030 1040 1050 1060 1070 1080
AGAGACTTTGTGGAAAGCTTCCAGGAGAGCTGGGTGTGACATAGTCTTGAACATGGAAGCTGTGTGAACGAGTGGCAAAAAACAACCAACATGAGTTTGAAGTATGAAAAACA
R D F V E G V S S G G S W V D I V L E H G S C V T T M A K N K P T L D F E L I K T

1090 1100 1110 1120 1130 1140 1150 1160 1170 1180 1190 1200
GAAAGCCAAACAGCCTGCAACCTTAAGGAAGTACTGTATAGAGGCAAGGCTAAACCAACAAACAAGAATCTGCTGCCCAACACAAAGGGGAACCCAGCCTAAATGAAGAGCAGGACAAA
E A K Q P A T L R K Y C I E A K L T N T T T E S R C P T Q G E P S L N E E Q D K

1210 1220 1230 1240 1250 1260 1270 1280 1290 1300 1310 1320
AGGTCTGCTGCAAAACATCTCCATGTAGACACAGAGATGGGAAATGGATGTGGACTAATTTGGAAAGGGAGGCTTGTGACCTGTGCTATGTTAGATGCAAAAGAACATGGAAGGAAAA
R F V C K H S M V D R G W G N G C G L E G K G G I V T C A M F R C K K N M E G K

1330 1340 1350 1360 1370 1380 1390 1400 1410 1420 1430 1440
GTTGTGCACAGAAATCTGGAAATCACCATTTGACCACTCACTCAGGGGAAGAGCATGCACTGCGAAATGACACAGGAAACATGCGAAGGAAATCAAAATTAACACCAACAGAT
V V Q P E N L E Y I I V I T P H S G E E H A V G N D T G K H G K E I K I T P Q S

1450 1460 1470 1480 1490 1500 1510 1520 1530 1540 1550 1560
TCCATCAGAGAAGCAATGACAGTGTATGGCACTGTGCAAAATGGAGTGCTCTCCAAGAACGGCGCTGCACTTCAATGAGATGGTGTGTTGCTGCAAGTGGAAAAATGAAGCTGGCTGGTG
S I T E A E L T G Y G R T V T M E C S P R T G L D F N E M V L L Q M E N K A W L V

1570 1580 1590 1600 1610 1620 1630 1640 1650 1660 1670 1680
CACAGGCATGGTTCTGACCTGCGCTTACCATGGTTGCCGGAGCGGACACACAAGGGTCAAATGGGATACAGAAAGAGACATTGGTCACTTTCAAAAATCCCATGCGAAGAAACAG
H R Q W F L D L P L P W L P G A D T Q G S N W I Q K E T L V T F K N P H A K K Q

1690 1700 1710 1720 1730 1740 1750 1760 1770 1780 1790 1800
GATGTGTGTGTTTGTAGGATCCCAAGAGGGGCCATGACACAGCACTTACAGGGGCCACAGAAATCCAAATGTATCAGGAACTTACTCTTCAAGGACATCTCAAGTGCAGGCTGAGA
D V V V L G S Q E G A M H T A L T G A T E I Q M S S G N L L P T G H L K C R L R

1810 1820 1830 1840 1850 1860 1870 1880 1890 1900 1910 1920
ATGGACAAGCTACAGCTCAAAAGGAATGTCATCTATGTGCACAGGAAAGTTTAAAGTTGTGAAGGAAATAGCAGAAACACAACATGGAAACATAGTTATCAGAGTGCATATGAAAGGG
M D K L Q L K G M E Y S M C T G K F K V V K E I A E T Q H G T I V I R V Q Y E G

1930 1940 1950 1960 1970 1980 1990 2000 2010 2020 2030 2040
GACGGCTCTCCATGCAAGATCCCTTTTGAATATGATTTTGGAAAAAGACATGTCTTTAGGTGCGCTGATTACAGTCAACCCCAATTGTGACAGAAAAAGATAGCCCATCAACATAGAA
D G S P C K I P F E I M D L E K R H V L G R L I T V N P I V T E K D S P V N I E

2050 2060 2070 2080 2090 2100 2110 2120 2130 2140 2150 2160
GCAGAAACCTCATTGGAGACAGCTACATCATAGGAGTAGAGCGGGACAACCTGAAGCTCAACTGGTTTAAAGAAAGGAAGTTCTATCGGCCAAATGTTTGAAGAACCAATGAGGGGG
A E P P P F G D S Y I I I G V E P G Q L K L N W F K K G S S I G Q M F E T T M R G

D2 PDK-53 nt-2055-T 사일런트 돌연변이 (D2 16681: C)

2170 2180 2190 2200 2210 2220 2230 2240 2250 2260 2270 2280
GCGAAGAAATGGCCATTTTAAAGTGCACAGCCTGGGATTTTGGATCCTTGGGAGAGTGTTTACATCTATAGGAAAGGCTCTCCACCAAGTCTTTGGAGCAATCTATGAGCTGCTTC
A K R M A I L G D T A W D F G S L G G V F T S I G K A L H Q V F G A I Y G A A F

2290 2300 2310 2320 2330 2340 2350 2360 2370 2380 2390 2400
AGTGGGTTTCATGGACTATGAAATCCTCATAGGAGTCAATTATCAATGGATAGGAATGAATTCAAGCAGCACCTCACTGTCTGTGACACTAGTATTGTTGGGAAATTGTGACACTGTAT
S G V S W T M K I L I G V I I T W I G M N S R S T S L S V T L V L V G I V T L Y

2410 2420 2430 2440 2450 2460 2470 2480 2490 2500 2510 2520
TTGGGAGTCAATGTGACGGCGGATAGTGTGTTGTGAGCTGGAAAAACAAGAACTGAAATGTGGCAGTGGGATTTTCATCAGACAGCAACCTGCACACATGGACAGAACAAATACAAG
L G V M V Q A D S G C V V S W K N K E L K C G S G I P I T D N V H T W T E Q Y K

2530 2540 2550 2560 2570 2580 2590 2600 2610 2620 2630 2640

– 41 –

– 42 –

[0237]

[0238]

[0239]

상기 키메라 바이러스 게놈의 뉴클레오타이드 서열 및 번역된 단백질의 추측 아미노산 서열이 본 발명에서 제공된다. prM-E 유전자(nt- 457 내지 -2373, 밑줄친)의 대부분은 야생형(wt) DEN-3 16562 바이러스-특이적이었다; 나머지는 뉴클레오타이드 서열은 DEN-2 PDK-53 바이러스-특이적이었다. DEN-3 바이러스의 E 단백질은 상기 DEN-2의 E 단백질보다 2개 적은 아미노산을 가졌다. 따라서, NgoMIV로부터 시작된 nt 위치는 상기 원래의 DEN-2 PDK-53 nt 위치보다 6nt 작다. 모든 가공된 치환은 wt 바이러스(DEN-3 16562 또는 DEN-2 16681)와 다르며, 추가의 돌연변이(가공된 cDNA 클론으로부터 변경)가 표시되었다.

– 43 –

- [0240] 접합 위치:
- [0241] a. MluI(nt 451-456): 가공된 사일런트 돌연변이, nt-453 A-to-G
- [0242] b. NgoMIV(nt 2374-2379): 가공된 돌연변이, nt-2375/2376 TG-to-CC
- [0243] (E-480 Val-to-Ala 변경을 야기함)
- [0244] D2 PDK-53 바이러스 백본(wt D2 16681으로부터 변경): 굵은 글씨
- [0245] a. 5'-비암호화 영역(NCR)-57(nt-57 C-to-T): 주요 약독화 유전자자리(붉은색)
- [0246] b. NS1-53 Gly-to-Asp(nt-2573 G-to-A): 주요 약독화 유전자자리(붉은색)
- [0247] c. NS2A-181 Leu-to-Phe(nt-4012 C-to-T)
- [0248] d. NS3-250 Glu-to-Val(nt-5264 A-to-T): 주요 약독화 유전자자리(붉은색)
- [0249] e. nt-5541(NS3 유전자) T-to-C 사일런트 돌연변이
- [0250] f. NS4A-75 Gly-to-Ala(nt-6593 G-to-C)
- [0251] * PDK-53의 nt-8565 C-to-T 사일런트 돌연변이는 상기 백신 바이러스에서 가공되지 않는다.
- [0252] DEN-3 prM-E에서 가공된 돌연변이(wt D3 16562로부터 변경)
- [0253] a. 가공된 nt-552 C-to-T 사일런트 돌연변이: 클론 마커
- [0254] b. 배양에서 효율적인 복제를 위해 가공된 E-345 His-to-Leu(nt-1970 A-to-T)
- [0255] 백신 시드에서 나타난 추가적인 치환(원래의 클론과 0.02% nt 다름)
- [0256] a. E-223 Thr-to-Ser 돌연변이(nt-1603 A-to-T, 굵은 글씨)
- [0257] b. nt-7620 A-to-G 사일런트 돌연변이(굵은 글씨)

[0258]

```

> 5'-비암호화 영역
10      20      30      40      50      60      70      80      90      100
AGTTGTTAGTCTACGTGGACCGACAAAGACAGATTCTTTGAGGGAGCTAAGCTCAATGTAGTTCTAACAGTTTTTTAATTAGAGAGCAGATCTCTGATGA
M      N

```

110 120 130 140 150 160 170 180 190 200
ATAACCAACGGAAAAAGGCGAAAAACAGCCCTTTCAATATGCTGAAACGCGAGAGAAACCGCGTGTGCAACAGCTGACAAAGAGATTCTCACT
N Q R K K A K N T P F N M L K R E R N R V S T V Q Q L T K R F S L

210 220 230 240 250 260 270 280 290 300
TGGATGCTGACGGGACGAGGACCAATTAACACTGTTTCATGGCCCTGGTGGCGTTCCCTTCGTTTCTTAACATCCCAACAGCAGGGATATTGAAGAGA
G M L Q G R G P L K L F M A L V A F L R F L T I P P T A G I L K R

310 320 330 340 350 360 370 380 390 400
TGGGGAACAATTAAAAATCAAAAGCTATTATGTTTGTAGAGGGTTTCAAGAAAGAGATTGGAAGGATGCTGAACATCTTGAATAGGAGACGCAGATCTG
W G T I K K S K A I N V L R G F R K E I G R M L N I L N R R R R S A

> prM D3 16562 시열의 시작
410 420 430 440 450 460 470 480 490 500
CAGGCATGATCATTATGCTGATTCACACAGTGTGGCGTTCCATTTAACCAACCGCTGATGGAGAGCCGCGCATGATTGTGGGGAAGAATGAAGAGGAAA
G M I I M L I P T V M A F H L T T R D G E P R M I V G K N E R G K

가공된 MluI 스펙트럼 위치 (nt-453 A-to-G 시열린트 돌연변이)
510 520 530 540 550 560 570 580 590 600
ATCCCTACTTTTCAAGACAGCCTCTGGAATCAACATGTGCACACTCATAGCTATGGATCTGGGAGAGATGTGTATGACACGGTCACTTACAATGCCCC
S L L F K T A S G I N M C T L I A M D L G E M C D D T V T Y K C P

클론 매커로시의 시열린트 C-to-T nt 돌연변이
610 620 630 640 650 660 670 680 690 700
CACATTACCGAAGTGGAGCTGAAGACCTTACTGCTGGTGAACCTTACATCGACATGGTGACTTATGGAACCATCAATCAAGCTGGAGAGCATAGAC
H I T E V E P E D I D C W C N L T S T W V T Y G T C N Q A G E H R R

> M
710 720 730 740 750 760 770 780 790 800
GCGATAGAGATCAGTGGCGTTAGCTCCCCATGTTGGCATGGGACTGGACACACGCACTCAAACTGGATGTGCGCTGAAGGAGCTTGGAGACAGTGA
D K R S V A L A P H V G M G L D T R T Q T W M S A E G A W R Q V E

810 820 830 840 850 860 870 880 890 900
GAAGGTAGAGACATGGCCCTTAGGCACCCAGGGTTTACCATACTAGCCCTATTTCTTGGCCATTACATAGGCACCTTCCTTGACCCAGAAAGTGGTTATT
K V E T W A L R H P G F T I L A L F L A H Y I G T S L T Q K V V I

> E
910 920 930 940 950 960 970 980 990 1000
TTTATACTATTATGCTGTTACCCCATCCATGACAATGAGATGTGTAGGAGTAGGAAACAGAGATTTTGTGGAAGGCCCTATCGGGAGCTACGTGGGTTG
F I L L M L V T P S M T M R C V G V G N R D F V E G L S G A T W V D

1010 1020 1030 1040 1050 1060 1070 1080 1090 1100
ACGTGGTCTCGAGCACGTTGGGTGTGTGATACCATGGCTAAGAACCAAGCCACGCTGGACATAGAGCTTCAGAAGACCGAGGCCACCAACTGGCGAC
V V L E H G C V T T M A K N K P T L D I E L Q K T E A T Q L A T

1110 1120 1130 1140 1150 1160 1170 1180 1190 1200
CCTAAGGAAGCTATGCAATTGAGGGAAAAATTACCAACATAACAACCGACTCAAGATGTCCACCCCAAGGGGAAGCGATTTTACCTGAGGAGCAGGACCG
L R K L C I E G K I T N I T T D S R C P T Q G E A I L P E E Q D Q

1210 1220 1230 1240 1250 1260 1270 1280 1290 1300
AACTACGTGTGTAAGCATACATACGTGGACAGAGGCTGGGGAACCGTTGTGGTTTGTGTTGGCAAGGGAAGCTTGGTGACATGCGCGAAATTTCAATGTT
N Y V C K H T Y V D R G W G N G C G L F G K G S L V T C A K F Q C L

1310 1320 1330 1340 1350 1360 1370 1380 1390 1400
TAGAATCAATAGAGGGAAAAAGTGTGCAACATGAGAACCTCAAATACACCGTCAATCAGTGCACACAGGAGACCAACACCGAGTGGGAATGAAAC
E S I E G K V V Q H E N L K Y T V I I T V H T G D Q H Q V G N E T

1410 1420 1430 1440 1450 1460 1470 1480 1490 1500
GCAGGGAGTCACGGCTGAGATAACACCCAGGCATCAACCGCTGAAGCCATTTTACCTGAATATGGAACCCCTCGGGCTAGAATGCTCACCACGACAGGT
Q G V T A E I T P Q A S T A E A I L P E Y G T L G L E C S P R T G

1510 1520 1530 1540 1550 1560 1570 1580 1590 1600
TTGGATTTCAATGAAATGATCTCATTTGACATGAAGAACAAAGCATGGATGGTACATAGACAATGGTTCTTTGACTTACCCCTACCATGGACATCAGGAG
L D F N E M I S L T M K N K A W M V H R Q W F F D L P L P W T S G A

1610 1620 1630 1640 1650 1660 1670 1680 1690 1700
CTTCAGCAGAAACCCCACTTGGAAACAGGAAAGAGCTTCTTGTGACATTTAAAAATGCACATGCAAAAAAGCAAGAAGTAGTTGTTCTTGGATCACAAGA
S A E T P T W N R K E L L V T F K N A H A K K Q E V V L G S Q E

메스터 및 전-메스터 시드에서의 추가적인 E-233 Thr-to-Ser 돌연변이 (wt D3 16562: nt-1603 A)
1710 1720 1730 1740 1750 1760 1770 1780 1790 1800
GGGAGCAATGCATACAGCACTGACAGGAGCTACAGAGATCCAAACCTCAGGAGGCACAAGTATCTTTGCGGGCACTTAAAAATGTAGACTCAAGATGGAC

G A M H T A L T G A T E I Q T S G G T S I F A G H L K C R L K M D

1810 1820 1830 1840 1850 1860 1870 1880 1890 1900
AAATTGGAACCTCAAGGGGATGAGCTATGCAATGTGCTTGAGTAGCTTTGTGTTGAAGAAAGAAGTCTCCGAAACGCAGCATGGGACAATACCTCATTAAAGG
K L E L K G M S Y A M C L S S F V L K K E V S E T Q H G T I L I K V

1910 1920 1930 1940 1950 1960 1970 1980 1990 2000
TTGAGTACAAGGGGAAGATGCACCCTGCAAGATTCCCTTTCTCCACGGAGGATGGACAAGGAAAAGCTCTCAATGGCAGACTGATCACAGCCAATCCAGT
E Y K G E D A P C K I P F S T E D G Q G K A L N G R L I T A N P V

효율적인 성장을 위해 가공된 E-345 His-to-Leu (wt D3 16562: nt-1970-A)

2010 2020 2030 2040 2050 2060 2070 2080 2090 2100
GGTGACCAAGAAGGAGGAGCCTGTCAACATTGAGGCTGAACCTCCTTTTGGAGAAAGTAACATAGTAATTGGAATTGGAGACAAAGCCCTGAAAATCAAC
V T K K E E P V N I E A E P P F G E S N I V I G I G D K A L K I N

2110 2120 2130 2140 2150 2160 2170 2180 2190 2200
TGGTACAAGAAGGGAAGCTCGATTGGGAAGATGTTGAGGCCACTGCCAGAGGTGCAAGGGCGCATGGCCATCTTGGGAGACACAGCCTGGGACTTTGGAT
W Y K K G S S I G K M F E A T A R G A R R M A I L G D T A W D F G S

2210 2220 2230 2240 2250 2260 2270 2280 2290 2300
CAGTGGGTGGTGTTTTGAATTCATTAGGGAAGATGGTCCACCAATATTTGGGAGTGCTTACACAGCCCTATTGGTGGAGTCTCCTGGATGATGAAAAT
V G G V L N S L G K M V H Q I F G S A Y T A L F G G V S W M M K I

D3 16562 시퀀스 끝

2310 2320 2330 2340 2350 2360 2370 2380 2390 2400
TGGAATAGGTGCTCTTAACTGGATAGGGTTGAACTCAAAAAATACTTCTATGTCATTTTCATGCATCGCGGCCCGCATTTGTGACACTGTATTGGGA
G I G V L L T W I G L N S K N T S M S F S C I A A G I V T L Y L G

가공된 NgoMIV 스플라이싱 위치, E-480 Val-to-Ala (nt-2375/2376 TG-to-CC)

> NS1

2410 2420 2430 2440 2450 2460 2470 2480 2490 2500
GTCATGGTGCAGGCCGATAGTGGTTCGCTTGTGAGCTGGAAAAACAAGAACTGAAATGTGGCAGTGGGATTTTCATCACAGACAACGTCACACATGGA
V M V Q A D S G C V V S W K N K E L K C G S G I F I T D N V H T W T

2510 2520 2530 2540 2550 2560 2570 2580 2590 2600
CAGAACAATACAAGTTCCAAACAGAAATCCCTTCAAACTAGCTTCAGCTATCCAGAAAGCCCATGAAGAGGACATTTGTGGAATCCGCTCAGTAACAG
E Q Y K F Q P E S P S K L A S A I Q K A H E E D I C G I R S V T R

B2 FDK-S3 NS1-S3-Rsp 막도와 유전자자리 (wt D2 16581: Gly, nt-2573-G)

2610 2620 2630 2640 2650 2660 2670 2680 2690 2700
ACTGGAAGATCTGATGTGGAAACAATAACACCAAGAAATGAATCACATTCATCAGAAAAATGAGGTGAAGTTAACTATTATGACAGGAGACATCAAGGA
L E N L M W K Q I T P E L N H I L S E N E V K L T I M T G D I K G

2710 2720 2730 2740 2750 2760 2770 2780 2790 2800
ATCATGCAGGCAGGAAACGATCTCTGCGGCCTCAGCCCACTGAGCTGAAGTATTCATGGAACCATGGGGCAAGCAAAATGCTCTTACAGAGTCTC
I M Q A G K R S L R P Q P T E L K Y S W K T W G K A K M L S T E S H

2810 2820 2830 2840 2850 2860 2870 2880 2890 2900
ATAACCAAGACCTTTCTCATTGATGGCCCCGAAACAGCAGAAATGCCCAACACAAATAGAGCTTGGAAATTCGTTGGAAGTTGAAGACTATGGCTTTGGAGT
N Q T F L I D G P E T A E C P N T N R A W N S L E V E D Y G F G V

2910 2920 2930 2940 2950 2960 2970 2980 2990 3000
ATTACCAACCAATATATGCTAAAATGAAAGAAAAACAGGATGTATTCTGCGACTCAAACTCATGTCAGCGGCCATAAAAGACAACAGAGCCGTCAT
F T T N I W L K L K E K Q D V F C D S K L M S A A I K D N R A V H

3010 3020 3030 3040 3050 3060 3070 3080 3090 3100
GCCGATATGGGTTATTGGATAGAAAGTGCACTCAATGACACATGGAAGATAGAGAAAGCCTCTTTTCATTGAAGTTAAAACTGCCACTGGCCAAATCAC
A D M G Y W I E S A L N D T W K I E K A S F I E V K N C H W P K S H

3110 3120 3130 3140 3150 3160 3170 3180 3190 3200
ACACCCTCTGGAGCAATGGAGTGTAGAAAGTGAGATGATAATTCAAAGAATCTCGCTGGACCAAGTGTCTCAACACAATATAGACCAAGGCTACCATAC
T L W S N G V L E S E M I I P K N L A G P V S Q H N Y R P G Y H T

3210 3220 3230 3240 3250 3260 3270 3280 3290 3300
ACAAATAACAGGACCATGGCATCTAGGTAAGCTTGAGATGGACTTTGATTTCTGTGATGGAAACAAGTGGTAGTGACTGAGGACTGCGGAAATAGAGGA
Q I T G P W H L G K L E M D F D F C D G T T V V V T E D C G N R G

3310 3320 3330 3340 3350 3360 3370 3380 3390 3400
CCCTCTTTGAGAAACAACCACTGCCTCTGAAAACTCATAACAGAAATGGTGTGCGGATCTTGACATTACCAACCGCTAAGATACAGAGGTGAGGATGGGT
P S L R T T T A S G K L I T E W C C R S C T L P P L R Y R G E D G C

> NS2A

3410 3420 3430 3440 3450 3460 3470 3480 3490 3500

GCTGGTACGGGATGGAAATCAGACCCATTGAAGGAGAAAGAGAATTTGGTCAACTCCTTGGTCACAGCTGGACATGGGCAGGTCGACAACTTTTCACT
W Y G M E I R P L K E K E E N L V N S L V T A G H G Q V D N F S L

3510 3520 3530 3540 3550 3560 3570 3580 3590 3600
AGGAGTCTTGGGAATGSCATTGTTCCTGGAGGAAATGCTTAGGACCCGAGTAGGAACGAAACATGCAATACTACTAGTTGTCAGTTTCTTTGTGACATTG
G V L G M A L F L E E M L R T R V G T K H A I L L V A V S F V T L

3610 3620 3630 3640 3650 3660 3670 3680 3690 3700
ATCACAGGGAACATGTCTTTAGAGACCTGGGAAGAGTGTATGGTTATGGTAGGCGCCACTATGACGGATGACATAGGTATGGGCGTGACTTATCTTGGCCC
I T G N M S F R D L G R V M V M V G A T M T D D I G M G V T Y L A L

3710 3720 3730 3740 3750 3760 3770 3780 3790 3800
TACTAGCAGCCTTCAAAGTCAGACCACTTTTGAGCTGGACTACTCTTGAGAAAAGCTGACCTCCAAGGAATTGATGACTACTATAGGAATTGTACT
L A A F K V R P T F A A G L L L R K L T S K E L M M T T I G I V L

3810 3820 3830 3840 3850 3860 3870 3880 3890 3900
CCTCTCCAGAGCACCATACAGAGACCATTTCTTGAGTTGACTGATGCGTTAGCCTTAGGCCATGATGTCCTCAAAATGGTGAGAAATATGGAAAAGTAT
L S Q S T I P E T I L E L T D A L A L G M M V L K M V R N M E K Y

3910 3920 3930 3940 3950 3960 3970 3980 3990 4000
CAATTGGCAGTGACTATCATGGCTATCTTTGTGCGTCCCAACGCGAGTGATATTACAAAACGCGATGGAAAGTGAGTTGCACAATATGGCAGTGGTGTCCG
Q L A V T I M A I L C V P N A V I L Q N A W K V S C T I L A V V S V

4010 4020 4030 4040 4050 4060 4070 4080 4090 4100
TTTCCCCTACTGTTCTTAACATCCTCAGAGCAAAAAAGAGATTGGATACCATTAGCATTGACGATCAAGGCTCTCAATCCAACAGCTATTTTTCTAACAAAC
S P L F L T S S Q Q K T D W I P L A L T I K G L N P T A I F L T T

D2 PDK-53 특이적 NS2A-181-Phe (wt D2 16681: Leu, nt-4012-C)

> NS2B

4110 4120 4130 4140 4150 4160 4170 4180 4190 4200
CCTCTCAAGAACCGACGCAAGAAAAGGAGCTGGCCATTAATGAGGCTATCATGGCAGTGGGATGGTGAGCATTTAGCCAGTTCTCTCCTAAAAAATGAT
L S R T S K K R S W P L N E A I M A V G M V S I L A S S L L K N D

4210 4220 4230 4240 4250 4260 4270 4280 4290 4300
ATTCCCATGACAGGACCATTAGTGGCTGGAGGGCTCCTCACTGTGTGCTACGTGCTCACTGGACGATCGGCCGATTGGAACTGGAGAGACGAGCCGATG
I P M T G P L V A G G L L T V C Y V L T G R S A D L E L E R A A D V

4310 4320 4330 4340 4350 4360 4370 4380 4390 4400
TCAAATGGGAAGACCGAGGAGATATCAGGAAGCAGTCCAATCCTGTCAATAACAATATCAGAAGATGGTAGCATGTCGATAAAAAATGAAGAGGAAGA
K W E D Q A E I S G S S P I L S I T I S E D G S M S I K N E E E E

4410 4420 4430 4440 4450 4460 4470 4480 4490 4500
ACAAACACTGACCATACTATTAGAACAGGATTGCTGTGATCTCAGGACTTTTTCTGTATCAATACCAATCAGCGAGCAGCATGGTACCTGTGGGAA
Q T L T I L I R T G L L V I S G L F P V S I P I T A A A W Y L W E

> NS3

4510 4520 4530 4540 4550 4560 4570 4580 4590 4600
GTGAAGAAACACGGGCGGAGTATTGTGGGATGTTCTTCCACCCACCCATGGGAAGGCTGAACTGGAAGATGGAGCCTATAGAATTAAGCAAAAAG
V K K Q R A G V L W D V P S P P P M G K A E L E D G A Y R I K Q K G

4610 4620 4630 4640 4650 4660 4670 4680 4690 4700
GGATTCTTGGATATTTCCAGATCGGAGCGGAGTTTACAAAAGAGGAACATTCCATACAATGTGCGATGTCACACGTGGCGCTGTTCTAATGCATAAAGG
I L G Y S Q I G A G V Y K E G T F H T M W H V T R G A V L M H K G

4710 4720 4730 4740 4750 4760 4770 4780 4790 4800
AAAGAGGATTGAACCATCATGCGCGAGCTCAAGAAAGACCTAATATCATATGGAGGAGGCTGGAAGTTAGAAGGAGAATGGAAGGAGGAGAAGAGTC
K R I E P S W A D V K K D L I S Y G G G W K L E G E W K E G E E V

4810 4820 4830 4840 4850 4860 4870 4880 4890 4900
CAGGTATTGGCACTGAGGCTGGAAAAATCCAAGAGCCGTCCAAACGAAACCTGGTCTTTTCAAAACCAACGCGGAACAATAGGTGCTGTATCTCTGG
Q V L A L E P G K N P R A V Q T K P G L F K T N A G T I G A V S L D

4910 4920 4930 4940 4950 4960 4970 4980 4990 5000
ACTTTTCTCCTGGAAGCTCAGATCTCCAATTATCGACAAAAAGGAAAGTTGTGGGTCTTTATGTAATGGTGTGTTTACAAGGAGTGGAGCATATGT
F S P G T S G S P I I D K K G K V V G L Y G N G V V T R S G A Y V

5010 5020 5030 5040 5050 5060 5070 5080 5090 5100
GAGTGCTATAGCCGAGCTGAAAAAGCATTGAAGACAACCCAGAGATCGAAGATGACATTTCCGAAAGAGAAGACTGACCATCATGGACCTCCACCCA
S A I A Q T E K S I E D N P E I E D D I F R K R R L T I M D L H P

5110 5120 5130 5140 5150 5160 5170 5180 5190 5200
GGAGCGGAAAGACGAAGAGATACCTTCCGGCCATAGTCAGAGAAGCTATAAACGGGGTTTGAGAACATTAATCTTGGCCCCACTAGAGTTGTGGCAG
G A G K T K R Y L P A I V R E A I K R G L R T L I L A P T R V V A A

```

5210      5220      5230      5240      5250      5260      5270      5280      5290      5300
CTGAAATGGAGGAGCCCTTAGAGGACTTCCAATAAGATACAGACCCAGCCATCAGAGCTGTGCACACCGGGCGGAGATTGTGGACCTAATGTGTCA
E M E E A L R G L P I R Y Q T P A I R A V H T G R E I V D L M C H
|
D2 PDK-53 NS3-250-Val 역독해 유전자지리 (D2 16681: Glu, nt-5270-A)

5310      5320      5330      5340      5350      5360      5370      5380      5390      5400
TGCCACATTTACCATTGAGGCTGCTATCACCAGTTAGAGTGCCAACTACAACTGATTATCATGGACAGAGCCCATTTTCACAGACCCAGCAAGTATAGCA
A T R F T M R L L S P V R V P N Y N L I I M D E A H F T D P A S I A

5410      5420      5430      5440      5450      5460      5470      5480      5490      5500
GCTAGAGGATACATCTCAACTCGAGTGGAGATGGGTGAGGCAGCTGGGATTTTATGACAGCCACTCCCGGGGAGCAGAGACCCATTTCTCTAGAGCA
A R G Y I S T R V E M G E A A G I F M T A T P P G S R D P F P Q S N

5510      5520      5530      5540      5550      5560      5570      5580      5590      5600
ATGCACCAATCATAGATGAAGAAAGAGAAATCCCTGAACGCTCGTGGAATTCGGACATGAATGGGTACGGATTTTAAAGGGAAGACTGTTTGGTTCGT
A P I I D E E R E I P E R S W N S G H E W V T D F K G K T V W F V
|
D2 PDK-53 시퀀스 돌연변이 nt-5541-C (D2 16681: T)

5610      5620      5630      5640      5650      5660      5670      5680      5690      5700
TCCAAGTATAAAAGCAGGAATGATATAGCAGCTTGCCCTGAGGAAAAATGGAAAGAAAGTGATACAACTCAGTAGGAAGACCTTTGATTCTGAGTATGTC
P S I K A G N D I A A C L R K N G K K V I Q L S R K T F D S E Y V

5710      5720      5730      5740      5750      5760      5770      5780      5790      5800
AAGACTAGAACCAATGATTGGGACTTCGTGGTTACAACCTGACATTTAGAAATGGTGCCAATTTCAAGGCTGAGAGGGTTATAGACCCAGACGCTGCA
K T R T N D W D F V V T T D I S E M G A N F K A E R V I D P R R C M

5810      5820      5830      5840      5850      5860      5870      5880      5890      5900
TGAAACCAAGTACATCTAACAGATGGTGAAGAGCGGGTGATTCTGGCAGGACCTATGCCAGTGACCCACTTAGTGACGACACAAAGAGGGGAGAAATAGG
K P V I L T D G E E R V I L A G P M P V T H S S A A Q R R G R I G

5910      5920      5930      5940      5950      5960      5970      5980      5990      6000
AAGAAATCCAAAATGAGAATGACCACTGATATACATATACATGGGGGAACTCTGGAAATGATGAAGACTGTGCACACTGGAAAGAAAGCTAAAATGCTCCTA
R N P K N E N D Q Y I Y M G E P L E N D E D C A H W K E A K M L L

6010      6020      6030      6040      6050      6060      6070      6080      6090      6100
GATACTCAACACGCGCAGAAGGAATTCCTAGCATGTTTGAACACAGAGCGTGAAAGGTGGATGCCATTTGATGGCGAATACCGCTTGAGAGGAGAAG
D N I N T P E G I I P S M F E P E R E K V D A I D G E Y R L R G E A

6110      6120      6130      6140      6150      6160      6170      6180      6190      6200
CAAGAGAAAACCTTTGTAGACTTAATGAGAAGAGGAGACCTACCACTCTGGTTGGCCTACAGAGTGGCAGCTGAAGGCATCAACTACGCAGACAGAAGGTG
R K T F V D L M R R G D L P V W L A Y R V A A E G I N Y A D R R W

6210      6220      6230      6240      6250      6260      6270      6280      6290      6300
GTGTTTTGTAGTGAGTCAAGAACCAACCAATCTAGAAGAAAACGTGGAAGTTGAAATCTGGACAAAAGAGGGGAAAGGAAGAAATTTGAAACCCAGATGG
C F D G V K N N Q I L E E N V E V E I W T K E G E R K K L K P R W

> NS4A
6310      6320      6330      6340      6350      6360      6370      6380      6390      6400
TTGGATGCTAGGATCTATTCTGACCCACTGGCGCTAAAAGAATTTAAGGAATTTGCAGCCGGAAGAAAGTCTCTGACCCTGAACCTAATCAGAGAAATGG
L D A R I Y S D P L A L K E F K E F A A G R K S L T L N L I T E M G

6410      6420      6430      6440      6450      6460      6470      6480      6490      6500
GTAGGCTCCCAACCTTCAGACTCAGAAGGCAAGAGACGCACTGGACAACCTTAGCAGTGTGCACACGGCTGAGGCAGGTGGAAGGGCGTACAAACCATGC
R L P T F M T Q K A R D A L D N L A V L H T A E A G G R A Y N H A

6510      6520      6530      6540      6550      6560      6570      6580      6590      6600
TCTCAGTGAACCTGCCGAGACCCCTGGAGACATTGCTTTTACTGACACTTCTGGCTACAGTCAAGGAGGGATCTTTTATTCTTGATGAGCGCAAGGGGC
L S E L P E T L E T L L L L T L L A T V T G G I F L F L M S A R G
|
D2 PDK-53 특이적 NS4A-75-A1a (wt D2 16681: Gly, nt-6599-G)

6610      6620      6630      6640      6650      6660      6670      6680      6690      6700
ATAGGGAAGATGACCCTGGGAATGTGCTGCATAATCAGCGCTAGCATCTCTATGGTACGCACAAATACAGCCACACTGGATAGCAGCTTCAATAATAC
I G K M T L G M C C I I T A S I L L W Y A Q I Q P H W I A A S I I L

6710      6720      6730      6740      6750      6760      6770      6780      6790      6800
TGGAGTTTTTTCTCATAGTTTTGCTTATTCAGAACCTGAAAAACAGAGAACACCCCAAGACAACCAACTGACCTACGTTGTATAGCCATCCTCACAGT
E F F L I V L L I P E P E K Q R T P Q D N Q L T Y V V I A I L T V

> NS4B
6810      6820      6830      6840      6850      6860      6870      6880      6890      6900
GGTGGCCGCAACCATGGCAACGAGATGGGTTTCTAGAAAAACGAAGAAAGATCTCGGATTGGGAAGCATTGCAACCCAGCAACCCGAGAGCAACATC
V A A T M A N E M G F L E K T K K D L G L G S I A T Q Q P E S N I

6910      6920      6930      6940      6950      6960      6970      6980      6990      7000

```

CTGGACATAGATCTACGTCCTGCATCAGCATGGACGCTGTATGCCGTGGCCACAACATTGTTACACCAATGTTGAGACATAGCATTGAAAAATCCTCAG
L D I D L R P A S A W T L Y A V A T T F V T P M L R H S I E N S S V

7010 7020 7030 7040 7050 7060 7070 7080 7090 7100
TGAATGTTGTCCTAACAGCTATAGCCCAACCAAGCCACAGTGTAAATGGGTCTCGGGAAAGGATGGCCATTGTCAAAGATGGACATCGGAGTTCCTCTTCT
N V S L T A I A N Q A T V L M G L G K G W P L S K M D I G V P L L

7110 7120 7130 7140 7150 7160 7170 7180 7190 7200
CGCCATTGGATGCTACTCACAAGTCAACCCATAACTCTCAGCAGCTCTTTTCTTATTGGTAGCACATTATGCCATCATAGGGCCAGGACTCCAAGCA
A I G C Y S Q V N P I T L T A A L F L L V A H Y A I I G P G L Q A

7210 7220 7230 7240 7250 7260 7270 7280 7290 7300
AAAGCAACCAGAGAAGCTCAGAAAAAGAGCAGCGGGGCGCATCATGAAAAACCCAACTGTCGATGGAATAACAGTGATTGACCTAGATCCAATACCTTATG
K A T R E A G K R A A A G I M K N P T V D G I T V I D L D P I P Y D

7310 7320 7330 7340 7350 7360 7370 7380 7390 7400
ATCCAAAGTTTGAAAGCAGTTGGGACAAGTAATGCTCCTAGTCTCTGCGTGACTCAAGTATTGATGATGAGGACTACATGGGCTCTGTGTGAGGCTTT
P K F E K Q L G Q V M L L V L C V T Q V L M M R T T W A L C E A L

7410 7420 7430 7440 7450 7460 7470 7480 7490 7500
AACCTTAGCTACCGGGCCCATCTCCACATTTGTGGGAAGGAAATCCAGGGAGGTTTGGAACTACTCCATTGCGGTGTCAATGGCTAACATTTTGTAGGG
T L A T G P I S T L W E G N P G R F W N T T I A V S M A N I F R G

> N85

7510 7520 7530 7540 7550 7560 7570 7580 7590 7600
AGTTACTTGGCCGAGCTGGACTTCTCTTTTCTATTATGAAGAACAACCAACACAAGAAGGGGAAGTGGCAACATAGGAGAGACGCTTGGAGAGAAAT
S Y L A G A G L F S I M K N T T N T R R G T G N I G E T L G E K W

7610 7620 7630 7640 7650 7660 7670 7680 7690 7700
GGAAAAGCCGATTGAACGCGTTGGGAAAAAGTGAATTCAGATCTACAAGAAAAAGTGAATCCAGGAAGTGGATAGAACCTTAGCAAAAAGAGGATTAA
K S R L N A L G K S E F Q I Y K K S G I Q E V D R T L A K E G I K

|

마스터 및 전-마스터 시드에서의 추가적인 nt-7260 A-to-G 사일런트 돌연변이

7710 7720 7730 7740 7750 7760 7770 7780 7790 7800
AAGAGGAGAAACCGAACCATCACGCTGTGTGCGAGGCTCAGCAAACTGAGATGGTTGTTGAGAGAAACATGGTCAACCCAGAAAGGAAAGTAGTGGAC
R G E T D H H A V S R G S A K L R W F V E R N M V T P E G K V V D

7810 7820 7830 7840 7850 7860 7870 7880 7890 7900
CTCGTGTGTGGCAGAGAGGCTGGTCATATATTGTGGAGGACTAAAGAATGTAAGAGAAGTCAAAGGCCCTAACAAAAGGAGGACACGAGACACGAAGAC
L G C G R G G W S Y Y C G G L K N V R E V K G L T K G G P G H E E P

7910 7920 7930 7940 7950 7960 7970 7980 7990 8000
CCATCCCCATGTCAACATATGGGTGGAATCTAGTGCCTCTTCAAAGTGGAGTTGACGTTTTCTTCATCCCGCAGAAAAAGTGTGACACATTATTGTGTGA
I P M S T Y G W N L V R L Q S G V D V F F I P P E K C D T L L C D

8010 8020 8030 8040 8050 8060 8070 8080 8090 8100
CATAGGGGAGTCAACCAATCCCAAGTGGGAAGCAGGACGAACACTCAGAGTGCCTTAACCTTAGTAGAAAAATTTGGTTGAACAACCACTCAATTTTGC
I G E S S P N P T V E A G R T L R V L N L V E N W L N N N T Q F C

8110 8120 8130 8140 8150 8160 8170 8180 8190 8200
ATAAAGGTTCTCAACCATATATGCCCTCAGTCATAGAAAAATGGAAGCACTACAAGGAAATATGGAGGAGCCTTAGTGAGGAATCCACTCTCACGAA
I K V L N P Y M P S V I E K M E A L Q R K Y G G A L V R N P L S R N

8210 8220 8230 8240 8250 8260 8270 8280 8290 8300
ACTCCACACATGAGATGTACTGGGTATCCAAATGCTTCCGGGAAACATAGTGTCACTCAGTGAACATGATTTCAGGATGTTGATCAACAGATTTACAATGAG
S T H E M Y W V S N A S G N I V S S V N M I S R M L I N R F T M R

8310 8320 8330 8340 8350 8360 8370 8380 8390 8400
ATACAAGAAGCCACTTACGAGCCGATGTTGACCTCGGAAGCGGAACCCGTAACATCGGGATTGAAAGTGAGATACCAACCTTAGATATAATTGGGAAA
Y K K A T Y E P D V D L G S G T R N I G I E S E I P N L D I I G K

8410 8420 8430 8440 8450 8460 8470 8480 8490 8500
AGAATAGAAAAATAAAGCAAGAGCATGAAACATCATGGCACTATGACCAAGACCCCATACAAAACGTTGGGCATACCATGGTAGCTATGAAACAAAC
R I E K I K Q E H E T S W H Y D Q D H P Y K T W A Y H G S Y E T K Q

8510 8520 8530 8540 8550 8560 8570 8580 8590 8600
AGACTGGATCAGCATCATCCATGGTCAACGGAGTGGTCAGGCTGCTGACAAAACCTTGGGACGTCGTCCTTGGTGACACAGATGGCAATGACAGACAC
T G S A S S M V N G V V R L L T K P W D V V P M V T Q M A M T D T

8610 8620 8630 8640 8650 8660 8670 8680 8690 8700
GACTCCATTTGGACAACAGCGCGTTTTTAAGAGAAAGTGGACACGAGAACCCAGAACCGAAAAGGGCACGAAGAACTAATGAAAAATAACAGCAGAG
T P F G Q Q R V F K E K V D T R T Q E P K E G T K K L M K I T A E

8710 8720 8730 8740 8750 8760 8770 8780 8790 8800
TGGCTTTGGAAAGAATTAGGGAAGAAAAAGACACCCAGGATGTGACCCAGAGAAGAATTACAGAAGAGTGAAGCAATGCAGCCTTGGGGCCATAT
W L W K E L G K K K T P R M C T R E E F T R K V R S N A A L G A I F

8810 8820 8830 8840 8850 8860 8870 8880 8890 8900
TCACTGATGAGAACAAAGTGGAGTCGGCACGTGAGGCTGTTGAAGATAGTAGGTTTTGGGAGCTGGTTGACAAGGAAAGGAATCTCCATCTTGAAGGAAA
T D E N K W K S A R E A V E D S R F W E L V D K E R N L H L E G K

8910 8920 8930 8940 8950 8960 8970 8980 8990 9000
GTGTGAAACATGTGTGTACAACATGATGGGAAAAAGAGAGAAGCTAGGGGAATTGCGCAAGGCAAAAGGCAGCAGAGCCATATGGTACATGTGGCTT
C E T C V Y N M M G K R E K K L G E F G K A K G S R A I W Y M W L

9010 9020 9030 9040 9050 9060 9070 9080 9090 9100
GGAGCACGCTTCTTAGAGTTTGAAGCCCTAGGATCTTAAATGAAGATCACTGGTTCTCCAGAGAGAACTCCCTGAGTGGAGTGAAGGAGAAGGGCTGC
G A R F L E F E A L G F L N E D H W F S R E N S L S G V E G E G L H

9110 9120 9130 9140 9150 9160 9170 9180 9190 9200
ACAAAGCTAGGTTACATTTCTAAGAGACGTGAGCAAGAAGAGGGAGGAGCAATGTATGCCGATGACACCGCAGGATGGGATACAAGAATCACACTAGAA
K L G Y I L R D V S K K E G G A M Y A D D T A G W D T R I T L E D

9210 9220 9230 9240 9250 9260 9270 9280 9290 9300
CCTAAAAAATGAAGAATGGTAACAACCCACATGGAAGGAGAACACAAGAACTAGCCGAGGCCATTTTCAAACTAACGTACCAAAACAAGGTGGTGGCT
L K N E E M V T N H M E G E H K K L A E A I F K L T Y Q N K V V R

9310 9320 9330 9340 9350 9360 9370 9380 9390 9400
GTGCAAGACCAACCAAGAGGCACGTAATGGACATCATATCGAGAAGAGACCAAAGAGGTAGTGGACAAGTTGGCACCTATGGACTCAATACCTTTCA
V Q R P T P R G T V M D I I S R R D Q R G S G Q V G T Y G L N T F T

9410 9420 9430 9440 9450 9460 9470 9480 9490 9500
CCAAATTTGGAAGCCCACTAATCAGACAGATGGAGGGAGAAGGAGTCTTTAAAGCATTTCAGCACCTAACAAATCACAGAAGAATCGCTGTGCAAACTG
N M E A Q L I R Q M E G E G V F K S I Q H L T I T E E I A V Q N W

9510 9520 9530 9540 9550 9560 9570 9580 9590 9600
GTTAGCAAGAGTGGGCGCGAAAGGTTATCAAGAATGGCCATCAGTGGAGATGATTGTGTTGTGAAACCTTTAGATGACAGGTTGCGCAAGCGCTTTAAC
L A R V G R E R L S R M A I S G D D C V K P L D D R F A S A L T

9610 9620 9630 9640 9650 9660 9670 9680 9690 9700
GCTCTAAATGACATGGGAAAGATTAGGAAAGACATACAACAATGGGAACCTTCAAGAGGATGGAATGATTGGACACAAGTGCCCTTCTGTTTCACACCAT
A L N D M G K I R K D I Q Q W E P S R G W N D W T Q V P F C S H H F

9710 9720 9730 9740 9750 9760 9770 9780 9790 9800
TCCATGAGTTAATCATGAAAGACGGTCGCTACTCGTTGTTCCATGTAGAAACCAAGATGAAGTGAATGGCAGAGCCCGAATCTCCCAAGGAGCAGGGTG
H E L I M K D G R V L V V P C R N Q D E L I G R A R I S Q G A G W

9810 9820 9830 9840 9850 9860 9870 9880 9890 9900
GTCTTTGCGGAGACGGCTGTTTGGGAGTCTTACGCCAAATGTGGAGCTTGATGTACTTCCACAGACGCGAAGCTCAGGCTGGCGGCAAAATGCTATT
S L R E T A C L G K S Y A Q M W S L M Y F H R R D L R L A A N A I

9910 9920 9930 9940 9950 9960 9970 9980 9990 10000
TGCTCGCAGTACCATCATTGGGTTCACAAAGTCGAACAACCTGGTCCATACATGCTAAACATGAATGGATGACAACGGAAGACATGCTGACAGTCT
C S A V P S H W V P T S R T T W S I H A K H E W M T T E D M L T V W

10010 10020 10030 10040 10050 10060 10070 10080 10090 10100
GGAAACAGGTGTGGATTCAAGAAACCCATGGATGGAAGACAAACTCCAGTGGAAATCATGGGAGGAAATCCCATCTTGGGGAAGAGAGAACCAATG
N R V W I Q E N P W M E D K T P V E S W E E I P Y L G K R E D Q W

10110 10120 10130 10140 10150 10160 10170 10180 10190 10200
GTGCGGCTCATTTGATTTGGGTAAACAAGCAGGGCCACCTGGGCAAGAACATCCAAGCAGCAATAAATCAAGTTAGATCCCTTATAGGCAATGAAGAATAC
C G S L I G L T S R A T W A K N I Q A A I N Q V R S L I G N E E Y

> 3'-비암호화 영역

10210 10220 10230 10240 10250 10260 10270 10280 10290 10300
ACAGATTACATGCCATCCATGAAAGATTTCAGAAAGAGAGAGGAAGAGCAGGAGTTCTGTGGTAGAAAGCAAAACTAACATGAAACAGGCTAGAAGTC
T D Y M P S M K R F R R E E E E A G V L W *

10310 10320 10330 10340 10350 10360 10370 10380 10390 10400
AGGTCGGATTAAAGCCATAGTACGGAATACTATGCTACCTGTGAGCCCGCTCCAAGGACGTTAAAGAAAGTCAGGCCATCATAAATGCCATAGCTTGAG

10410 10420 10430 10440 10450 10460 10470 10480 10490 10500
TAAACTATGCAGCCTGTAGTCCACCTGAGAAGGTGTAAAAAATCCGGGAGGCCACAAACCATGGAAGCTGTACGCATGGCGTAGTGGACTAGCGGTTAG

10510 10520 10530 10540 10550 10560 10570 10580 10590 10600
AGGAGACCCCTCCCTTACAAATCGCAGCAACAATGGGGGCCAAGGCGAGATGAAGCTGTAGTCTCGCTGGAAGGACTAGAGGTTAGAGGAGACCCCCC

10610 10620 10630 10640 10650 10660 10670 10680 10690 10700
GAAACAAAAACAGCATATTGACGCTGGGAAAGACCAGAGATCCTGCTCTCTCCTCAGCATCATTCAGGCACAGAACGCCAGAAAAATGGAATGGTGCTG

10710

[0264]

TTGAATCAACAGGTTCTT

[0265]

[0266] DENvax-4 마스터 바이러스 시드(MVS)

[0267] 상기 키메라 바이러스 게놈의 뉴클레오티드 서열 및 번역된 단백질의 추측 아미노산 서열. 대부분 상기 prM-E 유전자(nt-457 내지 -2379, 밑줄친)는 야생형(wt) DEN-4 1036 바이러스-특이적이다; 나머지 뉴클레오티드 서열은 DEN-2 PDK-53 바이러스-특이적이다. 모든 가공된 치환은 wt 바이러스(DEN-3 16562 또는 DEN-2 16681)와 다르고, 추가 돌연변이(가공된 cDNA 클론으로부터 변경)가 표시된다.

[0268] 게놈 및 단백질에 포함된 치환:

[0269] 접합 위치:

[0270] a. MluI(nt 451-456): 가공된 사일런트 돌연변이, nt-453 A-to-G

[0271] b. NgoMIV(nt 2380-2385): 가공된 돌연변이, nt-2381/2382 TG-to-CC

[0272] (E-482 Val-to-Ala 변경을 야기함)

- [0273] D2 PDK-53 바이러스 백본(wt D2 16681로부터 변경)
- [0274] a. 5'-비암호화 영역(NCR)-57(nt-57 C-to-T): 주요 약독화 유전자자리(붉은색)
- [0275] b. NS1-53 Gly-to-Asp(nt-2579 G-to-A): 주요 약독화 유전자자리(붉은색)
- [0276] c. NS2A-181 Leu-to-Phe(nt-4018 C-to-T, 굵은 글씨)
- [0277] d. NS3-250 Glu-to-Val(nt-5270 A-to-T): 주요 약독화 유전자자리(붉은색)
- [0278] e. nt-5547(NS3 유전자) T-to-C 사일런트 돌연변이(굵은 글씨)
- [0279] f. NS4A-75 Gly-to-Ala(nt-6599 G-to-C, 굵은 글씨)
- [0280] * PDK-53의 nt-8571 C-to-T 사일런트 돌연변이는 상기 백신 바이러스에서 가공되지 않는다.
- [0281] cDNA 클론에서 가공된 치환
- [0282] a. 가공된 C-100 Arg-to-Ser(nt-396 A-to-C): 배양에서 바이러스 복제를 개선할 수 있다.
- [0283] b. 가공된 nt-1401 A-to-G 사일런트 돌연변이
- [0284] c. 가공된 E-364 Ala-to-Val(nt-2027 C-to-T): 배양에서 바이러스 복제를 개선할 수 있다.
- [0285] d. 가공된 E-447 Met-to-Leu(nt-2275 A-to-C): 배양에서 바이러스 복제를 개선할 수 있다.
- [0286] 백신 시드에서 나타난 추가적인 치환(원래의 클론과 0.06% nt 다름)
- [0287] a. nt-225(C 유전자) A-to-T 사일런트 돌연변이(굵은 글씨)
- [0288] b. NS2A-66 Asp-to-Gly(nt-3674 A-to-G) 돌연변이(굵은 글씨)
- [0289] c. NS2A-99 Lys-to-Lys/Arg 혼합(nt-3773 A-to-A/G 혼합, 굵은 글씨)
- [0290] d. nt-5391 C-to-T(NS3 유전자) 사일런트 돌연변이(굵은 글씨)
- [0291] e. NS4A-21 Ala-to-Val(nt-6437 C-to-T, 굵은 글씨)
- [0292] f. nt-7026 T-to-C/T 혼합 사일런트 돌연변이(굵은 글씨)
- [0293] g. nt-9750 A-to-C 사일런트 돌연변이(굵은 글씨)

[0294]

```

> 5'-비암호화 영역
10      20      30      40      50      60      70      80      90      100
AGTTGTTAGTCTACGTGGACCGACAAAGACAGATTCTTTGAGGGAGCTAAGCTCAATGTAGTTCTAACAGTTTTTAATTAGAGAGCAGATCTCTGATGA
M      N
110      120      130      140      150      160      170      180      190      200
NCR-57-T, D2 PDK-53 약독화 유전자자리 {wt D2 16681: C}

```

ATAACCAACGGAAGGCGAAAAACACGCCCTTTCAATATGCTGAAACGCGAGAGAAAAACCGCGTGTGACTGTGCAACAGCTGACAAAGAGATTCTCACT
N Q R K K A K N T P F N M L K R E R N R V S T V Q Q L T K R F S L

210 220 230 240 250 260 270 280 290 300
TGGGAATGCTCAGGACGAGGACCTTTAAAACTGTTCATGGCCCTGGTGGCGTTCCCTTCGTTTCTTAACAATCCACCAACAGCAGGGATATTGAAGAGA
G M L Q G R G P L K L F M A L V A F L R F L T I P P T A G I L K R

마스터 및 전-마스터 시드에서의 추가적인 nt-225 A-to-T 서열린드 돌연변이

310 320 330 340 350 360 370 380 390 400
TGGGGAAACATTAATAATCAAAAGCTATTAAATGTTTGTAGAGGGTTTCAAGAAAGAGATTGGAAGGATGCTGAACATCTTGAATAGGAGACGCAGCTCTG
W G T I K K S K A I N V L R G F R K E I G R M L N I L N R R R S S A

가공된 C-100 Arg-to-Ser (nt 396 A-to-C)

> prM D4 1036 서열의 시작
410 420 430 440 450 460 470 480 490 500
CAGGCATGATCATTATGCTTCAACAGTGTGGCGTTCCATTAAACACCGCTGATGGCGAACCCCTCATGATAGTGGCAAAACATGAAAGGGGGAG
G M I I M L I P T V M A F H L T T R D G E P L M I V A K H E R G R

가공된 M1u1 스플라이싱 위치 (nt-453 A-to-G 서열린드)

510 520 530 540 550 560 570 580 590 600
ACCTCTCTTGTGTTAAGACACAGAGGGGATCAACAAATGCACTCTCATTTGCCATGGACTTGGGTGAAATGTGTGAGGACACTGTCACGTATAAATGCCCC
P L L F K T T E G I N K C T L I A M D L G E M C E D T V T Y K C P

610 620 630 640 650 660 670 680 690 700
TTACTGGTCAATACCGAAGCTGAGACATTGATTGCTGGTCAATCTCAGCTCTACCTGGGTGATGATGGGACATGCACCCAGAGCGGAGAACGGAGAC
L L V N T E P E D I D C W C N L T S T W V M Y G T C T Q S G E R R R

> M
710 720 730 740 750 760 770 780 790 800
GAGAGAAGCGCTCAGTAGCTTTAACACCACATTTCAGGAATGGGATTGGAACAAGAGCTGAGACATGGATGTCTCGGAAGGGGCTTGAAGCATGCTCA
E K R S V A L T P H S G M G L E T R A E T W M S S E G A W K H A Q

810 820 830 840 850 860 870 880 890 900
GAGAGTAGAGAGCTGGATACTCAGAAACCCAGGATTCGCGCTCTTGGCAGGATTTATGGCTTATATGATTGGGCAACAGGAATCCAGCGAACTGTCTTC
R V E S W I L R N P G F A L L A G F M A Y M I G Q T G I Q R T V F

> E
910 920 930 940 950 960 970 980 990 1000
TTTGTCTTAATGATGCTGGTGCAGGATGCGATGCGTAGGAGTAGGAAACAGAGACTTTGTGGAAGGAGTCTCAGGTGGAGCATGGGTGCG
F V L M M L V A P S Y G M R C V G V G N R D F V E G V S G G A W V D

1010 1020 1030 1040 1050 1060 1070 1080 1090 1100
ATCTGGTGTAGACATGAGGATGCGTCACCAACCTGGCCAGGAAACCAACCTTGGATTTTGAACCTGACTAAGACACAGCCAGGAAGTGGCTCT
L V L E H G G C V T T M A Q G K P T L D F E L T K T T A K E V A L

1110 1120 1130 1140 1150 1160 1170 1180 1190 1200
GTTAAGAACCCTATTGCAATGAAGCCTCAATATCAACATAACACGGCAACAGATGTCCAACGCAAGGAGAGCCTTATCTAAAAGAGGAACAGACCAA
L R T Y C I E A S I S N I T T A T R C P T Q G E P Y L K E E Q D Q

1210 1220 1230 1240 1250 1260 1270 1280 1290 1300
CAGTACATTTGCCGAGAGATGTGGTAGACAGAGGGTGGGCAATGGCTGTGGCTTGTTTGAAAAGGAGGAGTTGTGACATGTGCGAAGTTTTCATGTT
Q Y I C R R D V D R G W G N G C G L F G K G G V V T C A K F S C S

1310 1320 1330 1340 1350 1360 1370 1380 1390 1400
CGGGGAAGATAACAGGCAATTGTGTCCAAATTGAGAACCTTGAATACACAGTGGTTGTAAACAGTCCACAATGGAGACACCCATGCAGTAGGAAATGACAC
G K I T G N L V Q I E N L E Y T V V V T V H N G D T H A V G N D T

1410 1420 1430 1440 1450 1460 1470 1480 1490 1500
GTCCAAATCATGAGGTACAGCCACGATAACTCCAGGTCACCATCGGTGGAAGTCAAATTGCCGACTATGGAGAATTAACACTCGATTGTGAACCCAGG
S N H G V T A T I T P R S P S V E V K L P D Y G E L T L D C E P R

가공된 클론에서의 서열린드 nt-1401 A-to-G 돌연변이

1510 1520 1530 1540 1550 1560 1570 1580 1590 1600
TCTGGAATTGACTTTAATGAGATGATTCTGATGAAAATGAAAAAGAAAAACATGGCTTGTGCATAAGCAATGGTTTTTGGATCTACCTCTACCATGGACAG
S G I D F N E M I L M K M K K K T W L V H K Q W F L D L P L P W T A

1610 1620 1630 1640 1650 1660 1670 1680 1690 1700
CAGGAGCAGACACATCAGAGGTTTCACTGGAATTACAAAGAGAGAATGGTGACATTAAAGGTTTCTCATGCCAAGAGACAGGATGTGACAGTGTGGGATC
G A D T S E V H W N Y K E R M V T F K V P H A K R Q D V T V L G S

1710 1720 1730 1740 1750 1760 1770 1780 1790 1800
TCAGGAAGGAGCCATGCTTCTGCCCTCGCTGGAGCCACAGAGTGGACTCCGGTGATGGAATCACATGTTTGCAAGGACATCTCAAGTGCAAGTCCGT
Q E G A M H S A L A G A T E V D S G D G N H M F A G H L K C K V R

```

1810      1820      1830      1840      1850      1860      1870      1880      1890      1900
ATGGAGAAATTGAGAATCAAGGGAAATGTCATACACGATGTGTTTCAGGAAAGTTCTCAATTGACAAAGAGATGGCAGAAAACACAGCATGGGACACAGTGG
M E K L R I K G M S Y T M C S G K F S I D K E M A E T Q H G T T V V

1910      1920      1930      1940      1950      1960      1970      1980      1990      2000
TGAAAGTCAAGTATGAAGGTGCTGGAGCTCCGTGTAAAGTCCCCATAGAGATAAGAGATGTGAACCAAGGAAAAAGTGGTTGGGCGTATCATCTCATCCAC
K V K Y E G A G A P C K V P I E I R D V N K E K V V G R I I S S T

2010      2020      2030      2040      2050      2060      2070      2080      2090      2100
CCCTTTGGCTGAGAAATACCAACAGTGTAAACCAACATAGAGTTAGAACCCCCCTTTGGGGACAGCTACATAGTATAGGTGTGGAAACAGTGCATTAAACA
P L A E N T N S V T N I E L E P P F G D S Y I V I G V G N S A L T

|
배양에서 바이러스 성장을 향상시키기 위해 가공된 E-364 Ala-to-Val (nt-2027 C-to-T)

2110      2120      2130      2140      2150      2160      2170      2180      2190      2200
CTCCATTGGTTTCAGGAAAGGGAGTTCCATTGGCAAGATGTTTGAAGTCCACATACAGAGGTGCAAAACGAATGGCCATTCTAGGTGAAACAGCTTGGGATT
L H W F R K G S S I G K M F E S T Y R G A K R M A I L G E T A W D F

2210      2220      2230      2240      2250      2260      2270      2280      2290      2300
TTGGTTCGCTGGTGGACTGTTCACATCATTTGGGAAAGGCTGTGCACCAGGTTTTTGGAAAGTGTGTATACAACCTGTTTGGAGGAGTCTCATGGATGAT
G S V G G L F T S L G K A V H Q V F G S V Y T T L F F G G V S W M I

|
가공된 E-447 Met-to-Leu (nt-2275 A-to-C) 돌연변이

D4 1036 서열역 끝
2310      2320      2330      2340      2350      2360      2370      2380      2390      2400
TAGAATCTCAATTGGGTTCCTAGTGTGTGGATTGGCACGAACTCAAGGAACACTTCAATGGCTATGACGTGCATAGCTCCCGCAATTGTGACACTGTAT
R I L I G F L V L W I G T N S R N T S M A M T C I A A G I V T L Y

|
가공된 NgomIV 스플라이싱 위치, E-482 Val-to-Ala (nt-2381/2382 TG-to-CC)

> NS1
2410      2420      2430      2440      2450      2460      2470      2480      2490      2500
TTGGAGTTCATGGTCAGGCGGATAGTGGTTGCGTTGTGAGCTGGAAAAACAAGAACTGAAATGTGGCAGTGGGATTTCATCACAGACACAGTGCACA
L G V M V Q A D S G C V V S W K N K E L K C G S G I F I T D N V H T

2510      2520      2530      2540      2550      2560      2570      2580      2590      2600
CATGGACAGAACAAATACAAGTTCACACCCAGAACTCCCTTCAAACCTAGCTTCAGCTATCCAGAAAGCCCATGAAGAGGACATTTGTGGAATCCGCTCAGT
W T E Q Y K F Q P E S P S K L A S A I Q K A H E E D I C G I R S V

|
D2 FDR-53 NS1-53-Asp 약독화 유전자자리 (wt D2 16681: Gly, nt-2579-G)

2610      2620      2630      2640      2650      2660      2670      2680      2690      2700
AACAAAGCTGGAGAATCTGATGTGGAACAAATAACACCAAGAAATGAATCACAATTCTATCAGAAATGAGGTGAAGTTAACTATTATGACAGGAGACATC
T R L E N L M W K Q I T P E L N H I L S E N E V K L T I M T G D I

2710      2720      2730      2740      2750      2760      2770      2780      2790      2800
AAAGGAATCATGCAGGCAGGAAAACGATCTCTGCGGCCTCAGCCCACTGAGCTGAAGTATTCAATGGAAAAACATGGGGCAAGCAAAAATGCTCTCTACAG
K G I M Q A G K R S L R P Q P T E L K Y S W K T W G K A K M L S T E

2810      2820      2830      2840      2850      2860      2870      2880      2890      2900
AGTCTCATAAACAGACCTTTCTCATTTGATGGCCCCGAAAACAGCAGAATGCCCAACACAAATAGAGCTTGGAAATTCGTTGGAAGTTGAAGACTATGGCTT
S H N Q T F L I D G P E T A E C P N T N R A W N S L E V E D Y G F

2910      2920      2930      2940      2950      2960      2970      2980      2990      3000
TGGAGTATTCAACCAATATATGGCTAAAATTGAAAGAAAACAGGATGTATTCTGCGACTCAAAACTCATGTGACGGCCATAAAAGACAAACAGAGCC
G V F T T N I W L K L K E K Q D V F C D S K L M S A A I K D N R A

3010      3020      3030      3040      3050      3060      3070      3080      3090      3100
GTCCATGCCGATATGGGTTATTGGATAGAAAGTGCACTCAATGACACATGGAAGATAGAGAAAGCCTCTTTCATTGAAGTTAAAACTGCCACTGGCCAA
V H A D M G Y W I E S A L N D T W K I E K A S F I E V K N C H W P K

3110      3120      3130      3140      3150      3160      3170      3180      3190      3200
AATCACACACCCTCTGGAGCAATGGATGTGTAGAAAGTGAGATGATAATCCAAAGAATCTCGCTGGACCAGTGTCTCAACACAACTATAGACCAGGCTA
S H T L W S N G V L E S E M I I P K N L A G P V S Q H N Y R P G Y

3210      3220      3230      3240      3250      3260      3270      3280      3290      3300
CCATACACAAATAACAGGACCATGGCATCTAGGTAAAGCTTGAGATGGACTTTGATTCTCTGTATGGAACACAGTGGTAGTGACTGAGGACTGCGGAAAT
H T Q I T G P W H L G K L E M D F D F C D G T T V V V T E D C G N

3310      3320      3330      3340      3350      3360      3370      3380      3390      3400
AGAGGACCCCTCTTTGAGAAACAACCACTGCCTCTGGAAGAACTCATACAGAAATGGTGTGCTGCGATCTTGACATTAACCAACCGCTAAGATACAGAGGTGAGG
R G P S L R T T T A S G K L I T E W C C R S C T L P P L R Y R G E D

> NS2A
3410      3420      3430      3440      3450      3460      3470      3480      3490      3500

```

ATGGGTGCTGGTACGGGATGGAAATCAGACCATTGAAGGAGAAAAGAGAATTTGGTCAACTCCTTGGTCACAGCTGGACATGGGCAGGTCGACAACTT
G C W Y G M E I R P L K E K E E N L V N S L V T A G H G Q V D N F

3510 3520 3530 3540 3550 3560 3570 3580 3590 3600
TTCACATAGGAGTCTTGGGAATGGCATTGTTCTGGAGGAAATGCTTAGGACCCGAGTAGGAACGAAACATGCAATACTACTAGTTGCAGTTTCTTTTGTG
S L G V L G M A L F L E E M L R T R V G T K H A I L L V A V S F V

3610 3620 3630 3640 3650 3660 3670 3680 3690 3700
ACATTGATCAGGGAACATGCTCCTTTAGAGACCTGGGAAGAGTGATGGTTATGGTAGGCGCCACTATGACGGGTGACATAGGTATGGGCGTGACTTATC
T L I T G N M S F R R D L G R V M V M V G A T M T G D I G M G V T Y L

|
매스터 및 전-매스터 시드에서의 추가적인 NS2A-66 Asp-to-Gly (nt-3674 A-to-G 돌연변이)

3710 3720 3730 3740 3750 3760 3770 3780 3790 3800
TGTCCCTACTAGCAGCCTTCAAGTCAGACCAACTTTTGACAGCTGGACTACTCTTGAGAAAGCTGACCTCCAGGGAATTGATGATGACTACTATAGGAAT
A L L A A F K V R P T F A A G L L L R K L T S K E L M M T T I G I

|
매스터 시드에서의 추가적인 NS2A-99 K to R/K (mix) (nt-3773 A-to-G/A) 돌연변이

3810 3820 3830 3840 3850 3860 3870 3880 3890 3900
TGTACTCCTCTCCAGAGCACCATACAGAGACCATTTCTGAGTTGACTGATGCGTTAGCCTTAGGCATGATGGTCTCAAAATGGTGAGAAATATGGAA
V L L S Q S T I P E T I L E L T D A L A L G M M V L K M V R N M E

3910 3920 3930 3940 3950 3960 3970 3980 3990 4000
AAGTATCAATTGGCAGTGACTATCATGGCTATCTTGTGCGTCCCAAACGAGTGATATTACAAAACGATGGAAAGTGAGTTGCACAATATTGGCAGTGG
K Y Q L A V T I M A I L C V P N A V I L Q N A W K V S C T I L A V V

4010 4020 4030 4040 4050 4060 4070 4080 4090 4100
TGTCCGTTTCCCACTGTTCTTAACATCCTCACAGCAAAAAACAGATTGGATACCATTAGCATTGACGATCAAAAGGTCTCAATCCAACAGCTATTTTCT
S V S P L F L T S S Q Q K T D W I P L A L T I K G L N P T A I F L

|
D2 PDK-53 특이적 NS2A-181-Phe (wt D2 16681: Leu, nt-4018-C)

> NS2B

4110 4120 4130 4140 4150 4160 4170 4180 4190 4200
AACAAACCTCTCAAGAACCCAGCAAGAAAAGAGCTGGCCATTAAATGAGCTATCATGCGAGTCGCGATGGTGAGCATTTTAGCCAGTTCTCTCTCTAAAA
T T L S R T S K K R S W P L N E A I M A V G M V S I L A S S L L K

4210 4220 4230 4240 4250 4260 4270 4280 4290 4300
AATGATATTTCCCATGACAGGACCATTAGTGGCTGGAGGGCTCCTCACTGTGTGCTACGTGCTCACTGGACGATCGGCCGCAATTGGAACTGGAGAGAGCAG
N D I P M T G P L V A G G L L T V C Y V L T G R S A D L E L E R A A

4310 4320 4330 4340 4350 4360 4370 4380 4390 4400
CCGATGTGCAAAATGGGAAGACAGGAGAGATATCAGGAAGCAGTCCAATCCTGTCAATAACAATATCAGAAGATGGTAGCATGTCGATAAAAAATGAAGA
D V K W E D Q A E I S G S S P I L S I T I S E D G S M S I K N E E

4410 4420 4430 4440 4450 4460 4470 4480 4490 4500
GGAAGAACAAACACTGACCATACTCTATTAGAACAGGATTGCTGGTGATCTCAGGACTTTTTCTGTATCAATACCAATCACGCGAGCAGCATGGTACCTG
E E Q T L T I L I R T G L L V I S G L F P V S I P I T A A A W Y L

> NS3

4510 4520 4530 4540 4550 4560 4570 4580 4590 4600
TGGGAAGTGAAAGAAACACGCGCCGAGTATTGTGGGATGTTTCCTTCACCCCACCCATGGGAAAGGCTGAACTGGAAGATGGAGCCTATAGAATTAAGC
W E V K K Q R A G V L W D V P S P P P M G K A E L E D G A Y R I K Q

4610 4620 4630 4640 4650 4660 4670 4680 4690 4700
AAAAAGGGATTCTTGGATATTTCCAGATCGGAGCCGGAGTTTACAAAGAAGGAACATTCCATACAATGTGGCATGTCAACGCTGGCGCTGTTCTAATGCA
K G I L G Y S Q I G A G V Y K E G T F H T M W H V T R G A V L M H

4710 4720 4730 4740 4750 4760 4770 4780 4790 4800
TAAAGGAAGAGGATTGAACCATCATGGGCGGACGTCAAGAAAGACCTAATATCATATGGAGGAGCTGGAAAGTTAGAAGGAATGGAAGGAAGGAGAA
K G K R I E P S W A D V K K D L I S Y G G G W K L E G E W K E G E

4810 4820 4830 4840 4850 4860 4870 4880 4890 4900
GAAGTCCAGGTATTGGCACTGGAGCCTGGAAAAAATCCAAGAGCCGTCCAACGAAACCTGGTCTTTTCAAAACCAACGCCGGAACAATAGGTGCTGTAT
E V Q V L A L E P G K N P R A V Q T K P G L F K T N A G T I G A V S

4910 4920 4930 4940 4950 4960 4970 4980 4990 5000
CTCTGGACTTTTCTCCTGGAACTGAGGATCTCCAATTATCGACAAAAAAGGAAAAGTTGTGGGTCTTTATGGTAATGGTGTGTACAAAGGAGTGGAGC
L D F S P G T S G S P I I D K K G K V V G L Y G N G V V T R S G A

5010 5020 5030 5040 5050 5060 5070 5080 5090 5100
ATATGTGAGTGCTATAGCCCAGACTGAAAAAAGCATTGAAGACAACCCAGAGATCGAAGATGACATTTTCCGAAAGAGAAGACTGACCATCATGGACCTC
Y V S A I A Q T E K S I E D N P E I E D D I F R K R R L T I M D L

5110 5120 5130 5140 5150 5160 5170 5180 5190 5200
CACCAGGAGCGGGAAGACGAAGATACCTTCGGGCCATAGTCAGAGAAGCTATAAAACGGGGTTTGAGAACATTAATCTTGGCCCCACTAGAGTTG
H P G A G K T K R Y L P A I V R E A I K R G L R T L I L A P T R V V

5210 5220 5230 5240 5250 5260 5270 5280 5290 5300
TGGCAGCTGAAATGGAGGAAGCCCTTAGAGGACTTCCAATAAGATACCAGACCCAGCCATCAGAGCTGCGCACACCGGGCGGAGATTGTGGACCTAAT
A A E M E E A L R G L P I R Y Q T P A I R A V H T G R E I V D L M

D2 PDK-53 NS3-250-Val 막특화 유전자자리 (D2 16681: Glu, nt-5270-A)

5310 5320 5330 5340 5350 5360 5370 5380 5390 5400
GTGTGATGCCACATTTACCATGAGGCTGCTATCACCAGTTAGAGTGCCAACTACAACTGATTATCATGGACGAAGCCCATTTACAGATCCAGCAAGT
C H A T F T M R L L S P V R V P N Y N L I I M D E A H F T D P A S

마스터 및 전-마스터 시드에서의 추가적인 nt-5391 C-to-T 시퀀런스 돌연변이

5410 5420 5430 5440 5450 5460 5470 5480 5490 5500
ATAGCAGCTAGAGGATACATCTCAACTCGAGTGGAGTGGGTGAGGCAGCTGGGATTTTATGACAGCCACTCCCCGGGAAGCAGAGACCCATTTCTC
I A A R G Y I S T R V E M G E A A G I F M T A T P P G S R D P F P Q

5510 5520 5530 5540 5550 5560 5570 5580 5590 5600
AGAGCAATGCACCAATCATAGATGAAGAAAGAGAAATCCCTGAACGCTCGTGGAAATCCGGACATGAATGGGTACGGATTTTAAAGGGAAGACTGTTTG
S N A P I I D E E R E I P E R S W N S G H E W V T D F K G K T V W

D2 PDK-53 특이적 시퀀런스 돌연변이 nt-5547-C (D2 16681: T)

5610 5620 5630 5640 5650 5660 5670 5680 5690 5700
GTTCTGTTCCAAAGTATAAAAGCAGGAAATGATATAGCAGCTTGCTGAGGAAAAATGGAAGAAAGTGATACAACTCAGTAGGAAGACCTTTGATTCTGAG
F V P S I K A G N D I A A C L R K N G K K V I Q L S R K T F D S E

5710 5720 5730 5740 5750 5760 5770 5780 5790 5800
TATGTCAGAACTAGAACCAATGATTGGGACTTCGTGGTTCAACTGACATTTCAGAAATGGGTGCCAATTTCAAGGCTGAGAGGTTTATAGACCCGAGAC
Y V K T R T N D W D F V V T T D I S E M G A N F K A E R V I D P R R

5810 5820 5830 5840 5850 5860 5870 5880 5890 5900
GCTGCATGAAACCGACTCATACTAACAGATGGTGAAGAGCGGGTGATTCTGGCAGGACCTATGCCAGTGACCCACTCTAGTGCAGCACAAAGAGAGGGAG
C M K P V I L T D G E E R V I L A G P M P V T H S S A A Q R R G R

5910 5920 5930 5940 5950 5960 5970 5980 5990 6000
AATAGGAAGAAATCCAAAAATGAGAAATGACCAAGTACATATACATGGGGGAACCTCTGAAAAATGATGAAGACTGTGCACACTGGAAAGAAAGCTAAATG
I G R N P K N E N D Q Y I Y M G E P L E N D E D C A H W K E A K M

6010 6020 6030 6040 6050 6060 6070 6080 6090 6100
CTCCTAGATAACATCAACACGCCAGAGGAATCATTCTAGCATGTTTCGAACCCAGAGCGTGAAAAGGTGGATGCCATTGATGGCGAATACCGCTTGAGAG
L L D N I N T P E G I I P S M F E P E R E K V D A I D G E Y R L R G

6110 6120 6130 6140 6150 6160 6170 6180 6190 6200
GAGAAGCAAGAAACCTTTGTAGACTTAATGAGAAGAGAGACCTACCACTCTGGTTGGCTCAGAGATGGCAGCTGAAGGCATCAACTACGACAGACAG
E A R K T F V D L M R R G D L P V W L A Y R V A A E G I N Y A D R

6210 6220 6230 6240 6250 6260 6270 6280 6290 6300
AAGGTGGTGTTTTGTATGGAGTCAAGAACAACCAATCCTAGAAAGAAAACGTGGAAGTTGAAATCTGGACAAAAGAGGGGAAAGGAAAGAAATTGAAACCC
R W C F D G V K N N Q I L E E N V E V E I W T K E G E R K K L K P

> NS4A

6310 6320 6330 6340 6350 6360 6370 6380 6390 6400
AGATGGTTGGATGTAGGATCTATTCTGACCCACTGGCGCTAAAAGAATTTAAGGAATTTGCAGCCGGAAGAAAGTCTCTGACCTGAACCTAATCACAG
R W L D A R I Y S D P L A L K E F K E F A A G R K S L T L N L I T E

6410 6420 6430 6440 6450 6460 6470 6480 6490 6500
AAATGGGTAGGCTCCCAACCTTCATGACTCAGAAGGTAAAGAGACGCACCTGGACACACTTACGAGTGTGCACACCGCTGAAGGCAGGTGGAAGGGCGTACAA
M G R L P T F M T Q K V R D A L D N L A V L H T A E A G G R A Y N

마스터 및 전-마스터 시드에서의 추가적인 NS4A-21 Ala-to-Val (nt-6437 C-to-T) 돌연변이

6510 6520 6530 6540 6550 6560 6570 6580 6590 6600
CCATGCTCTCAGTGAAGTGCAGGAGACCTGGAGACATTGCTTTTACTGACACTTCTGGCTACAGTCACGGGAGGGATCTTTTATTCTTGATGAGCGCA
H A L S E L P E T L E T L L L T L L A T V T G G I F L F L M S A

D2 PDK-53 특이적 NS4A-75-Ala (wt D2 16681: Gly, nt-6599-G)

6610 6620 6630 6640 6650 6660 6670 6680 6690 6700
AGGGGCATAGGGAAGATGACCTGGGAATGTGTCATATACAGGCTAGCATCTCTATGTTAGTACGACAAATACAGCCACTGGATAGCAGCTTCAA
R G I G K M T L G M C C I I T A S I L L W Y A Q I Q P H W I A A S I

6710 6720 6730 6740 6750 6760 6770 6780 6790 6800
TAATACTGGAGTGTCTTCATAGTTTGTCTTATTCAGAACCTGAAAAACAGAGAACACCCCAAGACAACTGACCTACGTTGTCATAGCCATCCT

I L E F F L I V L L I P E P E K Q R T P Q D N Q L T Y V V I A I L

> NS4B

6810 6820 6830 6840 6850 6860 6870 6880 6890 6900
CACAGTGGTGGCCGCAACCATGGCAAGAGATGGGTTTCCTAGAAAAACGAAGAAAGATCTCGGATTGGGAAGCATTTGCAACCCAGCAACCCGAGAGC
T V V A A T M A N E M G F L E K T K K D L G L G S I A T Q Q P E S

6910 6920 6930 6940 6950 6960 6970 6980 6990 7000
AACATCCTGGACATAGATCTACGTCTGCATCAGCATGGACGCTGTATGCCGTGGCCACCAACATTGTGTACACCAATGTTGAGACATAGCATTGAAAAATT
N I L D I D L R P A S A W T L Y A V A T T F V T P M L R H S I E N S

7010 7020 7030 7040 7050 7060 7070 7080 7090 7100
CCTCAGTGAATGTGTCCTTAACAGCCATAGCCAAACCAAGCCACAGTGTAAATGGGTCTCGGAAAGGATGGCCATTGTCAAAGATGGACATCGGAGTTCC
S V N V S L T A I A N Q A T V L M G L G K G W P L S K M D I G V P

마스터 및 전-마스터 시드에서의 추가적인 nt-7026 T-to-C/T 혼란 서열린트 돌연변이

7110 7120 7130 7140 7150 7160 7170 7180 7190 7200
CCTTCTCGCCATTGGATGCTACTCACAAGTCAACCCCATAACTCTCACAGCAGCTCTTTTCTTATTTGGTAGCACATTATGCCATCATAGGGCCAGGACTC
L L A I G C Y S Q V N P I T L T A A L F L L V A H Y A I I G P G L

7210 7220 7230 7240 7250 7260 7270 7280 7290 7300
CAAGCAAAGCAACAGAGAAGCTCAGAAAAGAGCAGCGCGGGCATCATGAAAAACCCAACTGTCGATGGAATAACAGTGTATTGACCTAGATCCAAATAC
Q A K A T R E A Q K R A A A G I M K N P T V D G I T V I D L D P I P

7310 7320 7330 7340 7350 7360 7370 7380 7390 7400
CTTATGATCCAAAGTTTGAAAGCACTGGGACAAGTAATGCTCTAGTCTCTGCGTGACTCAAGTATTGATGATGAGGACTACATGGGCTCTGTGTGA
Y D P K F E K Q L G Q V M L L V L C V T Q V L M M R T T W A L C E

7410 7420 7430 7440 7450 7460 7470 7480 7490 7500
GGCTTTAACTTAGCTACCGGCCCATCTCCACATTGTGGGAAGGAAATCCAGGGAGGTTTGGAACTACCATGCGGTGTCAATGGCTAACATTTT
A L T L A T G P I S T L W E G N P G R F W N T T I A V S M A N I F

> NS5

7510 7520 7530 7540 7550 7560 7570 7580 7590 7600
AGAGGGAGTTACTGGCCGGAGCTGGAATCTCTTTTCTATTATGAAGAACACAAACCAAGCAAGGAGGAACTGGCAACATAGGAGAGACGCTTGGAG
R G S Y L A G A G L L F S I M K N T T N T R R G T G N I G E T L G E

7610 7620 7630 7640 7650 7660 7670 7680 7690 7700
AGAAATGGAAAAGCCGATTGAACGCATTGGGAAAAAGTGAATTCAGATCTACAAAGAAAAGTGAATCCAGGAAGTGGATAGAACCTTAGCAAAAAGGAGG
K W K S R L N A L G K S E F Q I Y K K S G I Q E V D R T L A K E G

7710 7720 7730 7740 7750 7760 7770 7780 7790 7800
CATTAAGAGAGGAGAAACGGACCATCAGCTGTGTGCGAGGCTCAGCAAACTGAGATGGTTGTTGAGAGAAACATGGTCAACCCAGAGGAGGAAAGTA
I K R G E T D H H A V S R G S A K L R W F V E R N M V T P E G K V

7810 7820 7830 7840 7850 7860 7870 7880 7890 7900
GTGGACCTCGGTTGTGCGAGGAGGCTGATCTATTGTGGAGGACTAAAGAATGTAAGAGAAAGTCAAAGGCTTAACAAAAGGAGGACCGAGCACG
V D L G C G R G G W S Y Y C G G L K N V R E V K G L T K G G P G H E

7910 7920 7930 7940 7950 7960 7970 7980 7990 8000
AAGAACCATCCCCATGTCAACATATGGGTGGAATCTAGTGCCTCTTCAAAGTGGAGTTGACGTTTCTTCATCCCGCCAGAAAAAGTGTGACACATTATT
E P I P M S T Y G W N L V R L Q S G V D V F F I P P E K C D T L L

8010 8020 8030 8040 8050 8060 8070 8080 8090 8100
GTGTGACATAGGGGAGTCATCACCAAATCCCACAGTGGGAAGCAGGACGAACTCAGAGTCTCTTAACCTTAGTAGAAAAATTGGTTGAACAACAACACTCAA
C D I G E S S P N P T V E A G R T L R V L N L V E N W L N N N T Q

8110 8120 8130 8140 8150 8160 8170 8180 8190 8200
TTTTGCATAAAGGTTCTCAACCCATATATGCCCTCAGTCTAGAAAAAATGGAAGCACTACAAAGGAAATATGGAGGAGCCTTAGTGAGGAATCACTCT
F C I K V L N P Y M P S V I E K M E A L Q R K Y G G A L V R N P L S

8210 8220 8230 8240 8250 8260 8270 8280 8290 8300
CACGAACTCCACATGAGATGTATGGGTATCCAATGCTTCCGGGAACATAGTGTATCATGTAACATGATTTCAAGGATGTTGATCAACAGATTAC
R N S T H E M Y W V S N A S G N I V S S V N M I S R M L I N R F T

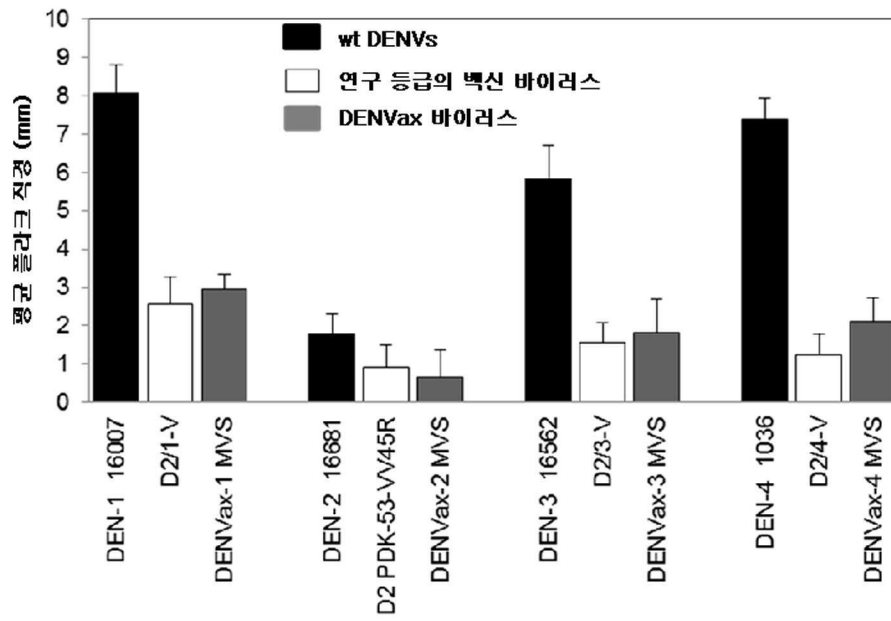
8310 8320 8330 8340 8350 8360 8370 8380 8390 8400
AATGAGATACAAGAAAGCCACTTACGAGCCGATGTTGACCTCGGAAGCGGAACCCGTAAACATCGGGATTGAAAGTGAGATACCAACCTAGATATAATT
M R Y K K A T Y E P D V D L G S G T R N I G I E S E I P N L D I I

8410 8420 8430 8440 8450 8460 8470 8480 8490 8500
GGGAAAAAATAGAAAAATAAAGCAAGAGCATGAACATCATGGCACTATGACCAAGACCAACCATACAAAAAGTGGGCATACCATGGTAGCTATGAAA
G K R I E K I K Q E H E T S W H Y D Q D H P Y K T W A Y H G S Y E T

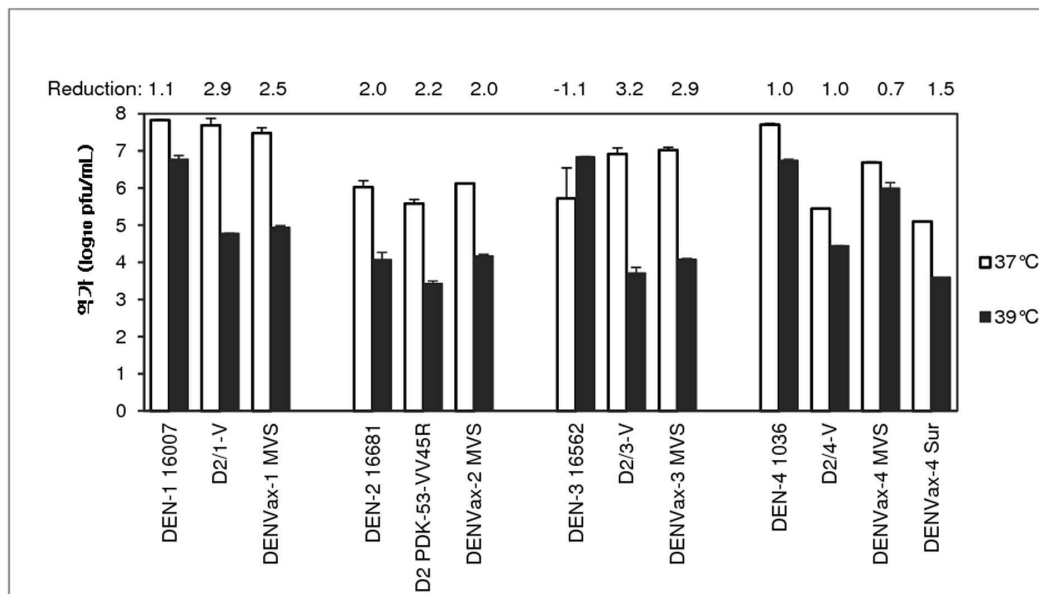
8510 8520 8530 8540 8550 8560 8570 8580 8590 8600
CAAAACAGACTGGATCAGCATCATCCATGGTCAACGGAGTGGTCAGGCTGTGACAAAACCTTGGGACGTCGTCCCATGGTGACACAGATGGCAATGAC
K Q T G S A S S M V N G V V R L L T K P W D V V P M V T Q M A M T

[0300]

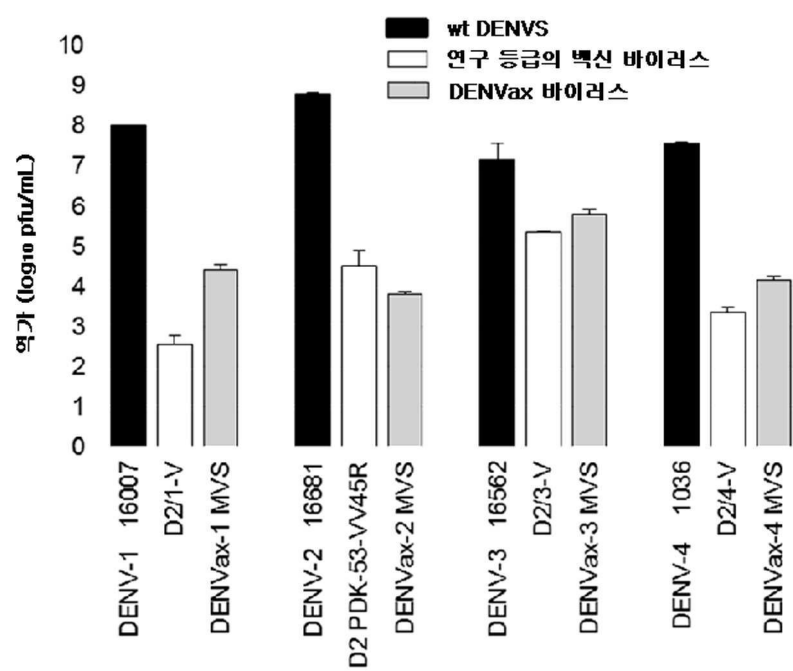
도면2



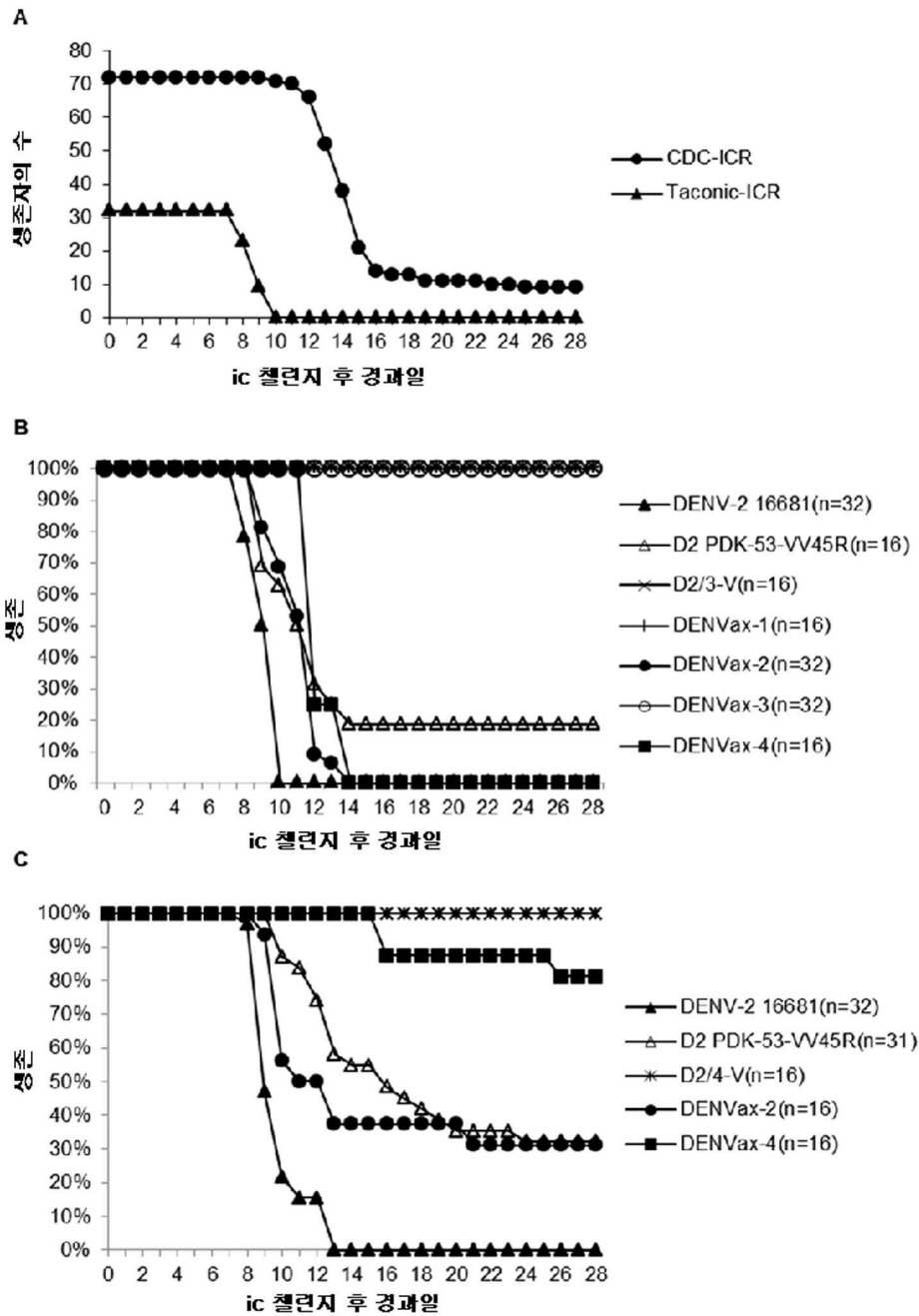
도면3



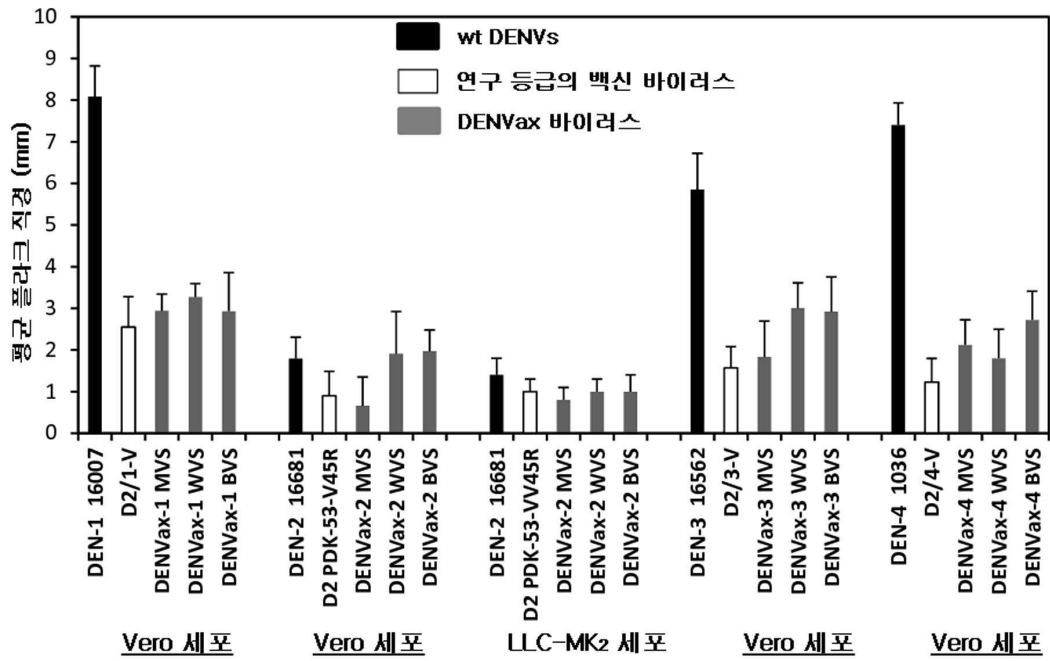
도면4



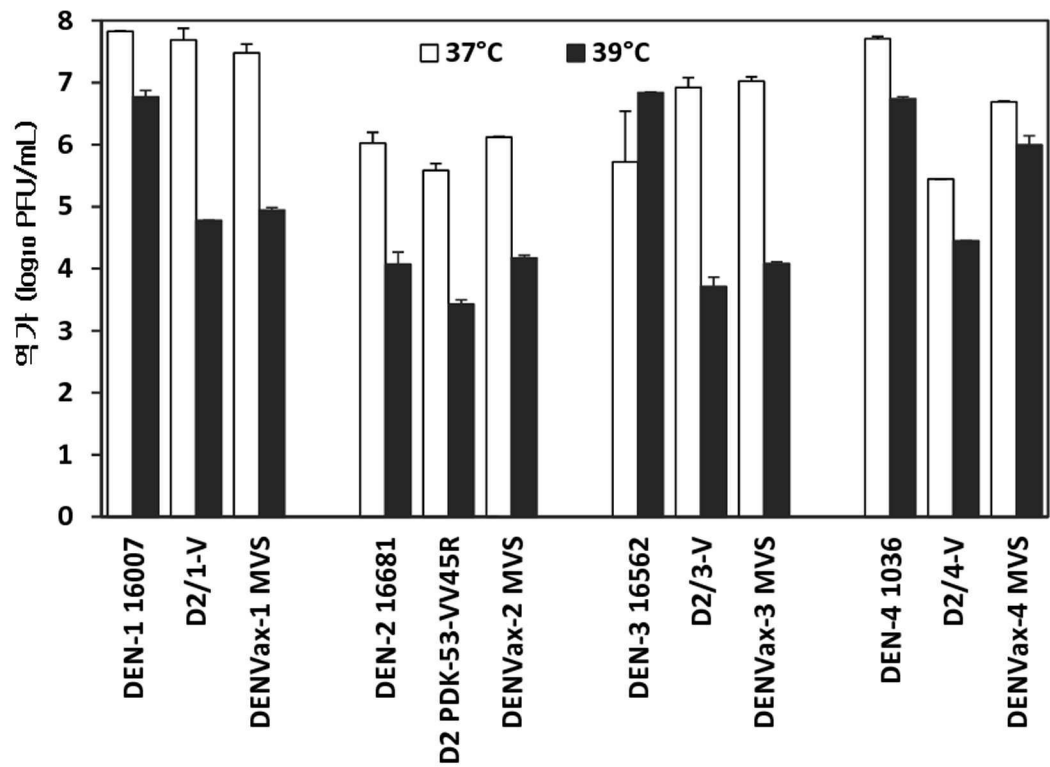
도면5



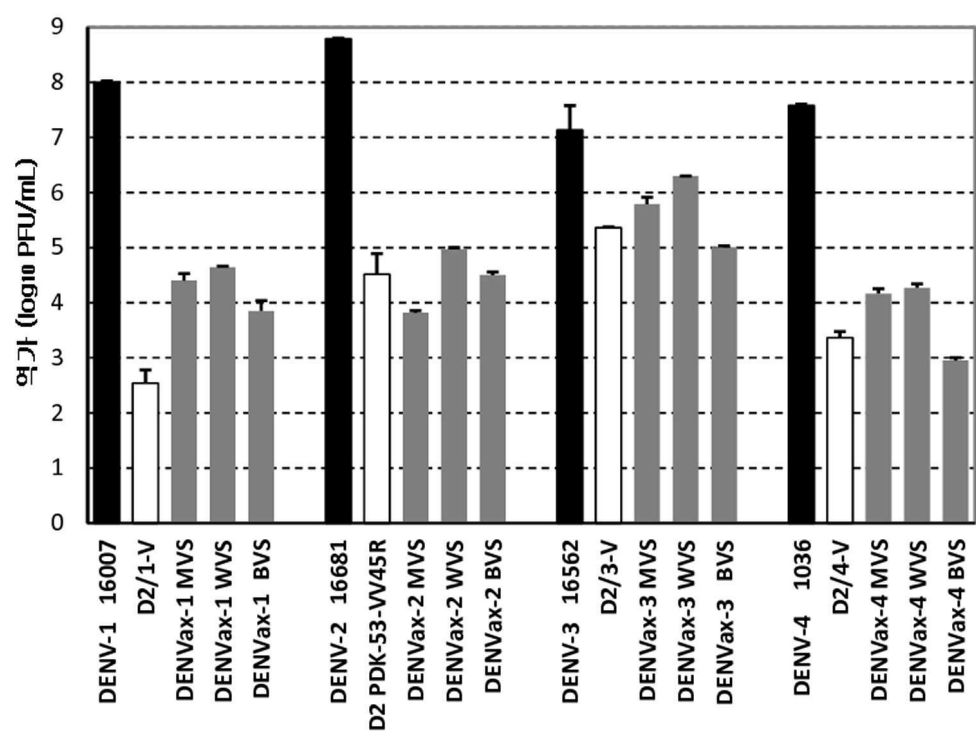
도면6



도면7

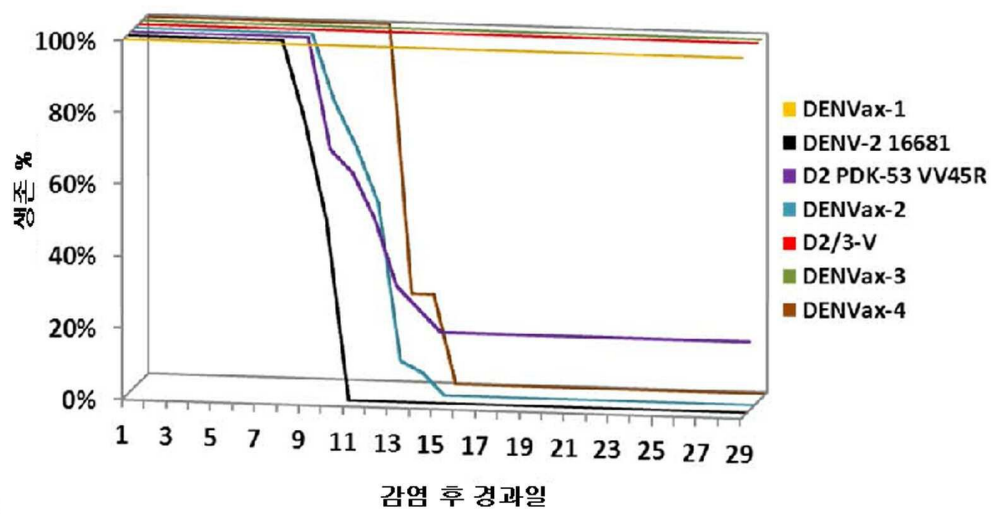


도면8

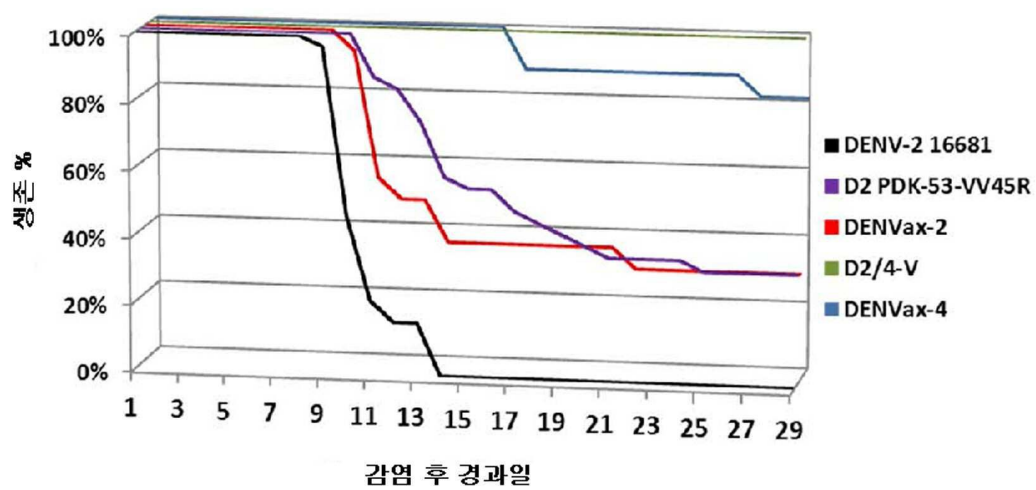


도면9

A



B



도면10

발명명	공주	비메리크스 계열	CSTT	A524T	T900C*	C205T	G4529A	C4018T	A52703	T5547C	G6599C	C8571T
			5'NCR	PM-D39V	M (silent)	E (silent)	NS3-G33D	NS2A-L181	NS2-E350V	NS3 (silent)	NS4A-G75A	NS7 (silent)
16881	인간은코부터 단리델		C	A	T	C	G	C	A	T	G	C
POK-53	16881의 POK 세포 패스		T	T	..	t	A	T	I/A mix	c	C	T
DENV/2	POK53-V(VV48R)		T	T	c	t	A	T	T	c	C	C
	제조한 POK-53-V		T	T	c	t	A	T	T	c	C	C
	제조한 POK-53-E		T	T	c	t	A	T	T	c	C	C

비메리크스 계열: POK-53의 371지 가장 중요한 약독화 위치
* 발명명: POK-53 특이적 서열 (16881 공복타의 변형)
* 발명명: POK-53 및 클론-유도된 V 또는 E 비메리크스 계열의 변형
* 발명명: POK-53 및 제조한 비메리크스 계열을 포함시키는 방법

서열 목록

- <110> Inviragen, Inc.
- THE GOVERNMENT OF THE UNITED STATES OF AMERICA AS
- REPRESENTED BY THE SECRETARY OF THE DEPARTMENT OF HEALTH AND
- HUMAN SERVICES
- <120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR DENGUE VIRUS CHIMERIC CONSTRUCTS IN
- VACCINES
- <130> 2015-FPA-7199
- <150> US 61/800,204
- <151> 2013-03-15

<160> 16
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 10723
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dengue virus serotype 1, BVS

<400> 1

agttgttagt ctacgtggac cgacaaagac agattctttg agggagctaa gctcaatgta	60
gttctaacag ttttttaatt agagagcaga tctctgatga ataaccaacg gaaaaaggcg	120
aaaaacacgc ctttcaatat gctgaaacgc gagagaaacc gcgtgtcgac tgtgcaacag	180
ctgacaaaga gattctcact tggaatgctg cagggacgag gaccattaaa actgttcatg	240
gccctggtag cgttccttcg ttctctaaca atcccaccaa cagcagggat attgaagaga	300
tggggaacaa ttaaaaaatc aaaagctatt aatgttttga gagggttcag gaaagagatt	360
ggaaggatgc tgaacatctt gaataggaga cgcagatctg caggcatgat cattatgctg	420
attccaacag tgatggcgtt ccatttaacc acgctgggg gagagccgca tatgatagtt	480
agcaagcagg aaagaggaaa gtcacttttg ttcaagacct ctgcagggtg caacatgtgc	540
accctcattg cgatggattt gggagagtig tigtaggaca cgatgaccta caaatgcccc	600
cggatcactg aggcggaacc agatgacgtt gactgttggg gcaatgccac ggacacatgg	660
gtgacctatg gaacgtgctc tcaactggc gaacaccgac gagacaaacg ttccgtcgca	720
ttggccccac acgtggggct tggcctagaa acaagagccg aaacgtggat gtctctgaa	780
ggtgcttgga aacagataca aaaagtagag acttgggctc tgagacatcc aggattcacg	840
gtgatagccc tttttctagc acatgccata ggaacatcca tcaccagaa agggatcatt	900
ttcattttgc tgatgctggg aacaccatct atggccatgc gatgcgtggg aataggcaac	960
agagacttcg tggaaggact gtcaggagca acatgggtgg atgtggtact ggagcatgga	1020
agttgcgtca ccaccatggc aaaaaacaaa ccaacactgg acattgaact cttgaagacg	1080
gaggtcacia accctgcagt tctgcgtaaa ttgtgcattg aagctaaaat atcaaacacc	1140
accaccgatt cgagatgtcc aacacaagga gaagccacac tgggtgaaga acaagacgcg	1200
aactttgtgt gccgacgaac gtctgtggac agaggctggg gcaatggctg tgggctattc	1260
ggaaaaggta gtctaataac gtgtgccaag ttttaagtgt tgacaaaact agaaggaaag	1320
atagttcaat atgaaaacct aaaatattca gtgatagtca ccgtccacac tggagatcag	1380

caccaggtgg gaaatgagac tacagaacat ggaacaactg caaccataac acctcaagct	1440
cctacgtcgg aaatacagct gaccgactac ggaaccctta cattagattg ttcacctagg	1500
acagggctag attttaacga gatggtgttg ctgacaatga aagaaagatc atggcttgtc	1560
cacaaacaat gggtcctaga cttaccactg ccttggacct ctggggcttc aacatcccaa	1620
gagacttgga acagacaaga tttactggtc acatttaaga cagctcatgc aaagaagcag	1680
gaagtagtcg tactaggatc acaagaagga gcaatgcaca ctgcgctgac tggagcgaca	1740
gaaatccaaa cgtcaggaac gacaacaatt ttcgcaggac acctaaaatg cagactaaaa	1800
atggacaaac taactttaaa agggatgtca tatgtgatgt gcacaggctc attcaagtta	1860
gagaaagaag tggctgagac ccagcatgga actgttcttg tgcaggttaa atatgaagga	1920
acagacgcac catgcaagat tcccttttcg acccaagatg agaaaggagc aaccagaat	1980
gggagattaa taacagccaa ccccatagtc actgacaaag aaaaaccagt caatattgag	2040
gcagaaccac cctttggtga gagctacatc gtggtaggag caggtgaaaa agctttgaaa	2100
ctaagctggt tcaagaaagg aagcagcata gggaaaatgt ttgaagcaac tgcccagga	2160
gcacgaagga tggccattct gggagacacc gcatgggact tcggttctat aggaggagtg	2220
ttcacgtcta tgggaaaact ggtacaccag gtttttgga ctgcatatgg agttttgttt	2280
agcggagttt cttggacat gaaaatagga atagggattc tgctgacatg gctaggatta	2340
aattcaagga acacgtccct ttcgatgatg tgcacgcag ccgccattgt gacactgtat	2400
ttgggagtca tgggtgcaggc cgatagtgtt tgcgttgtga gctggaaaaa caaagaactg	2460
aatgtggca gtgggatttt catcacagac aacgtgcaca catggacaga acaatacaag	2520
ttccaaccag aatccccttc aaaactagct tcagctatcc agaaagccca tgaagaggac	2580
atttgtgga tccgctcagt aacaagactg gagaatctga tgtggaaaca aataacacca	2640
gaattgaatc acattctatc agaaaatgag gtgaagttaa ctattatgac aggagacatc	2700
aaaggaatca tgcaggcagg aaaacgatct ctgcggctc agcccactga gctgaagtat	2760
tcattgaaaa catggggcaa agcaaaaatg ctctctacag agtctcataa ccagaccttt	2820
ctcattgatg gccccgaac agcagaatgc cccaacacaa atagagcttg gaattcgttg	2880
gaagttgaag actatggctt tggagtattc accaccaata tatggctaaa attgaaagaa	2940
aaacaggatg tattctgcga ctcaaaactc atgtcagcgg ccataaaaga caacagagcc	3000
gtccatgccg atatgggtta ttggatagaa agtgactca atgacacatg gaagatagag	3060
aaagcctctt tcattgaagt taaaaactgc cactggccaa aatcacacac cctctggagc	3120
aatggagtgc tagaaagtga gatgataatt ccaaagaatc tcgctggacc agtgtctcaa	3180
cacaactata gaccaggcta ccatacacia ataacaggac catggcatct aggttaagctt	3240

gagatggact ttgatttctg tgatggaaca acagtggtag tgactgagga ctgcggaaat	3300
agaggaccct ctttgagaac aaccactgcc tctggaaaac tcataacaga atggtgctgc	3360
cgatcttgca cattaccacc gctaagatac agaggtgagg atgggtgctg gtacgggatg	3420
gaaatcagac cattgaagga gaaagaagag aatttgggtca actccttgggt cacagctgga	3480
catgggcagg tcgacaactt ttcactagga gtcttgggaa tggcattgtt cctggaggaa	3540
atgcttagga cccgagtagg aacgaacat gcaatactac tagttgcagt ttcttttgtg	3600
acattgatca cagggaacat gtcctttaga gacctgggaa gagtgatggt tatggtaggc	3660
gccactatga cggatgacat aggtatgggc gtgacttatac ttgccctact agcagccttc	3720
aaagtcagac caacttttgc agctggacta ctcttgagaa agctgacctc caaggaattg	3780
atgatgacta ctataggaat tgtactcttc tcccagagca ccctaccaga gaccattctt	3840
gagttgactg atgcgttagc cttaggcatg atggtcctca aaatggtgag aaatatggaa	3900
aagtatcaat tggcagtgac tatcatggct atcttgtgcg tcccaaacgc agtgatatta	3960
caaaacgcac ggaagtgag ttgcacaata ttggcagtggt tgtccgttcc cccactgttc	4020
ttaacatcct cacagcaaaa aacagattgg ataccattag cattgacgat caaaggtctc	4080
aatccaacag ctatttttct aacaacccctc tcaagaacca gcaagaaaag gagctggcca	4140
ttaaagtagg ctatcatggc agtcgggatg gtgagcattt tagccagttc tctcctaaaa	4200
aatgatattc ccatgacagg accattatgt gctggagggc tcctcactgt gtgctacgtg	4260
ctcactggac gatcgccga tttggaactg gagagagcag ccgatgtcaa atgggaagac	4320
caggcagaga tatcaggaag cagtccaatc ctgtcaataa caatatcaga agatggtagc	4380
atgtcgataa aaaatgaaga ggaagatcaa aactgacca tactcattag aacaggattg	4440
ctggtgatct caggactttt tctgtatca ataccaatca cggcagcagc atggtacctg	4500
tgggaagtga agaaacaacg ggccggagta ttgtgggatg ttcttcacc cccacccatg	4560
ggaaaggctg aactggaaga tggagcctat agaattaagc aaaaagggat tcttgatat	4620
tcccagatcg gagccggagt ttacaaagaa ggaacattcc atacaatgtg gcatgtcaca	4680
cgtggcgctg ttctaattga taaaggaaaag aggattgaac catcatgggc ggacgtcaag	4740
aaagacctaa tatcataagg aggaggctgg aagttagaag gagaatggaa ggaaggagaa	4800
gaagtccagg tattggcact ggagcctgga aaaaaatcaa gagccgtcca aacgaaacct	4860
ggtcttttca aaaccaacgc cggaacaata ggtgctgtat ctctggactt ttctcctgga	4920
acgtcaggat ctccaattat cgacaaaaaa ggaaaagtgt tgggtcttta tggtaatggt	4980

gttgttaca ggagtggagc atatgtgagt gctatagccc agactgaaaa aagcattgaa	5040
gacaacccag agatcgaaga tgacattttc cgaaagagaa gactgaccat catggacctc	5100
cacccaggag cgggaaagac gaagagatac cttccggcca tagtcagaga agctataaaa	5160
cggggtttga gaacattaat cttggccccc actagagtgg tggcagctga aatggaggaa	5220
gcccttagag gacttccaat aagataccag accccagcca tcagagctgt gcacaccggg	5280
cgggagattg tggacctaat gtgtcatgcc acatttacca tgaggctgct atcaccagtt	5340
agagtgccaa actacaacct gattatcatg gacgaagccc atttcacaga cccagcaagt	5400
atagcagcta gaggatacat ctcaactcga gtggagatgg gtgaggcagc tgggattttt	5460
atgacagcca ctccccggg aagcagagac ccatttcctc agagcaatgc accaatcata	5520
gatgaagaaa gagaaatccc tgaacgctcg tggaattccg gacatgaatg ggtcacggat	5580
tttaaaggga agactgtttg gttcgttcca agtataaaag caggaaatga tatagcagct	5640
tgctgagga aaaatggaaa gaaagtata caactcagta ggaagacctt tgattctgag	5700
tatgtcaaga ctagaacaa tgattgggac ttcgtggta caactgacat ttcagaaatg	5760
ggtgccaat tcaaggtga gagggttata gacccagac gctgcatgaa accagtcata	5820
ctaacagatg gtgaagagcg ggtgattctg gcaggaccta tgccagtac cactctagt	5880
gcagcacaaa gaagaggag aataggaaga aatccaaaa atgagaatga ccagtacata	5940
tacatggggg aacctctgga aaatgatgaa gactgtgcac actggaaaga agctaaaatg	6000
ctcctagata acatcaacac gccagaagga atcattccta gcatgttcga accagagcgt	6060
gaaaagggtg atgccattga tggcgaatac cgtttgagag gagaagcaag gaaaaccttt	6120
gtagacttaa tgagaagagg agacctacca gtctgggttg cctacagagt ggcagctgaa	6180
ggcatcaact acgcagacag aaggtggtgt ttgatggag tcaagaacaa ccaaactcta	6240
gaagaaaacg tggaagtga aatctggaca aaagaagggg aaaggaagaa attgaaaccc	6300
agatgggttg atgctaggat ctattctgac ccactggcgc taaaagaatt taaggaattt	6360
gcagccggaa gaaagtctct gacctgaac ctaatcacag aaatgggtag gctccaacc	6420
ttcatgactc agaaggcaag agacgcactg gacaacttag cagtgtctga cacggctgag	6480
gcaggtggaa gggcgtacaa ccatgctctc agtgaactgc cggagaccct ggagacattg	6540
cttttactga cacttctggc tacagtcacg ggagggatct ttttattctt gatgagcgca	6600
aggggcatag ggaagatgac cctgggaatg tgctgcataa tcacggctag catcctccta	6660
tggtacgcac aaatacagcc aactggata gcagcttcaa taatactgga gttttttctc	6720

atagttttgc ttattccaga acctgaaaaa cagagaacac cccaagacaa ccaactgacc	6780
tacgttgtca tagccatcct cacagtgggtg gccgcaacca tggcaaacga gatgggtttc	6840
ctagaaaaaa cgaagaaaga tctcggattg ggaagcattg caaccagca acccgagagc	6900
aacatcctgg acatagatct acgtcctgca tcagcatgga cgctgtatgc cgtggccaca	6960
acatttgta caccaatgtt gagacatagc attgaaaatt cctcagtga tgtgtccta	7020
acagctatag ccaaccaagc cacagtgtta atgggtctcg ggaaaggatg gccattgtca	7080
aagatggaca tcggagtcc ctttctcgcc attggatgct actcacaagt caacccata	7140
actctcatag cagctctttt cttattggta gcacattatg ccatcatagg gccaggactc	7200
caagcaaaag caaccagaga agctcagaaa agagcagcgg cgggcatcat gaaaaacca	7260
actgtcgatg gaataacagt gattgacctt gatccaatac cttatgatcc gaagtttgaa	7320
aagcagttgg gacaagtaat gctcctagtc ctctgcgtga ctcaagtatt gatgatgagg	7380
actacatggg ctctgtgtga ggctttaacc ttagctaccg ggcccatctc cacattgtgg	7440
gaaggaaatc caggagagtt ttggaacact accattgcgg tgtcaatggc taacattttt	7500
agaggagatt acttggccgg agctggactt ctcttttcta ttatgaagaa cacaaccaac	7560
acaagaaggg gaactggcaa cataggagag acgcttggag agaaatggaa aagccgattg	7620
aacgcattgg gaaaaagtga attccagatc tacaagaaaa gtggaatcca ggaagtggat	7680
agaaccttag caaaagaagg cattaataaaga ggagaaacgg accatcacgc tgtgtcgca	7740
ggctcagcaa aactgagatg gtctgttgag agaaacatgg tcacaccaga agggaaagta	7800
gtggacctcg gttgtggcag aggaggttgg tcatactatt gtggaggact aaagaatgta	7860
agagaagtca aaggcctaac aaaaggagga ccaggacacg aagaacccat cccatgtca	7920
acatatgggt ggaatctagt gcgtcttcaa agtggagttg acgttttctt catcccgca	7980
gaaaagtgtg acacattatt gtgtgacata ggggagtcac caccaaattc cacagtggaa	8040
gcaggacgaa cactcagagt ccttaactta gtagaaaatt ggttgaacaa caacactcaa	8100
ttttgcataa aggtttctca cccatatatg ccttcagtca tagaaaaaat ggaagcacta	8160
caaaggaaat atggaggagc cttagtagg aatccactct cagaaactc cacacatgag	8220
atgtactggg tatccaatgc ttccgggaac atagtgtcat cagtgaacat gatttcaagg	8280
atgttgatca acagatttac aatgagatac aagaaagcca cttacgagcc ggatgttgac	8340
ctcggaagcg gaaccgtaa catcgggatt gaaagtgaga taccaaact agatataatt	8400
gggaaaagaa tagaaaaat aaagcaagag catgaaacat catggcacta tgaccaagac	8460
caccataca aaacgtgggc ataccatggt agctatgaaa caaaacagac tggatcagca	8520
tcatccatgg tcaacggagt ggtcaggctg ctgacaaaac cttgggacgt cgtcccatg	8580

gtgacacaga tggcaatgac agacacgact ccatttggac aacagcgcgt ttttaagag	8640
aaagtggaca cgagaaccca agaaccgaaa gaaggcacga agaaactaat gaaaataaca	8700
gcagagtggc tttggaaaga attaggggaag aaaaagacac ccaggatgtg caccagagaa	8760
gaattcacia gaaaggtgag aagcaatgca gccttggggg ccatattcac tgatgagaac	8820
aagtggaagt cggcacgtga ggctgttgaa gatagtaggt tttgggagct ggttgacaag	8880
gaaaggaatc tccatcttga aggaaagtgt gaaacatgtg tgtacaacat gatgggaaaa	8940
agagagaaga agctagggga attcggcaag gcaaaaggca gcagagccat atggtacatg	9000
tggcttggag cacgttctt agagtittga gccctaggat tcttaaatga agatcactgg	9060
ttctccagag agaactccct gagtggagtg gaaggagaag ggctgcacia gctaggttac	9120
attctaagag acgtgagcaa gaaagaggga ggagcaatgt atgccgatga caccgcagga	9180
tgggatacaa gaatcacact agaagaccta aaaaatgaag aatggtaac aaaccacatg	9240
gaaggagaac acaagaaact agccgaggcc attttcaaac taacgtacca aaacaaggtg	9300
gtgcgtgtgc aaagaccaac accaagaggc acagtaatgg acatcatac gagaagagac	9360
caaagaggta gtggacaagt tggcacctat ggactcaata cttcaccaa tatggaagcc	9420
caactaatca gacagatgga gggagaagga gtctttaaa gcattcagca ctaacaatc	9480
acagaagaaa tcgctgtgca aaactgggta gcaagagtgg ggcgcgaaag gttatcaaga	9540
atggccatca gtggagatga ttgtgtgtg aaacctttag atgacaggtt cgcaagcgt	9600
ttaacagctc taaatgacat gggaaagatt aggaaagaca tacaacaatg ggaaccttca	9660
agaggatgga atgattggac acaagtgcc tttgtttcac accatttcca tgagttaatc	9720
atgaaagacg gtgcgtact cgtttttcca tglagaaacc aagatgaact gattggcaga	9780
gcccgaatct cccaaggagc aggggtggtct ttgcgggaga cgccctgttt ggggaagtct	9840
tacgccccaa tgtggagctt gatgtacttc cacagacgag acctcaggtt ggcggcaaat	9900
gctatttctt cggcagtacc atcacattgg gtccaacaa gtcgaacaac ctggtccata	9960
catgctaaac atgaatggat gacaacggaa gacatgtga cagtctgga cagggtgtgg	10020
attcaagaaa acctatggat ggaagacaaa actccagtgg aatcatggga ggaaatccca	10080
tacttgggga aaagagaaga ccaatggtgc ggctcattga ttgggttaac aagcagggcc	10140
acctgggcaa agaacatcca agcagcaata aatcaagtta gatcccttat aggcaatgaa	10200
gaatacacag attacatgcc atccatgaaa agattcagaa gagaagagga agaagcagga	10260
gttctgtggt agaaagcaaa actaacatga aacaaggcta gaagtcaggt cggattaagc	10320
catagtacgg aaaaaactat gctacctgtg agccccgtcc aaggacgtta aaagaagtca	10380
ggccatcata aatgccatag cttgagtaaa ctatgcagcc ttagctcca cctgagaagg	10440

tgtaaaaaat ccgggaggcc acaaaccatg gaagctgtac gcatggcgta gtggactagc 10500

ggtttagagga gacctctccc ttacaaatcg cagcaacaat gggggcccaa ggcgagatga 10560

agctgtagtc tcgctggaag gactagaggt tagaggagac cccccgaaa caaaaaacag 10620

catattgacg ctgggaaaga ccagagatcc tgctgtctcc tcagcatcat tccaggcaca 10680

gaacgccaga aaatggaatg gtgctgttga atcaacaggt tct 10723

<210> 2

<211> 3391

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dengue virus serotype 1, BVS

<400> 2

Met Asn Asn Gln Arg Lys Lys Ala Lys Asn Thr Pro Phe Asn Met Leu

1	5	10	15
Lys Arg Glu Arg Asn Arg Val Ser Thr Val Gln Gln Leu Thr Lys Arg			
20	25	30	
Phe Ser Leu Gly Met Leu Gln Gly Arg Gly Pro Leu Lys Leu Phe Met			
35	40	45	
Ala Leu Val Ala Phe Leu Arg Phe Leu Thr Ile Pro Pro Thr Ala Gly			
50	55	60	
Ile Leu Lys Arg Trp Gly Thr Ile Lys Lys Ser Lys Ala Ile Asn Val			
65	70	75	80

Leu Arg Gly Phe Arg Lys Glu Ile Gly Arg Met Leu Asn Ile Leu Asn			
85	90	95	
Arg Arg Arg Arg Ser Ala Gly Met Ile Ile Met Leu Ile Pro Thr Val			
100	105	110	
Met Ala Phe His Leu Thr Thr Arg Gly Gly Glu Pro His Met Ile Val			
115	120	125	
Ser Lys Gln Glu Arg Gly Lys Ser Leu Leu Phe Lys Thr Ser Ala Gly			
130	135	140	
Val Asn Met Cys Thr Leu Ile Ala Met Asp Leu Gly Glu Leu Cys Glu			

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Asp Thr Met Thr Tyr Lys Cys Pro Arg Ile Thr Glu Ala Glu Pro Asp
 165 170 175
 Asp Val Asp Cys Trp Cys Asn Ala Thr Asp Thr Trp Val Thr Tyr Gly
 180 185 190
 Thr Cys Ser Gln Thr Gly Glu His Arg Arg Asp Lys Arg Ser Val Ala
 195 200 205
 Leu Ala Pro His Val Gly Leu Gly Leu Glu Thr Arg Ala Glu Thr Trp
 210 215 220

 Met Ser Ser Glu Gly Ala Trp Lys Gln Ile Gln Lys Val Glu Thr Trp
 225 230 235 240
 Ala Leu Arg His Pro Gly Phe Thr Val Ile Ala Leu Phe Leu Ala His
 245 250 255
 Ala Ile Gly Thr Ser Ile Thr Gln Lys Gly Ile Ile Phe Ile Leu Leu
 260 265 270
 Met Leu Val Thr Pro Ser Met Ala Met Arg Cys Val Gly Ile Gly Asn
 275 280 285
 Arg Asp Phe Val Glu Gly Leu Ser Gly Ala Thr Trp Val Asp Val Val

 290 295 300
 Leu Glu His Gly Ser Cys Val Thr Thr Met Ala Lys Asn Lys Pro Thr
 305 310 315 320
 Leu Asp Ile Glu Leu Leu Lys Thr Glu Val Thr Asn Pro Ala Val Leu
 325 330 335
 Arg Lys Leu Cys Ile Glu Ala Lys Ile Ser Asn Thr Thr Thr Asp Ser
 340 345 350
 Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Ala Thr Leu Val Glu Glu Gln Asp Ala
 355 360 365

 Asn Phe Val Cys Arg Arg Thr Phe Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly
 370 375 380
 Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Ser Leu Ile Thr Cys Ala Lys Phe Lys
 385 390 395 400
 Cys Val Thr Lys Leu Glu Gly Lys Ile Val Gln Tyr Glu Asn Leu Lys
 405 410 415

Tyr Ser Val Ile Val Thr Val His Thr Gly Asp Gln His Gln Val Gly
 420 425 430
 Asn Glu Thr Thr Glu His Gly Thr Thr Ala Thr Ile Thr Pro Gln Ala
 435 440 445
 Pro Thr Ser Glu Ile Gln Leu Thr Asp Tyr Gly Thr Leu Thr Leu Asp
 450 455 460
 Cys Ser Pro Arg Thr Gly Leu Asp Phe Asn Glu Met Val Leu Leu Thr
 465 470 475 480
 Met Lys Glu Arg Ser Trp Leu Val His Lys Gln Trp Phe Leu Asp Leu
 485 490 495
 Pro Leu Pro Trp Thr Ser Gly Ala Ser Thr Ser Gln Glu Thr Trp Asn
 500 505 510
 Arg Gln Asp Leu Leu Val Thr Phe Lys Thr Ala His Ala Lys Lys Gln
 515 520 525
 Glu Val Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Met His Thr Ala Leu
 530 535 540
 Thr Gly Ala Thr Glu Ile Gln Thr Ser Gly Thr Thr Thr Ile Phe Ala
 545 550 555 560
 Gly His Leu Lys Cys Arg Leu Lys Met Asp Lys Leu Thr Leu Lys Gly
 565 570 575
 Met Ser Tyr Val Met Cys Thr Gly Ser Phe Lys Leu Glu Lys Glu Val
 580 585 590
 Ala Glu Thr Gln His Gly Thr Val Leu Val Gln Val Lys Tyr Glu Gly
 595 600 605
 Thr Asp Ala Pro Cys Lys Ile Pro Phe Ser Thr Gln Asp Glu Lys Gly
 610 615 620
 Ala Thr Gln Asn Gly Arg Leu Ile Thr Ala Asn Pro Ile Val Thr Asp
 625 630 635 640
 Lys Glu Lys Pro Val Asn Ile Glu Ala Glu Pro Pro Phe Gly Glu Ser
 645 650 655
 Tyr Ile Val Val Gly Ala Gly Glu Lys Ala Leu Lys Leu Ser Trp Phe

660	665	670	
Lys Lys Gly Ser Ser Ile Gly Lys Met Phe Glu Ala Thr Ala Arg Gly			
675	680	685	
Ala Arg Arg Met Ala Ile Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser			
690	695	700	
Ile Gly Gly Val Phe Thr Ser Met Gly Lys Leu Val His Gln Val Phe			
705	710	715	720
Gly Thr Ala Tyr Gly Val Leu Phe Ser Gly Val Ser Trp Thr Met Lys			
725	730	735	
Ile Gly Ile Gly Ile Leu Leu Thr Trp Leu Gly Leu Asn Ser Arg Asn			
740	745	750	
Thr Ser Leu Ser Met Met Cys Ile Ala Ala Ala Ile Val Thr Leu Tyr			
755	760	765	
Leu Gly Val Met Val Gln Ala Asp Ser Gly Cys Val Val Ser Trp Lys			
770	775	780	
Asn Lys Glu Leu Lys Cys Gly Ser Gly Ile Phe Ile Thr Asp Asn Val			
785	790	795	800
His Thr Trp Thr Glu Gln Tyr Lys Phe Gln Pro Glu Ser Pro Ser Lys			
805	810	815	
Leu Ala Ser Ala Ile Gln Lys Ala His Glu Glu Asp Ile Cys Gly Ile			
820	825	830	
Arg Ser Val Thr Arg Leu Glu Asn Leu Met Trp Lys Gln Ile Thr Pro			
835	840	845	
Glu Leu Asn His Ile Leu Ser Glu Asn Glu Val Lys Leu Thr Ile Met			
850	855	860	
Thr Gly Asp Ile Lys Gly Ile Met Gln Ala Gly Lys Arg Ser Leu Arg			
865	870	875	880
Pro Gln Pro Thr Glu Leu Lys Tyr Ser Trp Lys Thr Trp Gly Lys Ala			
885	890	895	
Lys Met Leu Ser Thr Glu Ser His Asn Gln Thr Phe Leu Ile Asp Gly			
900	905	910	
Pro Glu Thr Ala Glu Cys Pro Asn Thr Asn Arg Ala Trp Asn Ser Leu			

915 920 925
 Glu Val Glu Asp Tyr Gly Phe Gly Val Phe Thr Thr Asn Ile Trp Leu
 930 935 940

 Lys Leu Lys Glu Lys Gln Asp Val Phe Cys Asp Ser Lys Leu Met Ser
 945 950 955 960
 Ala Ala Ile Lys Asp Asn Arg Ala Val His Ala Asp Met Gly Tyr Trp
 965 970 975
 Ile Glu Ser Ala Leu Asn Asp Thr Trp Lys Ile Glu Lys Ala Ser Phe
 980 985 990
 Ile Glu Val Lys Asn Cys His Trp Pro Lys Ser His Thr Leu Trp Ser
 995 1000 1005
 Asn Gly Val Leu Glu Ser Glu Met Ile Ile Pro Lys Asn Leu Ala Gly

 1010 1015 1020
 Pro Val Ser Gln His Asn Tyr Arg Pro Gly Tyr His Thr Gln Ile Thr
 1025 1030 1035 1040
 Gly Pro Trp His Leu Gly Lys Leu Glu Met Asp Phe Asp Phe Cys Asp
 1045 1050 1055
 Gly Thr Thr Val Val Val Thr Glu Asp Cys Gly Asn Arg Gly Pro Ser
 1060 1065 1070
 Leu Arg Thr Thr Thr Ala Ser Gly Lys Leu Ile Thr Glu Trp Cys Cys
 1075 1080 1085

 Arg Ser Cys Thr Leu Pro Pro Leu Arg Tyr Arg Gly Glu Asp Gly Cys
 1090 1095 1100
 Trp Tyr Gly Met Glu Ile Arg Pro Leu Lys Glu Lys Glu Glu Asn Leu
 1105 1110 1115 1120
 Val Asn Ser Leu Val Thr Ala Gly His Gly Gln Val Asp Asn Phe Ser
 1125 1130 1135
 Leu Gly Val Leu Gly Met Ala Leu Phe Leu Glu Glu Met Leu Arg Thr
 1140 1145 1150
 Arg Val Gly Thr Lys His Ala Ile Leu Leu Val Ala Val Ser Phe Val

 1155 1160 1165

Thr Leu Ile Thr Gly Asn Met Ser Phe Arg Asp Leu Gly Arg Val Met
 1170 1175 1180
 Val Met Val Gly Ala Thr Met Thr Asp Asp Ile Gly Met Gly Val Thr
 1185 1190 1195 1200
 Tyr Leu Ala Leu Leu Ala Ala Phe Lys Val Arg Pro Thr Phe Ala Ala
 1205 1210 1215
 Gly Leu Leu Leu Arg Lys Leu Thr Ser Lys Glu Leu Met Met Thr Thr
 1220 1225 1230

 Ile Gly Ile Val Leu Leu Ser Gln Ser Thr Leu Pro Glu Thr Ile Leu
 1235 1240 1245
 Glu Leu Thr Asp Ala Leu Ala Leu Gly Met Met Val Leu Lys Met Val
 1250 1255 1260
 Arg Asn Met Glu Lys Tyr Gln Leu Ala Val Thr Ile Met Ala Ile Leu
 1265 1270 1275 1280
 Cys Val Pro Asn Ala Val Ile Leu Gln Asn Ala Trp Lys Val Ser Cys
 1285 1290 1295
 Thr Ile Leu Ala Val Val Ser Val Ser Pro Leu Phe Leu Thr Ser Ser

 1300 1305 1310
 Gln Gln Lys Thr Asp Trp Ile Pro Leu Ala Leu Thr Ile Lys Gly Leu
 1315 1320 1325
 Asn Pro Thr Ala Ile Phe Leu Thr Thr Leu Ser Arg Thr Ser Lys Lys
 1330 1335 1340
 Arg Ser Trp Pro Leu Asn Glu Ala Ile Met Ala Val Gly Met Val Ser
 1345 1350 1355 1360
 Ile Leu Ala Ser Ser Leu Leu Lys Asn Asp Ile Pro Met Thr Gly Pro
 1365 1370 1375

 Leu Val Ala Gly Gly Leu Leu Thr Val Cys Tyr Val Leu Thr Gly Arg
 1380 1385 1390
 Ser Ala Asp Leu Glu Leu Glu Arg Ala Ala Asp Val Lys Trp Glu Asp
 1395 1400 1405
 Gln Ala Glu Ile Ser Gly Ser Ser Pro Ile Leu Ser Ile Thr Ile Ser
 1410 1415 1420

Glu Asp Gly Ser Met Ser Ile Lys Asn Glu Glu Glu Asp Gln Thr Leu
 1425 1430 1435 1440
 Thr Ile Leu Ile Arg Thr Gly Leu Leu Val Ile Ser Gly Leu Phe Pro

 1445 1450 1455
 Val Ser Ile Pro Ile Thr Ala Ala Ala Trp Tyr Leu Trp Glu Val Lys
 1460 1465 1470
 Lys Gln Arg Ala Gly Val Leu Trp Asp Val Pro Ser Pro Pro Pro Met
 1475 1480 1485
 Gly Lys Ala Glu Leu Glu Asp Gly Ala Tyr Arg Ile Lys Gln Lys Gly
 1490 1495 1500
 Ile Leu Gly Tyr Ser Gln Ile Gly Ala Gly Val Tyr Lys Glu Gly Thr
 1505 1510 1515 1520

 Phe His Thr Met Trp His Val Thr Arg Gly Ala Val Leu Met His Lys
 1525 1530 1535
 Gly Lys Arg Ile Glu Pro Ser Trp Ala Asp Val Lys Lys Asp Leu Ile
 1540 1545 1550
 Ser Tyr Gly Gly Gly Trp Lys Leu Glu Gly Glu Trp Lys Glu Gly Glu
 1555 1560 1565
 Glu Val Gln Val Leu Ala Leu Glu Pro Gly Lys Asn Pro Arg Ala Val
 1570 1575 1580
 Gln Thr Lys Pro Gly Leu Phe Lys Thr Asn Ala Gly Thr Ile Gly Ala

 1585 1590 1595 1600
 Val Ser Leu Asp Phe Ser Pro Gly Thr Ser Gly Ser Pro Ile Ile Asp
 1605 1610 1615
 Lys Lys Gly Lys Val Val Gly Leu Tyr Gly Asn Gly Val Val Thr Arg
 1620 1625 1630
 Ser Gly Ala Tyr Val Ser Ala Ile Ala Gln Thr Glu Lys Ser Ile Glu
 1635 1640 1645
 Asp Asn Pro Glu Ile Glu Asp Asp Ile Phe Arg Lys Arg Arg Leu Thr
 1650 1655 1660

 Ile Met Asp Leu His Pro Gly Ala Gly Lys Thr Lys Arg Tyr Leu Pro

1665 1670 1675 1680
 Ala Ile Val Arg Glu Ala Ile Lys Arg Gly Leu Arg Thr Leu Ile Leu
 1685 1690 1695
 Ala Pro Thr Arg Val Val Ala Ala Glu Met Glu Glu Ala Leu Arg Gly
 1700 1705 1710
 Leu Pro Ile Arg Tyr Gln Thr Pro Ala Ile Arg Ala Val His Thr Gly
 1715 1720 1725
 Arg Glu Ile Val Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Met Arg Leu

 1730 1735 1740
 Leu Ser Pro Val Arg Val Pro Asn Tyr Asn Leu Ile Ile Met Asp Glu
 1745 1750 1755 1760
 Ala His Phe Thr Asp Pro Ala Ser Ile Ala Ala Arg Gly Tyr Ile Ser
 1765 1770 1775
 Thr Arg Val Glu Met Gly Glu Ala Ala Gly Ile Phe Met Thr Ala Thr
 1780 1785 1790
 Pro Pro Gly Ser Arg Asp Pro Phe Pro Gln Ser Asn Ala Pro Ile Ile
 1795 1800 1805

 Asp Glu Glu Arg Glu Ile Pro Glu Arg Ser Trp Asn Ser Gly His Glu
 1810 1815 1820
 Trp Val Thr Asp Phe Lys Gly Lys Thr Val Trp Phe Val Pro Ser Ile
 1825 1830 1835 1840
 Lys Ala Gly Asn Asp Ile Ala Ala Cys Leu Arg Lys Asn Gly Lys Lys
 1845 1850 1855
 Val Ile Gln Leu Ser Arg Lys Thr Phe Asp Ser Glu Tyr Val Lys Thr
 1860 1865 1870
 Arg Thr Asn Asp Trp Asp Phe Val Val Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met

 1875 1880 1885
 Gly Ala Asn Phe Lys Ala Glu Arg Val Ile Asp Pro Arg Arg Cys Met
 1890 1895 1900
 Lys Pro Val Ile Leu Thr Asp Gly Glu Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly
 1905 1910 1915 1920
 Pro Met Pro Val Thr His Ser Ser Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Ile

1925	1930	1935	
Gly Arg Asn Pro Lys Asn Glu Asn Asp Gln Tyr Ile Tyr Met Gly Glu			
1940	1945	1950	
Pro Leu Glu Asn Asp Glu Asp Cys Ala His Trp Lys Glu Ala Lys Met			
1955	1960	1965	
Leu Leu Asp Asn Ile Asn Thr Pro Glu Gly Ile Ile Pro Ser Met Phe			
1970	1975	1980	
Glu Pro Glu Arg Glu Lys Val Asp Ala Ile Asp Gly Glu Tyr Arg Leu			
1985	1990	1995	2000
Arg Gly Glu Ala Arg Lys Thr Phe Val Asp Leu Met Arg Arg Gly Asp			
2005	2010	2015	
Leu Pro Val Trp Leu Ala Tyr Arg Val Ala Ala Glu Gly Ile Asn Tyr			
2020	2025	2030	
Ala Asp Arg Arg Trp Cys Phe Asp Gly Val Lys Asn Asn Gln Ile Leu			
2035	2040	2045	
Glu Glu Asn Val Glu Val Glu Ile Trp Thr Lys Glu Gly Glu Arg Lys			
2050	2055	2060	
Lys Leu Lys Pro Arg Trp Leu Asp Ala Arg Ile Tyr Ser Asp Pro Leu			
2065	2070	2075	2080
Ala Leu Lys Glu Phe Lys Glu Phe Ala Ala Gly Arg Lys Ser Leu Thr			
2085	2090	2095	
Leu Asn Leu Ile Thr Glu Met Gly Arg Leu Pro Thr Phe Met Thr Gln			
2100	2105	2110	
Lys Ala Arg Asp Ala Leu Asp Asn Leu Ala Val Leu His Thr Ala Glu			
2115	2120	2125	
Ala Gly Gly Arg Ala Tyr Asn His Ala Leu Ser Glu Leu Pro Glu Thr			
2130	2135	2140	
Leu Glu Thr Leu Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ala Thr Val Thr Gly Gly			
2145	2150	2155	2160
Ile Phe Leu Phe Leu Met Ser Ala Arg Gly Ile Gly Lys Met Thr Leu			
2165	2170	2175	

Gly Met Cys Cys Ile Ile Thr Ala Ser Ile Leu Leu Trp Tyr Ala Gln
2180 2185 2190

Ile Gln Pro His Trp Ile Ala Ala Ser Ile Ile Leu Glu Phe Phe Leu
2195 2200 2205

Ile Val Leu Leu Ile Pro Glu Pro Glu Lys Gln Arg Thr Pro Gln Asp
2210 2215 2220

Asn Gln Leu Thr Tyr Val Val Ile Ala Ile Leu Thr Val Val Ala Ala
2225 2230 2235 2240

Thr Met Ala Asn Glu Met Gly Phe Leu Glu Lys Thr Lys Lys Asp Leu
2245 2250 2255

Gly Leu Gly Ser Ile Ala Thr Gln Gln Pro Glu Ser Asn Ile Leu Asp
2260 2265 2270

Ile Asp Leu Arg Pro Ala Ser Ala Trp Thr Leu Tyr Ala Val Ala Thr
2275 2280 2285

Thr Phe Val Thr Pro Met Leu Arg His Ser Ile Glu Asn Ser Ser Val
2290 2295 2300

Asn Val Ser Leu Thr Ala Ile Ala Asn Gln Ala Thr Val Leu Met Gly
2305 2310 2315 2320

Leu Gly Lys Gly Trp Pro Leu Ser Lys Met Asp Ile Gly Val Pro Leu
2325 2330 2335

Leu Ala Ile Gly Cys Tyr Ser Gln Val Asn Pro Ile Thr Leu Ile Ala
2340 2345 2350

Ala Leu Phe Leu Leu Val Ala His Tyr Ala Ile Ile Gly Pro Gly Leu
2355 2360 2365

Gln Ala Lys Ala Thr Arg Glu Ala Gln Lys Arg Ala Ala Ala Gly Ile
2370 2375 2380

Met Lys Asn Pro Thr Val Asp Gly Ile Thr Val Ile Asp Leu Asp Pro
2385 2390 2395 2400

Ile Pro Tyr Asp Pro Lys Phe Glu Lys Gln Leu Gly Gln Val Met Leu
2405 2410 2415

Leu Val Leu Cys Val Thr Gln Val Leu Met Met Arg Thr Thr Trp Ala
2420 2425 2430

Leu Cys Glu Ala Leu Thr Leu Ala Thr Gly Pro Ile Ser Thr Leu Trp
 2435 2440 2445
 Glu Gly Asn Pro Gly Arg Phe Trp Asn Thr Thr Ile Ala Val Ser Met

 2450 2455 2460
 Ala Asn Ile Phe Arg Gly Ser Tyr Leu Ala Gly Ala Gly Leu Leu Phe
 2465 2470 2475 2480
 Ser Ile Met Lys Asn Thr Thr Asn Thr Arg Arg Gly Thr Gly Asn Ile
 2485 2490 2495
 Gly Glu Thr Leu Gly Glu Lys Trp Lys Ser Arg Leu Asn Ala Leu Gly
 2500 2505 2510
 Lys Ser Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Lys Ser Gly Ile Gln Glu Val Asp
 2515 2520 2525

 Arg Thr Leu Ala Lys Glu Gly Ile Lys Arg Gly Glu Thr Asp His His
 2530 2535 2540
 Ala Val Ser Arg Gly Ser Ala Lys Leu Arg Trp Phe Val Glu Arg Asn
 2545 2550 2555 2560
 Met Val Thr Pro Glu Gly Lys Val Val Asp Leu Gly Cys Gly Arg Gly
 2565 2570 2575
 Gly Trp Ser Tyr Tyr Cys Gly Gly Leu Lys Asn Val Arg Glu Val Lys
 2580 2585 2590
 Gly Leu Thr Lys Gly Gly Pro Gly His Glu Glu Pro Ile Pro Met Ser

 2595 2600 2605
 Thr Tyr Gly Trp Asn Leu Val Arg Leu Gln Ser Gly Val Asp Val Phe
 2610 2615 2620
 Phe Ile Pro Pro Glu Lys Cys Asp Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu
 2625 2630 2635 2640
 Ser Ser Pro Asn Pro Thr Val Glu Ala Gly Arg Thr Leu Arg Val Leu
 2645 2650 2655
 Asn Leu Val Glu Asn Trp Leu Asn Asn Asn Thr Gln Phe Cys Ile Lys
 2660 2665 2670

 Val Leu Asn Pro Tyr Met Pro Ser Val Ile Glu Lys Met Glu Ala Leu

2675 2680 2685
 Gln Arg Lys Tyr Gly Gly Ala Leu Val Arg Asn Pro Leu Ser Arg Asn
 2690 2695 2700
 Ser Thr His Glu Met Tyr Trp Val Ser Asn Ala Ser Gly Asn Ile Val
 2705 2710 2715 2720
 Ser Ser Val Asn Met Ile Ser Arg Met Leu Ile Asn Arg Phe Thr Met
 2725 2730 2735
 Arg Tyr Lys Lys Ala Thr Tyr Glu Pro Asp Val Asp Leu Gly Ser Gly

 2740 2745 2750
 Thr Arg Asn Ile Gly Ile Glu Ser Glu Ile Pro Asn Leu Asp Ile Ile
 2755 2760 2765
 Gly Lys Arg Ile Glu Lys Ile Lys Gln Glu His Glu Thr Ser Trp His
 2770 2775 2780
 Tyr Asp Gln Asp His Pro Tyr Lys Thr Trp Ala Tyr His Gly Ser Tyr
 2785 2790 2795 2800
 Glu Thr Lys Gln Thr Gly Ser Ala Ser Ser Met Val Asn Gly Val Val
 2805 2810 2815

 Arg Leu Leu Thr Lys Pro Trp Asp Val Val Pro Met Val Thr Gln Met
 2820 2825 2830
 Ala Met Thr Asp Thr Thr Pro Phe Gly Gln Gln Arg Val Phe Lys Glu
 2835 2840 2845
 Lys Val Asp Thr Arg Thr Gln Glu Pro Lys Glu Gly Thr Lys Lys Leu
 2850 2855 2860
 Met Lys Ile Thr Ala Glu Trp Leu Trp Lys Glu Leu Gly Lys Lys Lys
 2865 2870 2875 2880
 Thr Pro Arg Met Cys Thr Arg Glu Glu Phe Thr Arg Lys Val Arg Ser

 2885 2890 2895
 Asn Ala Ala Leu Gly Ala Ile Phe Thr Asp Glu Asn Lys Trp Lys Ser
 2900 2905 2910
 Ala Arg Glu Ala Val Glu Asp Ser Arg Phe Trp Glu Leu Val Asp Lys
 2915 2920 2925
 Glu Arg Asn Leu His Leu Glu Gly Lys Cys Glu Thr Cys Val Tyr Asn

2930 2935 2940
 Met Met Gly Lys Arg Glu Lys Lys Leu Gly Glu Phe Gly Lys Ala Lys
 2945 2950 2955 2960

 Gly Ser Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala Arg Phe Leu Glu
 2965 2970 2975
 Phe Glu Ala Leu Gly Phe Leu Asn Glu Asp His Trp Phe Ser Arg Glu
 2980 2985 2990
 Asn Ser Leu Ser Gly Val Glu Gly Glu Gly Leu His Lys Leu Gly Tyr
 2995 3000 3005
 Ile Leu Arg Asp Val Ser Lys Lys Glu Gly Gly Ala Met Tyr Ala Asp
 3010 3015 3020
 Asp Thr Ala Gly Trp Asp Thr Arg Ile Thr Leu Glu Asp Leu Lys Asn

 3025 3030 3035 3040
 Glu Glu Met Val Thr Asn His Met Glu Gly Glu His Lys Lys Leu Ala
 3045 3050 3055
 Glu Ala Ile Phe Lys Leu Thr Tyr Gln Asn Lys Val Val Arg Val Gln
 3060 3065 3070
 Arg Pro Thr Pro Arg Gly Thr Val Met Asp Ile Ile Ser Arg Arg Asp
 3075 3080 3085
 Gln Arg Gly Ser Gly Gln Val Gly Thr Tyr Gly Leu Asn Thr Phe Thr
 3090 3095 3100

 Asn Met Glu Ala Gln Leu Ile Arg Gln Met Glu Gly Glu Gly Val Phe
 3105 3110 3115 3120
 Lys Ser Ile Gln His Leu Thr Ile Thr Glu Glu Ile Ala Val Gln Asn
 3125 3130 3135
 Trp Leu Ala Arg Val Gly Arg Glu Arg Leu Ser Arg Met Ala Ile Ser
 3140 3145 3150
 Gly Asp Asp Cys Val Val Lys Pro Leu Asp Asp Arg Phe Ala Ser Ala
 3155 3160 3165
 Leu Thr Ala Leu Asn Asp Met Gly Lys Ile Arg Lys Asp Ile Gln Gln

 3170 3175 3180

Trp Glu Pro Ser Arg Gly Trp Asn Asp Trp Thr Gln Val Pro Phe Cys
 3185 3190 3195 3200
 Ser His His Phe His Glu Leu Ile Met Lys Asp Gly Arg Val Leu Val
 3205 3210 3215
 Val Pro Cys Arg Asn Gln Asp Glu Leu Ile Gly Arg Ala Arg Ile Ser
 3220 3225 3230
 Gln Gly Ala Gly Trp Ser Leu Arg Glu Thr Ala Cys Leu Gly Lys Ser
 3235 3240 3245

Tyr Ala Gln Met Trp Ser Leu Met Tyr Phe His Arg Arg Asp Leu Arg
 3250 3255 3260
 Leu Ala Ala Asn Ala Ile Cys Ser Ala Val Pro Ser His Trp Val Pro
 3265 3270 3275 3280
 Thr Ser Arg Thr Thr Trp Ser Ile His Ala Lys His Glu Trp Met Thr
 3285 3290 3295
 Thr Glu Asp Met Leu Thr Val Trp Asn Arg Val Trp Ile Gln Glu Asn
 3300 3305 3310
 Pro Trp Met Glu Asp Lys Thr Pro Val Glu Ser Trp Glu Glu Ile Pro

 3315 3320 3325
 Tyr Leu Gly Lys Arg Glu Asp Gln Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly Leu
 3330 3335 3340
 Thr Ser Arg Ala Thr Trp Ala Lys Asn Ile Gln Ala Ala Ile Asn Gln
 3345 3350 3355 3360
 Val Arg Ser Leu Ile Gly Asn Glu Glu Tyr Thr Asp Tyr Met Pro Ser
 3365 3370 3375
 Met Lys Arg Phe Arg Arg Glu Glu Glu Glu Ala Gly Val Leu Trp
 3380 3385 3390

<210> 3
 <211> 3391
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dengue virus serotype 1, MVS
 <400> 3

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

Ala Ile Gly Thr Ser Ile Thr Gln Lys Gly Ile Ile Phe Ile Leu Leu
260 265 270

Met Leu Val Thr Pro Ser Met Ala Met Arg Cys Val Gly Ile Gly Asn
275 280 285

Arg Asp Phe Val Glu Gly Leu Ser Gly Ala Thr Trp Val Asp Val Val
290 295 300

Leu Glu His Gly Ser Cys Val Thr Thr Met Ala Lys Asn Lys Pro Thr
305 310 315 320

Leu Asp Ile Glu Leu Leu Lys Thr Glu Val Thr Asn Pro Ala Val Leu
325 330 335

Arg Lys Leu Cys Ile Glu Ala Lys Ile Ser Asn Thr Thr Thr Asp Ser
340 345 350

Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Ala Thr Leu Val Glu Glu Gln Asp Ala
355 360 365

Asn Phe Val Cys Arg Arg Thr Phe Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly
370 375 380

Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Ser Leu Ile Thr Cys Ala Lys Phe Lys
385 390 395 400

Cys Val Thr Lys Leu Glu Gly Lys Ile Val Gln Tyr Glu Asn Leu Lys
405 410 415

Tyr Ser Val Ile Val Thr Val His Thr Gly Asp Gln His Gln Val Gly
420 425 430

Asn Glu Thr Thr Glu His Gly Thr Thr Ala Thr Ile Thr Pro Gln Ala
435 440 445

Pro Thr Ser Glu Ile Gln Leu Thr Asp Tyr Gly Thr Leu Thr Leu Asp
450 455 460

Cys Ser Pro Arg Thr Gly Leu Asp Phe Asn Glu Met Val Leu Leu Thr
465 470 475 480

Met Lys Glu Arg Ser Trp Leu Val His Lys Gln Trp Phe Leu Asp Leu
485 490 495

Pro Leu Pro Trp Thr Ser Gly Ala Ser Thr Ser Gln Glu Thr Trp Asn

500	505	510
Arg Gln Asp Leu Leu Val Thr Phe Lys Thr Ala His Ala Lys Lys Gln		
515	520	525
Glu Val Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Met His Thr Ala Leu		
530	535	540
Thr Gly Ala Thr Glu Ile Gln Thr Ser Gly Thr Thr Thr Ile Phe Ala		
545	550	555
		560
Gly His Leu Lys Cys Arg Leu Lys Met Asp Lys Leu Thr Leu Lys Gly		
565	570	575
Met Ser Tyr Val Met Cys Thr Gly Ser Phe Lys Leu Glu Lys Glu Val		
580	585	590
Ala Glu Thr Gln His Gly Thr Val Leu Val Gln Val Lys Tyr Glu Gly		
595	600	605
Thr Asp Ala Pro Cys Lys Ile Pro Phe Ser Thr Gln Asp Glu Lys Gly		
610	615	620
Ala Thr Gln Asn Gly Arg Leu Ile Thr Ala Asn Pro Ile Val Thr Asp		
625	630	635
Lys Glu Lys Pro Val Asn Ile Glu Ala Glu Pro Pro Phe Gly Glu Ser		640
645	650	655
Tyr Ile Val Val Gly Ala Gly Glu Lys Ala Leu Lys Leu Ser Trp Phe		
660	665	670
Lys Lys Gly Ser Ser Ile Gly Lys Met Phe Glu Ala Thr Ala Arg Gly		
675	680	685
Ala Arg Arg Met Ala Ile Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser		
690	695	700
Ile Gly Gly Val Phe Thr Ser Met Gly Lys Leu Val His Gln Val Phe		
705	710	715
Gly Thr Ala Tyr Gly Val Leu Phe Ser Gly Val Ser Trp Thr Met Lys		720
725	730	735
Ile Gly Ile Gly Ile Leu Leu Thr Trp Leu Gly Leu Asn Ser Arg Asn		
740	745	750
Thr Ser Leu Ser Met Met Cys Ile Ala Ala Gly Ile Val Thr Leu Tyr		

755 760 765
Leu Gly Val Met Val Gln Ala Asp Ser Gly Cys Val Val Ser Trp Lys

770 775 780
Asn Lys Glu Leu Lys Cys Gly Ser Gly Ile Phe Ile Thr Asp Asn Val
785 790 795 800

His Thr Trp Thr Glu Gln Tyr Lys Phe Gln Pro Glu Ser Pro Ser Lys
805 810 815

Leu Ala Ser Ala Ile Gln Lys Ala His Glu Glu Asp Ile Cys Gly Ile
820 825 830

Arg Ser Val Thr Arg Leu Glu Asn Leu Met Trp Lys Gln Ile Thr Pro
835 840 845

Glu Leu Asn His Ile Leu Ser Glu Asn Glu Val Lys Leu Thr Ile Met
850 855 860

Thr Gly Asp Ile Lys Gly Ile Met Gln Ala Gly Lys Arg Ser Leu Arg
865 870 875 880

Pro Gln Pro Thr Glu Leu Lys Tyr Ser Trp Lys Thr Trp Gly Lys Ala
885 890 895

Lys Met Leu Ser Thr Glu Ser His Asn Gln Thr Phe Leu Ile Asp Gly
900 905 910

Pro Glu Thr Ala Glu Cys Pro Asn Thr Asn Arg Ala Trp Asn Ser Leu

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

930 935 940
Lys Leu Lys Glu Lys Gln Asp Val Phe Cys Asp Ser Lys Leu Met Ser

945 950 955 960
Ala Ala Ile Lys Asp Asn Arg Ala Val His Ala Asp Met Gly Tyr Trp

965 970 975
Ile Glu Ser Ala Leu Asn Asp Thr Trp Lys Ile Glu Lys Ala Ser Phe

980 985 990

Ile Glu Val Lys Asn Cys His Trp Pro Lys Ser His Thr Leu Trp Ser
995 1000 1005

Asn Gly Val Leu Glu Ser Glu Met Ile Ile Pro Lys Asn Leu Ala Gly
 1010 1015 1020
 Pro Val Ser Gln His Asn Tyr Arg Pro Gly Tyr His Thr Gln Ile Thr
 1025 1030 1035 1040
 Gly Pro Trp His Leu Gly Lys Leu Glu Met Asp Phe Asp Phe Cys Asp
 1045 1050 1055
 Gly Thr Thr Val Val Val Thr Glu Asp Cys Gly Asn Arg Gly Pro Ser
 1060 1065 1070
 Leu Arg Thr Thr Thr Ala Ser Gly Lys Leu Ile Thr Glu Trp Cys Cys
 1075 1080 1085
 Arg Ser Cys Thr Leu Pro Pro Leu Arg Tyr Arg Gly Glu Asp Gly Cys
 1090 1095 1100
 Trp Tyr Gly Met Glu Ile Arg Pro Leu Lys Glu Lys Glu Glu Asn Leu
 1105 1110 1115 1120
 Val Asn Ser Leu Val Thr Ala Gly His Gly Gln Val Asp Asn Phe Ser
 1125 1130 1135
 Leu Gly Val Leu Gly Met Ala Leu Phe Leu Glu Glu Met Leu Arg Thr
 1140 1145 1150
 Arg Val Gly Thr Lys His Ala Ile Leu Leu Val Ala Val Ser Phe Val
 1155 1160 1165
 Thr Leu Ile Thr Gly Asn Met Ser Phe Arg Asp Leu Gly Arg Val Met
 1170 1175 1180
 Val Met Val Gly Ala Thr Met Thr Asp Asp Ile Gly Met Gly Val Thr
 1185 1190 1195 1200
 Tyr Leu Ala Leu Leu Ala Ala Phe Lys Val Arg Pro Thr Phe Ala Ala
 1205 1210 1215
 Gly Leu Leu Leu Arg Lys Leu Thr Ser Lys Glu Leu Met Met Thr Thr
 1220 1225 1230
 Ile Gly Ile Val Leu Leu Ser Gln Ser Thr Leu Pro Glu Thr Ile Leu
 1235 1240 1245
 Glu Leu Thr Asp Ala Leu Ala Leu Gly Met Met Val Leu Lys Met Val
 1250 1255 1260

Arg Asn Met Glu Lys Tyr Gln Leu Ala Val Thr Ile Met Ala Ile Leu

1265 1270 1275 1280

Cys Val Pro Asn Ala Val Ile Leu Gln Asn Ala Trp Lys Val Ser Cys

1285 1290 1295

Thr Ile Leu Ala Val Val Ser Val Ser Pro Leu Phe Leu Thr Ser Ser

1300 1305 1310

Gln Gln Lys Thr Asp Trp Ile Pro Leu Ala Leu Thr Ile Lys Gly Leu

1315 1320 1325

Asn Pro Thr Ala Ile Phe Leu Thr Thr Leu Ser Arg Thr Ser Lys Lys

1330 1335 1340

Arg Ser Trp Pro Leu Asn Glu Ala Ile Met Ala Val Gly Met Val Ser

1345 1350 1355 1360

Ile Leu Ala Ser Ser Leu Leu Lys Asn Asp Ile Pro Met Thr Gly Pro

1365 1370 1375

Leu Val Ala Gly Gly Leu Leu Thr Val Cys Tyr Val Leu Thr Gly Arg

1380 1385 1390

Ser Ala Asp Leu Glu Leu Glu Arg Ala Ala Asp Val Lys Trp Glu Asp

1395 1400 1405

Gln Ala Glu Ile Ser Gly Ser Ser Pro Ile Leu Ser Ile Thr Ile Ser

1410 1415 1420

Glu Asp Gly Ser Met Ser Ile Lys Asn Glu Glu Glu Asp Gln Thr Leu

1425 1430 1435 1440

Thr Ile Leu Ile Arg Thr Gly Leu Leu Val Ile Ser Gly Leu Phe Pro

1445 1450 1455

Val Ser Ile Pro Ile Thr Ala Ala Ala Trp Tyr Leu Trp Glu Val Lys

1460 1465 1470

Lys Gln Arg Ala Gly Val Leu Trp Asp Val Pro Ser Pro Pro Pro Met

1475 1480 1485

Gly Lys Ala Glu Leu Glu Asp Gly Ala Tyr Arg Ile Lys Gln Lys Gly

1490 1495 1500

Ile Leu Gly Tyr Ser Gln Ile Gly Ala Gly Val Tyr Lys Glu Gly Thr

1505 1510 1515 1520
 Phe His Thr Met Trp His Val Thr Arg Gly Ala Val Leu Met His Lys
 1525 1530 1535
 Gly Lys Arg Ile Glu Pro Ser Trp Ala Asp Val Lys Lys Asp Leu Ile
 1540 1545 1550
 Ser Tyr Gly Gly Gly Trp Lys Leu Glu Gly Glu Trp Lys Glu Gly Glu
 1555 1560 1565

 Glu Val Gln Val Leu Ala Leu Glu Pro Gly Lys Asn Pro Arg Ala Val
 1570 1575 1580
 Gln Thr Lys Pro Gly Leu Phe Lys Thr Asn Ala Gly Thr Ile Gly Ala
 1585 1590 1595 1600
 Val Ser Leu Asp Phe Ser Pro Gly Thr Ser Gly Ser Pro Ile Ile Asp
 1605 1610 1615
 Lys Lys Gly Lys Val Val Gly Leu Tyr Gly Asn Gly Val Val Thr Arg
 1620 1625 1630
 Ser Gly Ala Tyr Val Ser Ala Ile Ala Gln Thr Glu Lys Ser Ile Glu

 1635 1640 1645
 Asp Asn Pro Glu Ile Glu Asp Asp Ile Phe Arg Lys Arg Arg Leu Thr
 1650 1655 1660
 Ile Met Asp Leu His Pro Gly Ala Gly Lys Thr Lys Arg Tyr Leu Pro
 1665 1670 1675 1680
 Ala Ile Val Arg Glu Ala Ile Lys Arg Gly Leu Arg Thr Leu Ile Leu
 1685 1690 1695
 Ala Pro Thr Arg Val Val Ala Ala Glu Met Glu Glu Ala Leu Arg Gly
 1700 1705 1710

 Leu Pro Ile Arg Tyr Gln Thr Pro Ala Ile Arg Ala Val His Thr Gly
 1715 1720 1725
 Arg Glu Ile Val Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Met Arg Leu
 1730 1735 1740
 Leu Ser Pro Val Arg Val Pro Asn Tyr Asn Leu Ile Ile Met Asp Glu
 1745 1750 1755 1760
 Ala His Phe Thr Asp Pro Ala Ser Ile Ala Ala Arg Gly Tyr Ile Ser

1765 1770 1775
Thr Arg Val Glu Met Gly Glu Ala Ala Gly Ile Phe Met Thr Ala Thr

1780 1785 1790
Pro Pro Gly Ser Arg Asp Pro Phe Pro Gln Ser Asn Ala Pro Ile Ile

1795 1800 1805
Asp Glu Glu Arg Glu Ile Pro Glu Arg Ser Trp Asn Ser Gly His Glu

1810 1815 1820
Trp Val Thr Asp Phe Lys Gly Lys Thr Val Trp Phe Val Pro Ser Ile

1825 1830 1835 1840
Lys Ala Gly Asn Asp Ile Ala Ala Cys Leu Arg Lys Asn Gly Lys Lys

1845 1850 1855

Val Ile Gln Leu Ser Arg Lys Thr Phe Asp Ser Glu Tyr Val Lys Thr

1860 1865 1870

Arg Thr Asn Asp Trp Asp Phe Val Val Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met

1875 1880 1885

Gly Ala Asn Phe Lys Ala Glu Arg Val Ile Asp Pro Arg Arg Cys Met

1890 1895 1900

Lys Pro Val Ile Leu Thr Asp Gly Glu Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly

1905 1910 1915 1920

Pro Met Pro Val Thr His Ser Ser Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Ile

1925 1930 1935

Gly Arg Asn Pro Lys Asn Glu Asn Asp Gln Tyr Ile Tyr Met Gly Glu

1940 1945 1950

Pro Leu Glu Asn Asp Glu Asp Cys Ala His Trp Lys Glu Ala Lys Met

1955 1960 1965

Leu Leu Asp Asn Ile Asn Thr Pro Glu Gly Ile Ile Pro Ser Met Phe

1970 1975 1980

Glu Pro Glu Arg Glu Lys Val Asp Ala Ile Asp Gly Glu Tyr Arg Leu

1985 1990 1995 2000

Arg Gly Glu Ala Arg Lys Thr Phe Val Asp Leu Met Arg Arg Gly Asp

2005 2010 2015

Leu Pro Val Trp Leu Ala Tyr Arg Val Ala Ala Glu Gly Ile Asn Tyr
 2020 2025 2030
 Ala Asp Arg Arg Trp Cys Phe Asp Gly Val Lys Asn Asn Gln Ile Leu
 2035 2040 2045
 Glu Glu Asn Val Glu Val Glu Ile Trp Thr Lys Glu Gly Glu Arg Lys
 2050 2055 2060
 Lys Leu Lys Pro Arg Trp Leu Asp Ala Arg Ile Tyr Ser Asp Pro Leu

 2065 2070 2075 2080
 Ala Leu Lys Glu Phe Lys Glu Phe Ala Ala Gly Arg Lys Ser Leu Thr
 2085 2090 2095
 Leu Asn Leu Ile Thr Glu Met Gly Arg Leu Pro Thr Phe Met Thr Gln
 2100 2105 2110
 Lys Ala Arg Asp Ala Leu Asp Asn Leu Ala Val Leu His Thr Ala Glu
 2115 2120 2125
 Ala Gly Gly Arg Ala Tyr Asn His Ala Leu Ser Glu Leu Pro Glu Thr
 2130 2135 2140

 Leu Glu Thr Leu Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ala Thr Val Thr Gly Gly
 2145 2150 2155 2160
 Ile Phe Leu Phe Leu Met Ser Ala Arg Gly Ile Gly Lys Met Thr Leu
 2165 2170 2175
 Gly Met Cys Cys Ile Ile Thr Ala Ser Ile Leu Leu Trp Tyr Ala Gln
 2180 2185 2190
 Ile Gln Pro His Trp Ile Ala Ala Ser Ile Ile Leu Glu Phe Phe Leu
 2195 2200 2205
 Ile Val Leu Leu Ile Pro Glu Pro Glu Lys Gln Arg Thr Pro Gln Asp

 2210 2215 2220
 Asn Gln Leu Thr Tyr Val Val Ile Ala Ile Leu Thr Val Val Ala Ala
 2225 2230 2235 2240
 Thr Met Ala Asn Glu Met Gly Phe Leu Glu Lys Thr Lys Lys Asp Leu
 2245 2250 2255
 Gly Leu Gly Ser Ile Ala Thr Gln Gln Pro Glu Ser Asn Ile Leu Asp
 2260 2265 2270

Ile Asp Leu Arg Pro Ala Ser Ala Trp Thr Leu Tyr Ala Val Ala Thr

2275

2280

2285

Thr Phe Val Thr Pro Met Leu Arg His Ser Ile Glu Asn Ser Ser Val

2290

2295

2300

Asn Val Ser Leu Thr Ala Ile Ala Asn Gln Ala Thr Val Leu Met Gly

2305

2310

2315

2320

Leu Gly Lys Gly Trp Pro Leu Ser Lys Met Asp Ile Gly Val Pro Leu

2325

2330

2335

Leu Ala Ile Gly Cys Tyr Ser Gln Val Asn Pro Ile Thr Leu Thr Ala

2340

2345

2350

Ala Leu Phe Leu Leu Val Ala His Tyr Ala Ile Ile Gly Pro Gly Leu

2355

2360

2365

Gln Ala Lys Ala Thr Arg Glu Ala Gln Lys Arg Ala Ala Ala Gly Ile

2370

2375

2380

Met Lys Asn Pro Thr Val Asp Gly Ile Thr Val Ile Asp Leu Asp Pro

2385

2390

2395

2400

Ile Pro Tyr Asp Pro Lys Phe Glu Lys Gln Leu Gly Gln Val Met Leu

2405

2410

2415

Leu Val Leu Cys Val Thr Gln Val Leu Met Met Arg Thr Thr Trp Ala

2420

2425

2430

Leu Cys Glu Ala Leu Thr Leu Ala Thr Gly Pro Ile Ser Thr Leu Trp

2435

2440

2445

Glu Gly Asn Pro Gly Arg Phe Trp Asn Thr Thr Ile Ala Val Ser Met

2450

2455

2460

Ala Asn Ile Phe Arg Gly Ser Tyr Leu Ala Gly Ala Gly Leu Leu Phe

2465

2470

2475

2480

Ser Ile Met Lys Asn Thr Thr Asn Thr Arg Arg Gly Thr Gly Asn Ile

2485

2490

2495

Gly Glu Thr Leu Gly Glu Lys Trp Lys Ser Arg Leu Asn Ala Leu Gly

2500

2505

2510

Lys Ser Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Lys Ser Gly Ile Gln Glu Val Asp

2515 2520 2525
 Arg Thr Leu Ala Lys Glu Gly Ile Lys Arg Gly Glu Thr Asp His His
 2530 2535 2540
 Ala Val Ser Arg Gly Ser Ala Lys Leu Arg Trp Phe Val Glu Arg Asn
 2545 2550 2555 2560
 Met Val Thr Pro Glu Gly Lys Val Val Asp Leu Gly Cys Gly Arg Gly
 2565 2570 2575

 Gly Trp Ser Tyr Tyr Cys Gly Gly Leu Lys Asn Val Arg Glu Val Lys
 2580 2585 2590
 Gly Leu Thr Lys Gly Gly Pro Gly His Glu Glu Pro Ile Pro Met Ser
 2595 2600 2605
 Thr Tyr Gly Trp Asn Leu Val Arg Leu Gln Ser Gly Val Asp Val Phe
 2610 2615 2620
 Phe Ile Pro Pro Glu Lys Cys Asp Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu
 2625 2630 2635 2640
 Ser Ser Pro Asn Pro Thr Val Glu Ala Gly Arg Thr Leu Arg Val Leu

 2645 2650 2655
 Asn Leu Val Glu Asn Trp Leu Asn Asn Asn Thr Gln Phe Cys Ile Lys
 2660 2665 2670
 Val Leu Asn Pro Tyr Met Pro Ser Val Ile Glu Lys Met Glu Ala Leu
 2675 2680 2685
 Gln Arg Lys Tyr Gly Gly Ala Leu Val Arg Asn Pro Leu Ser Arg Asn
 2690 2695 2700
 Ser Thr His Glu Met Tyr Trp Val Ser Asn Ala Ser Gly Asn Ile Val
 2705 2710 2715 2720

 Ser Ser Val Asn Met Ile Ser Arg Met Leu Ile Asn Arg Phe Thr Met
 2725 2730 2735
 Arg Tyr Lys Lys Ala Thr Tyr Glu Pro Asp Val Asp Leu Gly Ser Gly
 2740 2745 2750
 Thr Arg Asn Ile Gly Ile Glu Ser Glu Ile Pro Asn Leu Asp Ile Ile
 2755 2760 2765
 Gly Lys Arg Ile Glu Lys Ile Lys Gln Glu His Glu Thr Ser Trp His

2770 2775 2780
 Tyr Asp Gln Asp His Pro Tyr Lys Thr Trp Ala Tyr His Gly Ser Tyr

 2785 2790 2795 2800
 Glu Thr Lys Gln Thr Gly Ser Ala Ser Ser Met Val Asn Gly Val Val
 2805 2810 2815
 Arg Leu Leu Thr Lys Pro Trp Asp Val Val Pro Met Val Thr Gln Met
 2820 2825 2830
 Ala Met Thr Asp Thr Thr Pro Phe Gly Gln Gln Arg Val Phe Lys Glu
 2835 2840 2845
 Lys Val Asp Thr Arg Thr Gln Glu Pro Lys Glu Gly Thr Lys Lys Leu
 2850 2855 2860

 Met Lys Ile Thr Ala Glu Trp Leu Trp Lys Glu Leu Gly Lys Lys Lys
 2865 2870 2875 2880
 Thr Pro Arg Met Cys Thr Arg Glu Glu Phe Thr Arg Lys Val Arg Ser
 2885 2890 2895
 Asn Ala Ala Leu Gly Ala Ile Phe Thr Asp Glu Asn Lys Trp Lys Ser
 2900 2905 2910
 Ala Arg Glu Ala Val Glu Asp Ser Arg Phe Trp Glu Leu Val Asp Lys
 2915 2920 2925
 Glu Arg Asn Leu His Leu Glu Gly Lys Cys Glu Thr Cys Val Tyr Asn

 2930 2935 2940
 Met Met Gly Lys Arg Glu Lys Lys Leu Gly Glu Phe Gly Lys Ala Lys
 2945 2950 2955 2960
 Gly Ser Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala Arg Phe Leu Glu
 2965 2970 2975
 Phe Glu Ala Leu Gly Phe Leu Asn Glu Asp His Trp Phe Ser Arg Glu
 2980 2985 2990
 Asn Ser Leu Ser Gly Val Glu Gly Glu Gly Leu His Lys Leu Gly Tyr
 2995 3000 3005

 Ile Leu Arg Asp Val Ser Lys Lys Glu Gly Gly Ala Met Tyr Ala Asp
 3010 3015 3020

Asp Thr Ala Gly Trp Asp Thr Arg Ile Thr Leu Glu Asp Leu Lys Asn
 3025 3030 3035 3040
 Glu Glu Met Val Thr Asn His Met Glu Gly Glu His Lys Lys Leu Ala
 3045 3050 3055
 Glu Ala Ile Phe Lys Leu Thr Tyr Gln Asn Lys Val Val Arg Val Gln
 3060 3065 3070
 Arg Pro Thr Pro Arg Gly Thr Val Met Asp Ile Ile Ser Arg Arg Asp

 3075 3080 3085
 Gln Arg Gly Ser Gly Gln Val Gly Thr Tyr Gly Leu Asn Thr Phe Thr
 3090 3095 3100
 Asn Met Glu Ala Gln Leu Ile Arg Gln Met Glu Gly Glu Gly Val Phe
 3105 3110 3115 3120
 Lys Ser Ile Gln His Leu Thr Ile Thr Glu Glu Ile Ala Val Gln Asn
 3125 3130 3135
 Trp Leu Ala Arg Val Gly Arg Glu Arg Leu Ser Arg Met Ala Ile Ser
 3140 3145 3150

 Gly Asp Asp Cys Val Val Lys Pro Leu Asp Asp Arg Phe Ala Ser Ala
 3155 3160 3165
 Leu Thr Ala Leu Asn Asp Met Gly Lys Ile Arg Lys Asp Ile Gln Gln
 3170 3175 3180
 Trp Glu Pro Ser Arg Gly Trp Asn Asp Trp Thr Gln Val Pro Phe Cys
 3185 3190 3195 3200
 Ser His His Phe His Glu Leu Ile Met Lys Asp Gly Arg Val Leu Val
 3205 3210 3215
 Val Pro Cys Arg Asn Gln Asp Glu Leu Ile Gly Arg Ala Arg Ile Ser

 3220 3225 3230
 Gln Gly Ala Gly Trp Ser Leu Arg Glu Thr Ala Cys Leu Gly Lys Ser
 3235 3240 3245
 Tyr Ala Gln Met Trp Ser Leu Met Tyr Phe His Arg Arg Asp Leu Arg
 3250 3255 3260
 Leu Ala Ala Asn Ala Ile Cys Ser Ala Val Pro Ser His Trp Val Pro
 3265 3270 3275 3280

Thr Ser Arg Thr Thr Trp Ser Ile His Ala Lys His Glu Trp Met Thr

3285 3290 3295

Thr Glu Asp Met Leu Thr Val Trp Asn Arg Val Trp Ile Gln Glu Asn

3300 3305 3310

Pro Trp Met Glu Asp Lys Thr Pro Val Glu Ser Trp Glu Glu Ile Pro

3315 3320 3325

Tyr Leu Gly Lys Arg Glu Asp Gln Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly Leu

3330 3335 3340

Thr Ser Arg Ala Thr Trp Ala Lys Asn Ile Gln Ala Ala Ile Asn Gln

3345 3350 3355 3360

Val Arg Ser Leu Ile Gly Asn Glu Glu Tyr Thr Asp Tyr Met Pro Ser

3365 3370 3375

Met Lys Arg Phe Arg Arg Glu Glu Glu Glu Ala Gly Val Leu Trp

3380 3385 3390

<210> 4

<211> 10723

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dengue virus serotype 2, BVS

<400> 4

agttgttagt ctacgtggac cgacaaagac agattctttg agggagctaa gctcaatgta 60

gttctaacag ttttttaatt agagagcaga tctctgatga ataaccaacg gaaaaaggcg 120

aaaaacacgc ctttcaatat gctgaaacgc gagagaaacc gcgtgtcgac tgtgcaacag 180

ctgacaaaga gattctcact tggaatgctg caggacgag gaccattaaa actgttcattg 240

gccctgggtg cggtccttcg tttcctaaca atcccacaa cagcagggat attgaagaga 300

tggggaacaa ttaaaaaatc aaaagctatt aatgttttga gagggttcag gaaagagatt 360

ggaaggatgc tgaacatctt gaataggaga cgcagatctg caggcatgat cattatgctg 420

attccaacag tgatggcggt ccatthaacc acacgtaacg gagaaccaca catgatcgtc 480

agcagacaag agaaaggga aagtcttctg tttaaaacag aggttggcgt gaacatgtgt 540

accctcatgg ccatggacct tggatgaattg tgtgaagaca caatcacgta cgagtgtccc 600

cttctcaggc agaattagacc agaagacata gactgttggt gcaactctac gtccacgtgg 660

gtaacttatg ggacgtgtac caccatggga gaacatagaa gagaaaaaag atcagtggca	720
ctcgtttccac atgtgggaat gggactggag acacgaactg aaacatggat gtcacagaa	780
ggggcctgga aacatgtcca gagaattgaa acttggatct tgagacatcc aggccttcacc	840
atgatggcag caatcctggc atacaccata ggaacgacac atttccaaag agccctgatc	900
ttcatcttac tgacagctgt cactccttca atgacaatgc gttgcatagg aatgtcaaat	960
agagactttg tggaaggggt ttcaggagga agctgggttg acatagtctt agaacatgga	1020
agctgtgtga cgacgatggc aaaaaacaaa ccaacattgg attttgaact gataaaaaca	1080
gaagccaaac agcctgccac cctaaggaag tactgtatag aggcaaagct aaccaacaca	1140
acaacagaat ctgctgccc aacacaaggg gaaccagcc taaatgaaga gcaggacaaa	1200
aggttcgtct gcaaacactc catggtagac agaggatggg gaaatggatg tggactattt	1260
ggaaagggag gcattgtgac ctgtgctatg ttcagatgca aaaagaacat ggaaggaaaa	1320
gttgtgcaac cagaaaaactt ggaatacacc atttgtataa cacctcactc aggggaagag	1380
catgcagtcg gaaatgacac aggaaaacat ggcaaggaaa tcaaaataac accacagagt	1440
tccatcacag aagcagaatt gacaggttat ggcaactgtca caatggagtg ctctccaaga	1500
acgggcctcg acttcaatga gatggtgttg ctgcagatgg aaataaagc ttggctggtg	1560
cacaggcaat ggttctaga cctgccgtta ccatggttgc ccggagcgga cacacaaggg	1620
tcaaattgga tacagaaaga gacattggtc actttcaaaa atcccatgc gaagaaacag	1680
gatgttgttg ttttaggatc ccaagaaggg gccatgcaca cagcacttac aggggccaca	1740
gaaatccaaa tgtcatcagg aaacttactc ttcacaggac atctcaagtg caggctgaga	1800
atggacaagc tacagctcaa aggaatgtca tactctatgt gcacaggaaa gtttaaagtt	1860
gtgaaggaaa tagcagaac acaacatgga acaatagtta tcagagtgca atatgaaggg	1920
gacggctctc catgcaagat cccttttgag ataatggatt tggaaaaaag acatgtctta	1980
ggtgcctga ttacagtcaa cccaattgtg acagaaaaag atagcccagt caacatagaa	2040
gcagaacctc catttgaga cagctacatc atcataggag tagagccggg acaactgaag	2100
ctcaactggt ttaagaaagg aagttctatc ggccaaatgt ttgagacaac aatgaggggg	2160
gcgaagagaa tggccatttt aggtgacaca gcctgggatt ttggatcctt gggaggagtg	2220
tttacatcta taggaaagcg tctccacaa gtctttggag caatctatgg agctgccttc	2280
agtggggttt catggactat gaaaatcctc ataggagtca ttatcacatg gataggaatg	2340
aattcacgca gcacctcact gtctgtgaca ctagtattgg tgggaattgt gacactgtat	2400
ttgggagtca tgggtgcaggc cgatagtggg tgcgttgtga gctggaaaaa caaagaactg	2460
aaatgtggca gtgggatttt catcacagac aacgtgcaca catggacaga acaatacaag	2520

ttccaaccag aatcccccttc aaaactagct tcagctatcc agaaagccca tgaagaggac	2580
atttgtgtaa tccgctcagt aacaagactg gagaatctga tgtggaaaca aataacacca	2640
gaattgaatc acattctatc agaaaaatgag gtgaagttaa ctattatgac aggagacatc	2700
aaaggaatca tgcaggcagg aaaacgatct ctgcggcctc agcccactga gctgaagtat	2760
tcatggaaaa catgggggcaa agcaaaaatg ctctctacag agtctcataa ccagaccttt	2820
ctcattgatg gccccgaaac agcagaatgc cccaacacaa atagagcttg gaattcgttg	2880
gaagttgaag actatggctt tggagtattc accaccaata tatggctaaa attgaaagaa	2940
aaacaggatg tattctgcga ctcaaaactc atgtcagcgg ccataaaaaga caacagagcc	3000
gtccatgccg atatgggtta ttggatagaa agtgcactca atgacacatg gaagatagag	3060
aaagcctctt tcattgaagt taaaaactgc cactggccaa aatcacacac cctctggagc	3120
aatggagtgc tagaaagtga gatgataatt ccaaagaatc tcgctggacc agtgtctcaa	3180
cacaactata gaccaggcta ccatacacia ataacaggac catggcatct aggttaagctt	3240
gagatggact ttgatttctg tgatggaaca acagtggtag tgactgagga ctgcggaaat	3300
agaggacctt ctttgagaac aaccactgcc tctggaaaac tcataacaga atggtgctgc	3360
cgatcttgca cattaccacc gctaagatac agaggtgagg atgggtgctg gtacgggatg	3420
gaaatcagac cattgaagga gaaagaagag aatttggtca actccttggt cacagctgga	3480
catgggcagg tcgacaactt ttcactagga gtcttgggaa tggcattgtt cctggaggaa	3540
atgcttagga cccgagtagg aacgaaacat gcaatactac tagttgcagt ttcttttgtg	3600
acattgatca cagggaaacat gtccctttaga gacctgggaa gagtgatggt tatggtaggc	3660
gccactatga cggatgacat aggtatgggc gtgacttattc ttgccctact agcagccttc	3720
aaagtcagac caacttttgc agctggacta ctcttagaaa agctgacctc caaggaattg	3780
atgatgacta ctataggaat tgtactcctc tcccagagca ccataccaga gaccattctt	3840
gagttgactg atgcgttagc cttaggcatg atggtcctca aaatggtgag aaatatggaa	3900
aagtatcaat tggcagtgac tatcatggct atcttgtgcg tcccaaacgc agtgatatta	3960
caaaacgcat ggaaagtgag ttgcacaata ttggcagtgg tgtccgtttc cccactgttc	4020
ttaacatcct cacagcaaaa aacagattgg ataccattag cattgacgat caaaggtctc	4080
aatccaacag ctatttttct aacaacctc tcaagaacca gcaagaaaag gagctggcca	4140
ttaaagtagg ctatcatggc agtcgggatg gtgagcattt tagccagttc tctcctaaaa	4200
aatgatattc ccatgacagg accattagtg gctggagggc tcctcactgt gtgtacgtg	4260
ctcactggac gatcgccga tttggaactg gagagagcag ccgatgtcaa atgggaagac	4320

caggcagaga tatcaggaag cagtccaatc ctgtcaataa caatatcaga agatggtagc	4380
atgtcgataa aaaatgaaga ggaagaacaa acactgacca tactcattag aacaggattg	4440
ctggtgatct caggactttt tcctgtatca ataccaatca cggcagcagc atggtacctg	4500
tgggaagtga agaaacaacg ggccggagta ttgtgggatg ttccttcacc cccacccatg	4560
ggaaaggctg aactggaaga tggagcctat agaattaagc aaaaagggat tcttggatat	4620
tcccagatcg gagccggagt ttacaaagaa ggaacattcc atacaatgtg gcatgtcaca	4680
cgtggcgctg ttctaataa taaaggaaag aggattgaac catcatgggc ggacgtcaag	4740
aaagacctaa tatcatatgg aggaggctgg aagttagaag gagaatggaa ggaaggagaa	4800
gaagtccagg tattggcact ggagcctgga aaaaatccaa gagccgtcca aacgaaacct	4860
ggtcttttca aaaccaacgc cggaacaata ggtgctgtat ctctggactt ttctcctgga	4920
acgtcaggat ctccaattat cgacaaaaaa ggaaaagtig tgggtcttta tggtaatggt	4980
gttgttaciaa ggagtggagc atatgtgagt gctatagccc agactgaaaa aagcattgaa	5040
gacaaccagc agatcgaaga tgacattttc cgaaagagaa gactgaccat catggacctc	5100
caccagagag cgggaaagac gaagagatac ctcccgcca tagtcagaga agctataaaa	5160
cggggtttga gaacattaat cttggccccc actagagttg tggcagctga aatggaggaa	5220
gcccttagag gacttccaat aagataccag acccagcca tcagagctgt gcacaccggg	5280
cgggagattg tggacctaat gtgtcatgcc acatttacca tgaggctgct atcaccagtt	5340
agagtccaa actacaacct gattatcatg gacgaagccc atttcacaga cccagcaagt	5400
atagcagcta gaggatacat ctcaactcga gtggagatgg gtgaggcagc tgggattttt	5460
atgacagcca ctccccggg aagcagagac ccatttcctc agagcaatgc accaatcata	5520
gatgaagaaa gagaatccc tgaacgctcg tggaaattcg gacatgaatg ggtcacggat	5580
tttaaaggga agactgtttg gttcgttcca agtataaaag caggaaatga tatagcagct	5640
tgcctgagga aaaatggaaa gaaagtgata caactcagta ggaagacctt tgattctgag	5700
tatgtcaaga ctagaaccaa tgattgggac ttctgtgtta caactgacat ttcagaaatg	5760
ggtgccaat tcaaggctga gagggttata gacccagac gctgcatgaa accagtcata	5820
ctaacagatg gtgaagagcg ggtgattctg gcaggaccta tgccagtgac ccaactctagt	5880
gcagcacaaa gaagaggag aataggaaga aatccaaaa atgagaatga ccagtacata	5940
tacatggggg aacctctgga aaatgatgaa gactgtgcac actggaaaga agctaaaatg	6000
ctcctagata acatcaacac gccagaagga atcattccta gcatgttcga accagagcgt	6060

gaaaagggtg atgccattga tggcgaatac cgcttgagag gagaagcaag gaaaaccttt	6120
gtagacttaa tgagaagagg agacctacca gtctggttgg cctacagagt ggcagctgaa	6180
ggcatcaact acgcagacag aagggtggtgt ttgatggag tcaagaacaa ccaaattccta	6240
gaagaaaacg tggaagtga aatctggaca aaagaagggg aaaggaagaa attgaaaccc	6300
agatggttgg atgctaggat ctattctgac ccactggcgc taaaagaatt taaggattt	6360
gcagccggaa gaaagtctct gacctgaac ctaatcacag aaatgggtag gctccaacc	6420
ttcatgactc agaaggcaag agacgcactg gacaacttag cagtgtgca cacggctgag	6480
ccaggtggaa gggcgtacaa ccatgctctc agtgaactgc cggagacctt ggagacattg	6540
cttttactga cacttctggc tacagtcacg ggagggatct ttttattctt gatgagcgca	6600
aggggcatag ggaagatgac cctgggaatg tgctgcataa tcacggctag catcctccta	6660
tggtagcac aaatacagcc acactggata gcagcttcaa taatactgga gtttttctc	6720
atagttttgc ttattccaga acctgaaaaa cagagaacac ccaagacaa ccaactgacc	6780
tacgttgta tagccatcct cacagtgggt gccgcaacca tggcaaacga gatgggtttc	6840
ctagaaaaaa cgaagaaaga tctcggattg ggaagcattg caaccagca acccgagagc	6900
aacatcctgg acatagatct acgtcctgca tcagcatgga cgctgtatgc cgtggccaca	6960
acatttgta caccaatgtt gagacatagc attgaaaatt cctcagtga tgtgtcccta	7020
acagctatag ccaaccaagc cacagtgtta atgggtctcg ggaaaggatg gccattgtca	7080
aagatggaca tcggagtcc cttctcgcc attggatgct actcacaagt caacccata	7140
actctcacag cagctttttt cttattggtg gcacattatg ccatcatagg gccaggactc	7200
caagcaaaag caaccagaga agctcagaaa agagcagcgg cgggcatcat gaaaaaccca	7260
actgtcgatg gaataacagt gattgacctg gatccaatac cttatgatcc aaagtttgaa	7320
aagcagtgg gacaagtaat gctcctagtc ctctgcgtga ctcaagtatt gatgatgagg	7380
actacatggg ctctgtgtga ggctttaacc ttagctaccg ggcccatctc cacattgtgg	7440
gaaggaaatc caggagggtt ttggaacact accattgcgg tgtcaatggc taacattttt	7500
agagggagtt acttggccgg agctggactt ctcttttcta ttatgaagaa cacaaccaac	7560
acaagaaggg gaactggcaa cataggagag acgcttggag agaaatggaa aagccgattg	7620
aacgcattgg gaaaaagtga attccagatc tacaagaaaa gtggaatcca ggaagtggat	7680
agaaccttag caaaagaagg cattaaaaga ggagaaacgg accatcacgc tgtgtcgca	7740
ggctcagcaa aactgagatg gtctgttgag agaacatgg tcacaccaga agggaaagta	7800
gtggacctcg gttgtggcag aggaggctgg tcatactatt gtggaggact aaagaatgta	7860
agagaagtca aaggcctaac aaaaggagga ccaggacacg aagaacccat ccccatgtca	7920

acatatgggt ggaatctagt gcgtcttcaa agtggagttg acgttttctt catcccgcca	7980
gaaaagtgtg acacattatt gtgtgacata ggggagtcac caccaaatcc cacagtggaa	8040
gcaggacgaa cactcagagt ccttaactta gtagaaaatt ggttgaacaa caacactcaa	8100
ttttgcataa aggttctcaa cccatataatg ccctcagtc tagaaaaaat ggaagcacta	8160
caaaggaaat atggaggagc cttagttagg aatccactct cacgaaactc cacacatgag	8220
atgtactggg tatccaatgc ttccgggaac atagtgtcat cagtgaacat gatttcaagg	8280
atgttgatca acagatttac aatgagatac aagaaagcca cttacgagcc ggatgttgac	8340
ctcggaagcg gaacccgtaa catcgggatt gaaagtgaga taccaaacct agatataatt	8400
gggaaaagaa tagaaaaaat aaagcaagag catgaaacat catggcacta tgaccaagac	8460
caccatatac aaacgtgggc ataccatggt agctatgaaa caaacagac tggatcagca	8520
tcatccatgg tcaacggagt ggtcaggctg ctgacaaaac cttgggacgt cgtcccatg	8580
gtgacacaga tggcaatgac agacacgact ccatttggac aacagcgcgt ttttaagag	8640
aaagtggaca cgagaaccca agaaccgaaa gaaggcacga agaaactaat gaaaataaca	8700
gcagagtggc tttggaaaga attaggggaag aaaaagacac ccaggatgtg caccagagaa	8760
gaattcaca gaaaggtgag aagcaatgca gccttggggg ccgtattcac tgatgagaac	8820
aagtggaagt cggcacgtga ggctgttgaa gatagtaggt tttgggagct ggttgacaag	8880
gaaaggaatc tccatcttga aggaaagtgt gaaacatgtg tgtacaacat gatgggaaaa	8940
agagagaaga agctagggga attcggcaag gcaaaaggca gcagagccat atggtacatg	9000
tggttggag cacgttctt agagtittgaa gccctaggat tcttaaatga agatcactgg	9060
ttctccagag agaactccct gagtggagt gaggagaag ggctgcacaa gctaggttac	9120
attctaagag acgtigagca gaaagaggga ggagcaatgt atccgatga caccgcagga	9180
tgggatacaa gaatcacact agaagacct aaaaatgaag aaatggtaac aaaccacatg	9240
gaaggagaac acaagaaact agccgaggcc attttcaaac taacgtacca aaacaaggtg	9300
gtgcgtgtgc aaagaccaac accaagaggc acagtaatgg acatcatatc gagaagagac	9360
caaagaggta tgggacaagt tggcacctat ggactcaata cttcaccaa tatggaagcc	9420
caactaatca gacagatgga gggagaagga gtctttaaaa gcattcagca cctaacaatc	9480
acagaagaaa tcgtgtgca aaactggta gcaagagtgg ggcgcgaaag gttatcaaga	9540
atggccatca tggagatga ttgtttgtg aaacctttag atgacaggtt cgcaagcgct	9600
ttaacagctc taaatgacat gggaaagatt aggaaagaca tacaacaatg ggaaccttca	9660
agaggatgga atgattggac acaagtgcc ttctgttcac accatttcca tgagttaatc	9720
atgaaagacg gtcgcgtact cgttgttcca ttagaaacc aagatgaact gattggcaga	9780

gcccgaatct cccaaggagc aggggtggtct ttgcgggaga cggcctgttt ggggaagtct 9840

tacgccccaa tgtggagctt gatgtacttc cacagacgcg acctcaggct ggcggcaaata 9900

gctatttgct cggcagtacc atcacattgg gttccaacaa gtcgaacaac ctggtccata 9960

catgctaaac atgaatggat gacaacggaa gacatgctga cagtctggaa cagggtgtgg 10020

attcaagaaa acccatggat ggaagacaaa actccagtgg aatcatggga ggaatccca 10080

tacttgggga aaagagaaga ccaatggtgc ggctcattga ttgggttaac aagcagggcc 10140

acctgggcaa agaacatcca agcagcaata aatcaagtta gatcccttat aggcaatgaa 10200

gaatacacag attacatgcc atccatgaaa agattcagaa gagaagagga agaagcagga 10260

gttctgtggt agaaagcaaa actaacatga aacaaggcta gaagtcaggt cggattaaagc 10320

catagtacgg aaaaaactat gctacctgtg agccccgtcc aaggacgtta aaagaagtca 10380

ggccatcata aatgcatag cttagtaaaa ctatgcagcc ttagctcca cctgagaagg 10440

tgtaaaaaat ccgggaggcc acaaacatg gaagctgtac gcatggcgta gtggactagc 10500

ggtttagagga gacccctccc ttacaaatcg cagcaacaat gggggcccaa ggcgagatga 10560

agctgtagtc tcgttggaag gactagaggt tagaggagac ccccccgaac caaaaaacag 10620

catattgacg ctgggaaaga ccagagatcc tgctgtctcc tcagcatcat tccaggcaca 10680

gaacgccaga aaatggaatg gtgctgttga atcaacaggt tct 10723

<210> 5

<211> 3391

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dengue virus serotype 2, BVS

<400> 5

Met Asn Asn Gln Arg Lys Lys Ala Lys Asn Thr Pro Phe Asn Met Leu

1 5 10 15

Lys Arg Glu Arg Asn Arg Val Ser Thr Val Gln Gln Leu Thr Lys Arg

20 25 30

Phe Ser Leu Gly Met Leu Gln Gly Arg Gly Pro Leu Lys Leu Phe Met

35 40 45

Ala Leu Val Ala Phe Leu Arg Phe Leu Thr Ile Pro Pro Thr Ala Gly

50 55 60

Ile Leu Lys Arg Trp Gly Thr Ile Lys Lys Ser Lys Ala Ile Asn Val

65	70	75	80
Leu Arg Gly Phe Arg Lys Glu Ile Gly Arg Met Leu Asn Ile Leu Asn			
	85	90	95
Arg Arg Arg Arg Ser Ala Gly Met Ile Ile Met Leu Ile Pro Thr Val			
	100	105	110
Met Ala Phe His Leu Thr Thr Arg Asn Gly Glu Pro His Met Ile Val			
	115	120	125
Ser Arg Gln Glu Lys Gly Lys Ser Leu Leu Phe Lys Thr Glu Val Gly			
	130	135	140
Val Asn Met Cys Thr Leu Met Ala Met Asp Leu Gly Glu Leu Cys Glu			
145	150	155	160
Asp Thr Ile Thr Tyr Glu Cys Pro Leu Leu Arg Gln Asn Glu Pro Glu			
	165	170	175
Asp Ile Asp Cys Trp Cys Asn Ser Thr Ser Thr Trp Val Thr Tyr Gly			
	180	185	190
Thr Cys Thr Thr Met Gly Glu His Arg Arg Glu Lys Arg Ser Val Ala			
	195	200	205
Leu Val Pro His Val Gly Met Gly Leu Glu Thr Arg Thr Glu Thr Trp			
	210	215	220
Met Ser Ser Glu Gly Ala Trp Lys His Val Gln Arg Ile Glu Thr Trp			
225	230	235	240
Ile Leu Arg His Pro Gly Phe Thr Met Met Ala Ala Ile Leu Ala Tyr			
	245	250	255
Thr Ile Gly Thr Thr His Phe Gln Arg Ala Leu Ile Phe Ile Leu Leu			
	260	265	270
Thr Ala Val Thr Pro Ser Met Thr Met Arg Cys Ile Gly Met Ser Asn			
	275	280	285
Arg Asp Phe Val Glu Gly Val Ser Gly Gly Ser Trp Val Asp Ile Val			
	290	295	300
Leu Glu His Gly Ser Cys Val Thr Thr Met Ala Lys Asn Lys Pro Thr			
305	310	315	320

Leu Asp Phe Glu Leu Ile Lys Thr Glu Ala Lys Gln Pro Ala Thr Leu

325 330 335

Arg Lys Tyr Cys Ile Glu Ala Lys Leu Thr Asn Thr Thr Thr Glu Ser

340 345 350

Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Pro Ser Leu Asn Glu Glu Gln Asp Lys

355 360 365

Arg Phe Val Cys Lys His Ser Met Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly

370 375 380

Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Gly Ile Val Thr Cys Ala Met Phe Arg

385 390 395 400

Cys Lys Lys Asn Met Glu Gly Lys Val Val Gln Pro Glu Asn Leu Glu

405 410 415

Tyr Thr Ile Val Ile Thr Pro His Ser Gly Glu Glu His Ala Val Gly

420 425 430

Asn Asp Thr Gly Lys His Gly Lys Glu Ile Lys Ile Thr Pro Gln Ser

435 440 445

Ser Ile Thr Glu Ala Glu Leu Thr Gly Tyr Gly Thr Val Thr Met Glu

450 455 460

Cys Ser Pro Arg Thr Gly Leu Asp Phe Asn Glu Met Val Leu Leu Gln

465 470 475 480

Met Glu Asn Lys Ala Trp Leu Val His Arg Gln Trp Phe Leu Asp Leu

485 490 495

Pro Leu Pro Trp Leu Pro Gly Ala Asp Thr Gln Gly Ser Asn Trp Ile

500 505 510

Gln Lys Glu Thr Leu Val Thr Phe Lys Asn Pro His Ala Lys Lys Gln

515 520 525

Asp Val Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Met His Thr Ala Leu

530 535 540

Thr Gly Ala Thr Glu Ile Gln Met Ser Ser Gly Asn Leu Leu Phe Thr

545 550 555 560

Gly His Leu Lys Cys Arg Leu Arg Met Asp Lys Leu Gln Leu Lys Gly

565 570 575
 Met Ser Tyr Ser Met Cys Thr Gly Lys Phe Lys Val Val Lys Glu Ile
 580 585 590
 Ala Glu Thr Gln His Gly Thr Ile Val Ile Arg Val Gln Tyr Glu Gly
 595 600 605
 Asp Gly Ser Pro Cys Lys Ile Pro Phe Glu Ile Met Asp Leu Glu Lys

 610 615 620
 Arg His Val Leu Gly Arg Leu Ile Thr Val Asn Pro Ile Val Thr Glu
 625 630 635 640
 Lys Asp Ser Pro Val Asn Ile Glu Ala Glu Pro Pro Phe Gly Asp Ser
 645 650 655
 Tyr Ile Ile Ile Gly Val Glu Pro Gly Gln Leu Lys Leu Asn Trp Phe
 660 665 670
 Lys Lys Gly Ser Ser Ile Gly Gln Met Phe Glu Thr Thr Met Arg Gly
 675 680 685

 Ala Lys Arg Met Ala Ile Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser
 690 695 700
 Leu Gly Gly Val Phe Thr Ser Ile Gly Lys Ala Leu His Gln Val Phe
 705 710 715 720
 Gly Ala Ile Tyr Gly Ala Ala Phe Ser Gly Val Ser Trp Thr Met Lys
 725 730 735
 Ile Leu Ile Gly Val Ile Ile Thr Trp Ile Gly Met Asn Ser Arg Ser
 740 745 750
 Thr Ser Leu Ser Val Thr Leu Val Leu Val Gly Ile Val Thr Leu Tyr

 755 760 765
 Leu Gly Val Met Val Gln Ala Asp Ser Gly Cys Val Val Ser Trp Lys
 770 775 780
 Asn Lys Glu Leu Lys Cys Gly Ser Gly Ile Phe Ile Thr Asp Asn Val
 785 790 795 800
 His Thr Trp Thr Glu Gln Tyr Lys Phe Gln Pro Glu Ser Pro Ser Lys
 805 810 815
 Leu Ala Ser Ala Ile Gln Lys Ala His Glu Glu Asp Ile Cys Gly Ile

820	825	830	
Arg Ser Val Thr Arg Leu Glu Asn Leu Met Trp Lys Gln Ile Thr Pro			
835	840	845	
Glu Leu Asn His Ile Leu Ser Glu Asn Glu Val Lys Leu Thr Ile Met			
850	855	860	
Thr Gly Asp Ile Lys Gly Ile Met Gln Ala Gly Lys Arg Ser Leu Arg			
865	870	875	880
Pro Gln Pro Thr Glu Leu Lys Tyr Ser Trp Lys Thr Trp Gly Lys Ala			
885	890	895	
Lys Met Leu Ser Thr Glu Ser His Asn Gln Thr Phe Leu Ile Asp Gly			
900	905	910	
Pro Glu Thr Ala Glu Cys Pro Asn Thr Asn Arg Ala Trp Asn Ser Leu			
915	920	925	
Glu Val Glu Asp Tyr Gly Phe Gly Val Phe Thr Thr Asn Ile Trp Leu			
930	935	940	
Lys Leu Lys Glu Lys Gln Asp Val Phe Cys Asp Ser Lys Leu Met Ser			
945	950	955	960
Ala Ala Ile Lys Asp Asn Arg Ala Val His Ala Asp Met Gly Tyr Trp			
965	970	975	
Ile Glu Ser Ala Leu Asn Asp Thr Trp Lys Ile Glu Lys Ala Ser Phe			
980	985	990	
Ile Glu Val Lys Asn Cys His Trp Pro Lys Ser His Thr Leu Trp Ser			
995	1000	1005	
Asn Gly Val Leu Glu Ser Glu Met Ile Ile Pro Lys Asn Leu Ala Gly			
1010	1015	1020	
Pro Val Ser Gln His Asn Tyr Arg Pro Gly Tyr His Thr Gln Ile Thr			
1025	1030	1035	1040
Gly Pro Trp His Leu Gly Lys Leu Glu Met Asp Phe Asp Phe Cys Asp			
1045	1050	1055	
Gly Thr Thr Val Val Val Thr Glu Asp Cys Gly Asn Arg Gly Pro Ser			
1060	1065	1070	

Leu Arg Thr Thr Thr Ala Ser Gly Lys Leu Ile Thr Glu Trp Cys Cys
 1075 1080 1085
 Arg Ser Cys Thr Leu Pro Pro Leu Arg Tyr Arg Gly Glu Asp Gly Cys
 1090 1095 1100
 Trp Tyr Gly Met Glu Ile Arg Pro Leu Lys Glu Lys Glu Glu Asn Leu
 1105 1110 1115 1120

 Val Asn Ser Leu Val Thr Ala Gly His Gly Gln Val Asp Asn Phe Ser
 1125 1130 1135
 Leu Gly Val Leu Gly Met Ala Leu Phe Leu Glu Glu Met Leu Arg Thr
 1140 1145 1150
 Arg Val Gly Thr Lys His Ala Ile Leu Leu Val Ala Val Ser Phe Val
 1155 1160 1165
 Thr Leu Ile Thr Gly Asn Met Ser Phe Arg Asp Leu Gly Arg Val Met
 1170 1175 1180
 Val Met Val Gly Ala Thr Met Thr Asp Asp Ile Gly Met Gly Val Thr

 1185 1190 1195 1200
 Tyr Leu Ala Leu Leu Ala Ala Phe Lys Val Arg Pro Thr Phe Ala Ala
 1205 1210 1215
 Gly Leu Leu Leu Arg Lys Leu Thr Ser Lys Glu Leu Met Met Thr Thr
 1220 1225 1230
 Ile Gly Ile Val Leu Leu Ser Gln Ser Thr Ile Pro Glu Thr Ile Leu
 1235 1240 1245
 Glu Leu Thr Asp Ala Leu Ala Leu Gly Met Met Val Leu Lys Met Val
 1250 1255 1260

 Arg Asn Met Glu Lys Tyr Gln Leu Ala Val Thr Ile Met Ala Ile Leu
 1265 1270 1275 1280
 Cys Val Pro Asn Ala Val Ile Leu Gln Asn Ala Trp Lys Val Ser Cys
 1285 1290 1295
 Thr Ile Leu Ala Val Val Ser Val Ser Pro Leu Phe Leu Thr Ser Ser
 1300 1305 1310
 Gln Gln Lys Thr Asp Trp Ile Pro Leu Ala Leu Thr Ile Lys Gly Leu
 1315 1320 1325

Asn Pro Thr Ala Ile Phe Leu Thr Thr Leu Ser Arg Thr Ser Lys Lys

1330 1335 1340
Arg Ser Trp Pro Leu Asn Glu Ala Ile Met Ala Val Gly Met Val Ser
1345 1350 1355 1360
Ile Leu Ala Ser Ser Leu Leu Lys Asn Asp Ile Pro Met Thr Gly Pro
1365 1370 1375
Leu Val Ala Gly Gly Leu Leu Thr Val Cys Tyr Val Leu Thr Gly Arg
1380 1385 1390
Ser Ala Asp Leu Glu Leu Glu Arg Ala Ala Asp Val Lys Trp Glu Asp
1395 1400 1405

Gln Ala Glu Ile Ser Gly Ser Ser Pro Ile Leu Ser Ile Thr Ile Ser
1410 1415 1420
Glu Asp Gly Ser Met Ser Ile Lys Asn Glu Glu Glu Glu Gln Thr Leu
1425 1430 1435 1440
Thr Ile Leu Ile Arg Thr Gly Leu Leu Val Ile Ser Gly Leu Phe Pro
1445 1450 1455
Val Ser Ile Pro Ile Thr Ala Ala Ala Trp Tyr Leu Trp Glu Val Lys
1460 1465 1470
Lys Gln Arg Ala Gly Val Leu Trp Asp Val Pro Ser Pro Pro Pro Met

1475 1480 1485
Gly Lys Ala Glu Leu Glu Asp Gly Ala Tyr Arg Ile Lys Gln Lys Gly
1490 1495 1500
Ile Leu Gly Tyr Ser Gln Ile Gly Ala Gly Val Tyr Lys Glu Gly Thr
1505 1510 1515 1520
Phe His Thr Met Trp His Val Thr Arg Gly Ala Val Leu Met His Lys
1525 1530 1535
Gly Lys Arg Ile Glu Pro Ser Trp Ala Asp Val Lys Lys Asp Leu Ile
1540 1545 1550

Ser Tyr Gly Gly Gly Trp Lys Leu Glu Gly Glu Trp Lys Glu Gly Glu
1555 1560 1565
Glu Val Gln Val Leu Ala Leu Glu Pro Gly Lys Asn Pro Arg Ala Val

1570 1575 1580
 Gln Thr Lys Pro Gly Leu Phe Lys Thr Asn Ala Gly Thr Ile Gly Ala
 1585 1590 1595 1600
 Val Ser Leu Asp Phe Ser Pro Gly Thr Ser Gly Ser Pro Ile Ile Asp
 1605 1610 1615
 Lys Lys Gly Lys Val Val Gly Leu Tyr Gly Asn Gly Val Val Thr Arg

 1620 1625 1630
 Ser Gly Ala Tyr Val Ser Ala Ile Ala Gln Thr Glu Lys Ser Ile Glu
 1635 1640 1645
 Asp Asn Pro Glu Ile Glu Asp Asp Ile Phe Arg Lys Arg Arg Leu Thr
 1650 1655 1660
 Ile Met Asp Leu His Pro Gly Ala Gly Lys Thr Lys Arg Tyr Leu Pro
 1665 1670 1675 1680
 Ala Ile Val Arg Glu Ala Ile Lys Arg Gly Leu Arg Thr Leu Ile Leu
 1685 1690 1695

 Ala Pro Thr Arg Val Val Ala Ala Glu Met Glu Glu Ala Leu Arg Gly
 1700 1705 1710
 Leu Pro Ile Arg Tyr Gln Thr Pro Ala Ile Arg Ala Val His Thr Gly
 1715 1720 1725
 Arg Glu Ile Val Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Met Arg Leu
 1730 1735 1740
 Leu Ser Pro Val Arg Val Pro Asn Tyr Asn Leu Ile Ile Met Asp Glu
 1745 1750 1755 1760
 Ala His Phe Thr Asp Pro Ala Ser Ile Ala Ala Arg Gly Tyr Ile Ser

 1765 1770 1775
 Thr Arg Val Glu Met Gly Glu Ala Ala Gly Ile Phe Met Thr Ala Thr
 1780 1785 1790
 Pro Pro Gly Ser Arg Asp Pro Phe Pro Gln Ser Asn Ala Pro Ile Ile
 1795 1800 1805
 Asp Glu Glu Arg Glu Ile Pro Glu Arg Ser Trp Asn Ser Gly His Glu
 1810 1815 1820
 Trp Val Thr Asp Phe Lys Gly Lys Thr Val Trp Phe Val Pro Ser Ile

1825 1830 1835 1840

 Lys Ala Gly Asn Asp Ile Ala Ala Cys Leu Arg Lys Asn Gly Lys Lys
 1845 1850 1855
 Val Ile Gln Leu Ser Arg Lys Thr Phe Asp Ser Glu Tyr Val Lys Thr
 1860 1865 1870
 Arg Thr Asn Asp Trp Asp Phe Val Val Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met
 1875 1880 1885
 Gly Ala Asn Phe Lys Ala Glu Arg Val Ile Asp Pro Arg Arg Cys Met
 1890 1895 1900
 Lys Pro Val Ile Leu Thr Asp Gly Glu Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly

 1905 1910 1915 1920
 Pro Met Pro Val Thr His Ser Ser Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Ile
 1925 1930 1935
 Gly Arg Asn Pro Lys Asn Glu Asn Asp Gln Tyr Ile Tyr Met Gly Glu
 1940 1945 1950
 Pro Leu Glu Asn Asp Glu Asp Cys Ala His Trp Lys Glu Ala Lys Met
 1955 1960 1965
 Leu Leu Asp Asn Ile Asn Thr Pro Glu Gly Ile Ile Pro Ser Met Phe
 1970 1975 1980

 Glu Pro Glu Arg Glu Lys Val Asp Ala Ile Asp Gly Glu Tyr Arg Leu
 1985 1990 1995 2000
 Arg Gly Glu Ala Arg Lys Thr Phe Val Asp Leu Met Arg Arg Gly Asp
 2005 2010 2015
 Leu Pro Val Trp Leu Ala Tyr Arg Val Ala Ala Glu Gly Ile Asn Tyr
 2020 2025 2030
 Ala Asp Arg Arg Trp Cys Phe Asp Gly Val Lys Asn Asn Gln Ile Leu
 2035 2040 2045
 Glu Glu Asn Val Glu Val Glu Ile Trp Thr Lys Glu Gly Glu Arg Lys

 2050 2055 2060
 Lys Leu Lys Pro Arg Trp Leu Asp Ala Arg Ile Tyr Ser Asp Pro Leu
 2065 2070 2075 2080

Ala Leu Lys Glu Phe Lys Glu Phe Ala Ala Gly Arg Lys Ser Leu Thr
2085 2090 2095

Leu Asn Leu Ile Thr Glu Met Gly Arg Leu Pro Thr Phe Met Thr Gln
2100 2105 2110

Lys Ala Arg Asp Ala Leu Asp Asn Leu Ala Val Leu His Thr Ala Glu
2115 2120 2125

Pro Gly Gly Arg Ala Tyr Asn His Ala Leu Ser Glu Leu Pro Glu Thr
2130 2135 2140

Leu Glu Thr Leu Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ala Thr Val Thr Gly Gly
2145 2150 2155 2160

Ile Phe Leu Phe Leu Met Ser Ala Arg Gly Ile Gly Lys Met Thr Leu
2165 2170 2175

Gly Met Cys Cys Ile Ile Thr Ala Ser Ile Leu Leu Trp Tyr Ala Gln
2180 2185 2190

Ile Gln Pro His Trp Ile Ala Ala Ser Ile Ile Leu Glu Phe Phe Leu
2195 2200 2205

Ile Val Leu Leu Ile Pro Glu Pro Glu Lys Gln Arg Thr Pro Gln Asp
2210 2215 2220

Asn Gln Leu Thr Tyr Val Val Ile Ala Ile Leu Thr Val Val Ala Ala
2225 2230 2235 2240

Thr Met Ala Asn Glu Met Gly Phe Leu Glu Lys Thr Lys Lys Asp Leu
2245 2250 2255

Gly Leu Gly Ser Ile Ala Thr Gln Gln Pro Glu Ser Asn Ile Leu Asp
2260 2265 2270

Ile Asp Leu Arg Pro Ala Ser Ala Trp Thr Leu Tyr Ala Val Ala Thr
2275 2280 2285

Thr Phe Val Thr Pro Met Leu Arg His Ser Ile Glu Asn Ser Ser Val
2290 2295 2300

Asn Val Ser Leu Thr Ala Ile Ala Asn Gln Ala Thr Val Leu Met Gly
2305 2310 2315 2320

Leu Gly Lys Gly Trp Pro Leu Ser Lys Met Asp Ile Gly Val Pro Leu
2325 2330 2335

Leu Ala Ile Gly Cys Tyr Ser Gln Val Asn Pro Ile Thr Leu Thr Ala

2340	2345	2350	
Ala Phe Phe Leu Leu Val	Ala His Tyr Ala Ile Ile Gly Pro Gly Leu		
2355	2360	2365	
Gln Ala Lys Ala Thr Arg Glu Ala Gln Lys Arg Ala Ala Ala Gly Ile			
2370	2375	2380	
Met Lys Asn Pro Thr Val Asp Gly Ile Thr Val Ile Asp Leu Asp Pro			
2385	2390	2395	2400
Ile Pro Tyr Asp Pro Lys Phe Glu Lys Gln Leu Gly Gln Val Met Leu			
2405	2410	2415	

Leu Val Leu Cys Val Thr Gln Val Leu Met Met Arg Thr Thr Trp Ala			
2420	2425	2430	
Leu Cys Glu Ala Leu Thr Leu Ala Thr Gly Pro Ile Ser Thr Leu Trp			
2435	2440	2445	
Glu Gly Asn Pro Gly Arg Phe Trp Asn Thr Thr Ile Ala Val Ser Met			
2450	2455	2460	
Ala Asn Ile Phe Arg Gly Ser Tyr Leu Ala Gly Ala Gly Leu Leu Phe			
2465	2470	2475	2480
Ser Ile Met Lys Asn Thr Thr Asn Thr Arg Arg Gly Thr Gly Asn Ile			

2485	2490	2495	
Gly Glu Thr Leu Gly Glu Lys Trp Lys Ser Arg Leu Asn Ala Leu Gly			
2500	2505	2510	
Lys Ser Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Lys Ser Gly Ile Gln Glu Val Asp			
2515	2520	2525	
Arg Thr Leu Ala Lys Glu Gly Ile Lys Arg Gly Glu Thr Asp His His			
2530	2535	2540	
Ala Val Ser Arg Gly Ser Ala Lys Leu Arg Trp Phe Val Glu Arg Asn			
2545	2550	2555	2560

Met Val Thr Pro Glu Gly Lys Val Val Asp Leu Gly Cys Gly Arg Gly		
2565	2570	2575
Gly Trp Ser Tyr Tyr Cys Gly Gly Leu Lys Asn Val Arg Glu Val Lys		

2580 2585 2590
 Gly Leu Thr Lys Gly Gly Pro Gly His Glu Glu Pro Ile Pro Met Ser
 2595 2600 2605
 Thr Tyr Gly Trp Asn Leu Val Arg Leu Gln Ser Gly Val Asp Val Phe
 2610 2615 2620
 Phe Ile Pro Pro Glu Lys Cys Asp Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu

 2625 2630 2635 2640
 Ser Ser Pro Asn Pro Thr Val Glu Ala Gly Arg Thr Leu Arg Val Leu
 2645 2650 2655
 Asn Leu Val Glu Asn Trp Leu Asn Asn Asn Thr Gln Phe Cys Ile Lys
 2660 2665 2670
 Val Leu Asn Pro Tyr Met Pro Ser Val Ile Glu Lys Met Glu Ala Leu
 2675 2680 2685
 Gln Arg Lys Tyr Gly Gly Ala Leu Val Arg Asn Pro Leu Ser Arg Asn
 2690 2695 2700

 Ser Thr His Glu Met Tyr Trp Val Ser Asn Ala Ser Gly Asn Ile Val
 2705 2710 2715 2720
 Ser Ser Val Asn Met Ile Ser Arg Met Leu Ile Asn Arg Phe Thr Met
 2725 2730 2735
 Arg Tyr Lys Lys Ala Thr Tyr Glu Pro Asp Val Asp Leu Gly Ser Gly
 2740 2745 2750
 Thr Arg Asn Ile Gly Ile Glu Ser Glu Ile Pro Asn Leu Asp Ile Ile
 2755 2760 2765
 Gly Lys Arg Ile Glu Lys Ile Lys Gln Glu His Glu Thr Ser Trp His

 2770 2775 2780
 Tyr Asp Gln Asp His Pro Tyr Lys Thr Trp Ala Tyr His Gly Ser Tyr
 2785 2790 2795 2800
 Glu Thr Lys Gln Thr Gly Ser Ala Ser Ser Met Val Asn Gly Val Val
 2805 2810 2815
 Arg Leu Leu Thr Lys Pro Trp Asp Val Val Pro Met Val Thr Gln Met
 2820 2825 2830
 Ala Met Thr Asp Thr Thr Pro Phe Gly Gln Gln Arg Val Phe Lys Glu

2835 2840 2845
 Lys Val Asp Thr Arg Thr Gln Glu Pro Lys Glu Gly Thr Lys Lys Leu
 2850 2855 2860
 Met Lys Ile Thr Ala Glu Trp Leu Trp Lys Glu Leu Gly Lys Lys Lys
 2865 2870 2875 2880
 Thr Pro Arg Met Cys Thr Arg Glu Glu Phe Thr Arg Lys Val Arg Ser
 2885 2890 2895
 Asn Ala Ala Leu Gly Ala Val Phe Thr Asp Glu Asn Lys Trp Lys Ser
 2900 2905 2910
 Ala Arg Glu Ala Val Glu Asp Ser Arg Phe Trp Glu Leu Val Asp Lys
 2915 2920 2925
 Glu Arg Asn Leu His Leu Glu Gly Lys Cys Glu Thr Cys Val Tyr Asn
 2930 2935 2940
 Met Met Gly Lys Arg Glu Lys Lys Leu Gly Glu Phe Gly Lys Ala Lys
 2945 2950 2955 2960
 Gly Ser Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala Arg Phe Leu Glu
 2965 2970 2975
 Phe Glu Ala Leu Gly Phe Leu Asn Glu Asp His Trp Phe Ser Arg Glu
 2980 2985 2990
 Asn Ser Leu Ser Gly Val Glu Gly Glu Gly Leu His Lys Leu Gly Tyr
 2995 3000 3005
 Ile Leu Arg Asp Val Ser Lys Lys Glu Gly Gly Ala Met Tyr Ala Asp
 3010 3015 3020
 Asp Thr Ala Gly Trp Asp Thr Arg Ile Thr Leu Glu Asp Leu Lys Asn
 3025 3030 3035 3040
 Glu Glu Met Val Thr Asn His Met Glu Gly Glu His Lys Lys Leu Ala
 3045 3050 3055
 Glu Ala Ile Phe Lys Leu Thr Tyr Gln Asn Lys Val Val Arg Val Gln
 3060 3065 3070
 Arg Pro Thr Pro Arg Gly Thr Val Met Asp Ile Ile Ser Arg Arg Asp
 3075 3080 3085

Gln Arg Gly Ser Gly Gln Val Gly Thr Tyr Gly Leu Asn Thr Phe Thr
3090 3095 3100
Asn Met Glu Ala Gln Leu Ile Arg Gln Met Glu Gly Glu Gly Val Phe
3105 3110 3115 3120
Lys Ser Ile Gln His Leu Thr Ile Thr Glu Glu Ile Ala Val Gln Asn
3125 3130 3135
Trp Leu Ala Arg Val Gly Arg Glu Arg Leu Ser Arg Met Ala Ile Ser
3140 3145 3150
Gly Asp Asp Cys Val Val Lys Pro Leu Asp Asp Arg Phe Ala Ser Ala
3155 3160 3165
Leu Thr Ala Leu Asn Asp Met Gly Lys Ile Arg Lys Asp Ile Gln Gln
3170 3175 3180
Trp Glu Pro Ser Arg Gly Trp Asn Asp Trp Thr Gln Val Pro Phe Cys
3185 3190 3195 3200
Ser His His Phe His Glu Leu Ile Met Lys Asp Gly Arg Val Leu Val
3205 3210 3215
Val Pro Cys Arg Asn Gln Asp Glu Leu Ile Gly Arg Ala Arg Ile Ser
3220 3225 3230
Gln Gly Ala Gly Trp Ser Leu Arg Glu Thr Ala Cys Leu Gly Lys Ser
3235 3240 3245
Tyr Ala Gln Met Trp Ser Leu Met Tyr Phe His Arg Arg Asp Leu Arg
3250 3255 3260
Leu Ala Ala Asn Ala Ile Cys Ser Ala Val Pro Ser His Trp Val Pro
3265 3270 3275 3280
Thr Ser Arg Thr Thr Trp Ser Ile His Ala Lys His Glu Trp Met Thr
3285 3290 3295
Thr Glu Asp Met Leu Thr Val Trp Asn Arg Val Trp Ile Gln Glu Asn
3300 3305 3310
Pro Trp Met Glu Asp Lys Thr Pro Val Glu Ser Trp Glu Glu Ile Pro
3315 3320 3325
Tyr Leu Gly Lys Arg Glu Asp Gln Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly Leu
3330 3335 3340

Thr Ser Arg Ala Thr Trp Ala Lys Asn Ile Gln Ala Ala Ile Asn Gln

3345 3350 3355 3360

Val Arg Ser Leu Ile Gly Asn Glu Glu Tyr Thr Asp Tyr Met Pro Ser

3365 3370 3375

Met Lys Arg Phe Arg Arg Glu Glu Glu Glu Ala Gly Val Leu Trp

3380 3385 3390

<210> 6

<211> 3391

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dengue virus serotype 2, MVS

<400> 6

Met Asn Asn Gln Arg Lys Lys Ala Lys Asn Thr Pro Phe Asn Met Leu

1 5 10 15

Lys Arg Glu Arg Asn Arg Val Ser Thr Val Gln Gln Leu Thr Lys Arg

20 25 30

Phe Ser Leu Gly Met Leu Gln Gly Arg Gly Pro Leu Lys Leu Phe Met

35 40 45

Ala Leu Val Ala Phe Leu Arg Phe Leu Thr Ile Pro Pro Thr Ala Gly

50 55 60

Ile Leu Lys Arg Trp Gly Thr Ile Lys Lys Ser Lys Ala Ile Asn Val

65 70 75 80

Leu Arg Gly Phe Arg Lys Glu Ile Gly Arg Met Leu Asn Ile Leu Asn

85 90 95

Arg Arg Arg Arg Ser Ala Gly Met Ile Ile Met Leu Ile Pro Thr Val

100 105 110

Met Ala Phe His Leu Thr Thr Arg Asn Gly Glu Pro His Met Ile Val

115 120 125

Ser Arg Gln Glu Lys Gly Lys Ser Leu Leu Phe Lys Thr Glu Val Gly

130 135 140

Val Asn Met Cys Thr Leu Met Ala Met Asp Leu Gly Glu Leu Cys Glu

145 150 155 160
 Asp Thr Ile Thr Tyr Glu Cys Pro Leu Leu Arg Gln Asn Glu Pro Glu
 165 170 175
 Asp Ile Asp Cys Trp Cys Asn Ser Thr Ser Thr Trp Val Thr Tyr Gly
 180 185 190
 Thr Cys Thr Thr Met Gly Glu His Arg Arg Glu Lys Arg Ser Val Ala
 195 200 205
 Leu Val Pro His Val Gly Met Gly Leu Glu Thr Arg Thr Glu Thr Trp
 210 215 220

 Met Ser Ser Glu Gly Ala Trp Lys His Val Gln Arg Ile Glu Thr Trp
 225 230 235 240
 Ile Leu Arg His Pro Gly Phe Thr Met Met Ala Ala Ile Leu Ala Tyr
 245 250 255
 Thr Ile Gly Thr Thr His Phe Gln Arg Ala Leu Ile Phe Ile Leu Leu
 260 265 270
 Thr Ala Val Thr Pro Ser Met Thr Met Arg Cys Ile Gly Met Ser Asn
 275 280 285
 Arg Asp Phe Val Glu Gly Val Ser Gly Gly Ser Trp Val Asp Ile Val

 290 295 300
 Leu Glu His Gly Ser Cys Val Thr Thr Met Ala Lys Asn Lys Pro Thr
 305 310 315 320
 Leu Asp Phe Glu Leu Ile Lys Thr Glu Ala Lys Gln Pro Ala Thr Leu
 325 330 335
 Arg Lys Tyr Cys Ile Glu Ala Lys Leu Thr Asn Thr Thr Thr Glu Ser
 340 345 350
 Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Pro Ser Leu Asn Glu Glu Gln Asp Lys
 355 360 365

 Arg Phe Val Cys Lys His Ser Met Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly
 370 375 380
 Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Gly Ile Val Thr Cys Ala Met Phe Arg
 385 390 395 400
 Cys Lys Lys Asn Met Glu Gly Lys Val Val Gln Pro Glu Asn Leu Glu

405 410 415
 Tyr Thr Ile Val Ile Thr Pro His Ser Gly Glu Glu His Ala Val Gly
 420 425 430
 Asn Asp Thr Gly Lys His Gly Lys Glu Ile Lys Ile Thr Pro Gln Ser

 435 440 445
 Ser Ile Thr Glu Ala Glu Leu Thr Gly Tyr Gly Thr Val Thr Met Glu
 450 455 460
 Cys Ser Pro Arg Thr Gly Leu Asp Phe Asn Glu Met Val Leu Leu Gln
 465 470 475 480
 Met Glu Asn Lys Ala Trp Leu Val His Arg Gln Trp Phe Leu Asp Leu
 485 490 495
 Pro Leu Pro Trp Leu Pro Gly Ala Asp Thr Gln Gly Ser Asn Trp Ile
 500 505 510

 Gln Lys Glu Thr Leu Val Thr Phe Lys Asn Pro His Ala Lys Lys Gln
 515 520 525
 Asp Val Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Met His Thr Ala Leu
 530 535 540
 Thr Gly Ala Thr Glu Ile Gln Met Ser Ser Gly Asn Leu Leu Phe Thr
 545 550 555 560
 Gly His Leu Lys Cys Arg Leu Arg Met Asp Lys Leu Gln Leu Lys Gly
 565 570 575
 Met Ser Tyr Ser Met Cys Thr Gly Lys Phe Lys Val Val Lys Glu Ile

 580 585 590
 Ala Glu Thr Gln His Gly Thr Ile Val Ile Arg Val Gln Tyr Glu Gly
 595 600 605
 Asp Gly Ser Pro Cys Lys Ile Pro Phe Glu Ile Met Asp Leu Glu Lys
 610 615 620
 Arg His Val Leu Gly Arg Leu Ile Thr Val Asn Pro Ile Val Thr Glu
 625 630 635 640
 Lys Asp Ser Pro Val Asn Ile Glu Ala Glu Pro Pro Phe Gly Asp Ser
 645 650 655

Tyr Ile Ile Ile Gly Val Glu Pro Gly Gln Leu Lys Leu Asn Trp Phe
 660 665 670
 Lys Lys Gly Ser Ser Ile Gly Gln Met Phe Glu Thr Thr Met Arg Gly
 675 680 685
 Ala Lys Arg Met Ala Ile Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser
 690 695 700
 Leu Gly Gly Val Phe Thr Ser Ile Gly Lys Ala Leu His Gln Val Phe
 705 710 715 720
 Gly Ala Ile Tyr Gly Ala Ala Phe Ser Gly Val Ser Trp Thr Met Lys
 725 730 735
 Ile Leu Ile Gly Val Ile Ile Thr Trp Ile Gly Met Asn Ser Arg Ser
 740 745 750
 Thr Ser Leu Ser Val Thr Leu Val Leu Val Gly Ile Val Thr Leu Tyr
 755 760 765
 Leu Gly Val Met Val Gln Ala Asp Ser Gly Cys Val Val Ser Trp Lys
 770 775 780
 Asn Lys Glu Leu Lys Cys Gly Ser Gly Ile Phe Ile Thr Asp Asn Val
 785 790 795 800
 His Thr Trp Thr Glu Gln Tyr Lys Phe Gln Pro Glu Ser Pro Ser Lys
 805 810 815
 Leu Ala Ser Ala Ile Gln Lys Ala His Glu Glu Asp Ile Cys Gly Ile
 820 825 830
 Arg Ser Val Thr Arg Leu Glu Asn Leu Met Trp Lys Gln Ile Thr Pro
 835 840 845
 Glu Leu Asn His Ile Leu Ser Glu Asn Glu Val Lys Leu Thr Ile Met
 850 855 860
 Thr Gly Asp Ile Lys Gly Ile Met Gln Ala Gly Lys Arg Ser Leu Arg
 865 870 875 880
 Pro Gln Pro Thr Glu Leu Lys Tyr Ser Trp Lys Thr Trp Gly Lys Ala
 885 890 895
 Lys Met Leu Ser Thr Glu Ser His Asn Gln Thr Phe Leu Ile Asp Gly
 900 905 910

Pro Glu Thr Ala Glu Cys Pro Asn Thr Asn Arg Ala Trp Asn Ser Leu
 915 920 925
 Glu Val Glu Asp Tyr Gly Phe Gly Val Phe Thr Thr Asn Ile Trp Leu
 930 935 940

 Lys Leu Lys Glu Lys Gln Asp Val Phe Cys Asp Ser Lys Leu Met Ser
 945 950 955 960
 Ala Ala Ile Lys Asp Asn Arg Ala Val His Ala Asp Met Gly Tyr Trp
 965 970 975
 Ile Glu Ser Ala Leu Asn Asp Thr Trp Lys Ile Glu Lys Ala Ser Phe
 980 985 990
 Ile Glu Val Lys Asn Cys His Trp Pro Lys Ser His Thr Leu Trp Ser
 995 1000 1005
 Asn Gly Val Leu Glu Ser Glu Met Ile Ile Pro Lys Asn Leu Ala Gly

 1010 1015 1020
 Pro Val Ser Gln His Asn Tyr Arg Pro Gly Tyr His Thr Gln Ile Thr
 1025 1030 1035 1040
 Gly Pro Trp His Leu Gly Lys Leu Glu Met Asp Phe Asp Phe Cys Asp
 1045 1050 1055
 Gly Thr Thr Val Val Val Thr Glu Asp Cys Gly Asn Arg Gly Pro Ser
 1060 1065 1070
 Leu Arg Thr Thr Thr Ala Ser Gly Lys Leu Ile Thr Glu Trp Cys Cys
 1075 1080 1085

 Arg Ser Cys Thr Leu Pro Pro Leu Arg Tyr Arg Gly Glu Asp Gly Cys
 1090 1095 1100
 Trp Tyr Gly Met Glu Ile Arg Pro Leu Lys Glu Lys Glu Glu Asn Leu
 1105 1110 1115 1120
 Val Asn Ser Leu Val Thr Ala Gly His Gly Gln Val Asp Asn Phe Ser
 1125 1130 1135
 Leu Gly Val Leu Gly Met Ala Leu Phe Leu Glu Glu Met Leu Arg Thr
 1140 1145 1150
 Arg Val Gly Thr Lys His Ala Ile Leu Leu Val Ala Val Ser Phe Val

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

1410 1415 1420
 Glu Asp Gly Ser Met Ser Ile Lys Asn Glu Glu Glu Glu Gln Thr Leu
 1425 1430 1435 1440
 Thr Ile Leu Ile Arg Thr Gly Leu Leu Val Ile Ser Gly Leu Phe Pro

 1445 1450 1455
 Val Ser Ile Pro Ile Thr Ala Ala Ala Trp Tyr Leu Trp Glu Val Lys
 1460 1465 1470
 Lys Gln Arg Ala Gly Val Leu Trp Asp Val Pro Ser Pro Pro Pro Met
 1475 1480 1485
 Gly Lys Ala Glu Leu Glu Asp Gly Ala Tyr Arg Ile Lys Gln Lys Gly
 1490 1495 1500
 Ile Leu Gly Tyr Ser Gln Ile Gly Ala Gly Val Tyr Lys Glu Gly Thr
 1505 1510 1515 1520

 Phe His Thr Met Trp His Val Thr Arg Gly Ala Val Leu Met His Lys
 1525 1530 1535
 Gly Lys Arg Ile Glu Pro Ser Trp Ala Asp Val Lys Lys Asp Leu Ile
 1540 1545 1550
 Ser Tyr Gly Gly Gly Trp Lys Leu Glu Gly Glu Trp Lys Glu Gly Glu
 1555 1560 1565
 Glu Val Gln Val Leu Ala Leu Glu Pro Gly Lys Asn Pro Arg Ala Val
 1570 1575 1580
 Gln Thr Lys Pro Gly Leu Phe Lys Thr Asn Ala Gly Thr Ile Gly Ala

 1585 1590 1595 1600
 Val Ser Leu Asp Phe Ser Pro Gly Thr Ser Gly Ser Pro Ile Ile Asp
 1605 1610 1615
 Lys Lys Gly Lys Val Val Gly Leu Tyr Gly Asn Gly Val Val Thr Arg
 1620 1625 1630
 Ser Gly Ala Tyr Val Ser Ala Ile Ala Gln Thr Glu Lys Ser Ile Glu
 1635 1640 1645
 Asp Asn Pro Glu Ile Glu Asp Asp Ile Phe Arg Lys Arg Arg Leu Thr
 1650 1655 1660

Ile Met Asp Leu His Pro Gly Ala Gly Lys Thr Lys Arg Tyr Leu Pro
1665 1670 1675 1680
Ala Ile Val Arg Glu Ala Ile Lys Arg Gly Leu Arg Thr Leu Ile Leu
1685 1690 1695
Ala Pro Thr Arg Val Val Ala Ala Glu Met Glu Glu Ala Leu Arg Gly
1700 1705 1710
Leu Pro Ile Arg Tyr Gln Thr Pro Ala Ile Arg Ala Val His Thr Gly
1715 1720 1725
Arg Glu Ile Val Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Met Arg Leu
1730 1735 1740
Leu Ser Pro Val Arg Val Pro Asn Tyr Asn Leu Ile Ile Met Asp Glu
1745 1750 1755 1760
Ala His Phe Thr Asp Pro Ala Ser Ile Ala Ala Arg Gly Tyr Ile Ser
1765 1770 1775
Thr Arg Val Glu Met Gly Glu Ala Ala Gly Ile Phe Met Thr Ala Thr
1780 1785 1790
Pro Pro Gly Ser Arg Asp Pro Phe Pro Gln Ser Asn Ala Pro Ile Ile
1795 1800 1805
Asp Glu Glu Arg Glu Ile Pro Glu Arg Ser Trp Asn Ser Gly His Glu
1810 1815 1820
Trp Val Thr Asp Phe Lys Gly Lys Thr Val Trp Phe Val Pro Ser Ile
1825 1830 1835 1840
Lys Ala Gly Asn Asp Ile Ala Ala Cys Leu Arg Lys Asn Gly Lys Lys
1845 1850 1855
Val Ile Gln Leu Ser Arg Lys Thr Phe Asp Ser Glu Tyr Val Lys Thr
1860 1865 1870
Arg Thr Asn Asp Trp Asp Phe Val Val Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met
1875 1880 1885
Gly Ala Asn Phe Lys Ala Glu Arg Val Ile Asp Pro Arg Arg Cys Met
1890 1895 1900
Lys Pro Val Ile Leu Thr Asp Gly Glu Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly
1905 1910 1915 1920

Pro Met Pro Val Thr His Ser Ser Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Ile
1925 1930 1935
Gly Arg Asn Pro Lys Asn Glu Asn Asp Gln Tyr Ile Tyr Met Gly Glu
1940 1945 1950
Pro Leu Glu Asn Asp Glu Asp Cys Ala His Trp Lys Glu Ala Lys Met
1955 1960 1965
Leu Leu Asp Asn Ile Asn Thr Pro Glu Gly Ile Ile Pro Ser Met Phe
1970 1975 1980
Glu Pro Glu Arg Glu Lys Val Asp Ala Ile Asp Gly Glu Tyr Arg Leu
1985 1990 1995 2000
Arg Gly Glu Ala Arg Lys Thr Phe Val Asp Leu Met Arg Arg Gly Asp
2005 2010 2015
Leu Pro Val Trp Leu Ala Tyr Arg Val Ala Ala Glu Gly Ile Asn Tyr
2020 2025 2030
Ala Asp Arg Arg Trp Cys Phe Asp Gly Val Lys Asn Asn Gln Ile Leu
2035 2040 2045
Glu Glu Asn Val Glu Val Glu Ile Trp Thr Lys Glu Gly Glu Arg Lys
2050 2055 2060
Lys Leu Lys Pro Arg Trp Leu Asp Ala Arg Ile Tyr Ser Asp Pro Leu
2065 2070 2075 2080
Ala Leu Lys Glu Phe Lys Glu Phe Ala Ala Gly Arg Lys Ser Leu Thr
2085 2090 2095
Leu Asn Leu Ile Thr Glu Met Gly Arg Leu Pro Thr Phe Met Thr Gln
2100 2105 2110
Lys Ala Arg Asp Ala Leu Asp Asn Leu Ala Val Leu His Thr Ala Glu
2115 2120 2125
Ala Gly Gly Arg Ala Tyr Asn His Ala Leu Ser Glu Leu Pro Glu Thr
2130 2135 2140
Leu Glu Thr Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ala Thr Val Thr Gly Gly
2145 2150 2155 2160
Ile Phe Leu Phe Leu Met Ser Ala Arg Gly Ile Gly Lys Met Thr Leu

2165	2170	2175
Gly Met Cys Cys Ile Ile Thr Ala Ser Ile Leu Leu Trp Tyr Ala Gln		
2180	2185	2190
Ile Gln Pro His Trp Ile Ala Ala Ser Ile Ile Leu Glu Phe Phe Leu		
2195	2200	2205
Ile Val Leu Leu Ile Pro Glu Pro Glu Lys Gln Arg Thr Pro Gln Asp		
2210	2215	2220
Asn Gln Leu Thr Tyr Val Val Ile Ala Ile Leu Thr Val Val Ala Ala		
2225	2230	2235
		2240
Thr Met Ala Asn Glu Met Gly Phe Leu Glu Lys Thr Lys Lys Asp Leu		
2245	2250	2255
Gly Leu Gly Ser Ile Ala Thr Gln Gln Pro Glu Ser Asn Ile Leu Asp		
2260	2265	2270
Ile Asp Leu Arg Pro Ala Ser Ala Trp Thr Leu Tyr Ala Val Ala Thr		
2275	2280	2285
Thr Phe Val Thr Pro Met Leu Arg His Ser Ile Glu Asn Ser Ser Val		
2290	2295	2300
Asn Val Ser Leu Thr Ala Ile Ala Asn Gln Ala Thr Val Leu Met Gly		
2305	2310	2315
		2320
Leu Gly Lys Gly Trp Pro Leu Ser Lys Met Asp Ile Gly Val Pro Leu		
2325	2330	2335
Leu Ala Ile Gly Cys Tyr Ser Gln Val Asn Pro Ile Thr Leu Thr Ala		
2340	2345	2350
Ala Leu Phe Leu Leu Val Ala His Tyr Ala Ile Ile Gly Pro Gly Leu		
2355	2360	2365
Gln Ala Lys Ala Thr Arg Glu Ala Gln Lys Arg Ala Ala Ala Gly Ile		
2370	2375	2380
Met Lys Asn Pro Thr Val Asp Gly Ile Thr Val Ile Asp Leu Asp Pro		
2385	2390	2395
		2400
Ile Pro Tyr Asp Pro Lys Phe Glu Lys Gln Leu Gly Gln Val Met Leu		
2405	2410	2415
Leu Val Leu Cys Val Thr Gln Val Leu Met Met Arg Thr Thr Trp Ala		

2420	2425	2430	
Leu Cys Glu Ala Leu Thr	Leu Ala Thr Gly Pro Ile Ser Thr	Leu Trp	
2435	2440	2445	
Glu Gly Asn Pro Gly Arg Phe Trp	Asn Thr Thr Ile Ala Val Ser	Met	
2450	2455	2460	
Ala Asn Ile Phe Arg Gly Ser Tyr	Leu Ala Gly Ala Gly Leu Leu Phe		
2465	2470	2475	2480
Ser Ile Met Lys Asn Thr Thr	Asn Thr Arg Arg Gly Thr Gly	Asn Ile	
2485	2490	2495	
Gly Glu Thr Leu Gly Glu Lys Trp	Lys Ser Arg Leu Asn Ala Leu Gly		
2500	2505	2510	
Lys Ser Glu Phe Gln Ile Tyr Lys	Lys Ser Gly Ile Gln Glu Val Asp		
2515	2520	2525	
Arg Thr Leu Ala Lys Glu Gly Ile	Lys Arg Gly Glu Thr Asp His His		
2530	2535	2540	
Ala Val Ser Arg Gly Ser Ala Lys	Leu Arg Trp Phe Val Glu Arg Asn		
2545	2550	2555	2560
Met Val Thr Pro Glu Gly Lys Val	Val Asp Leu Gly Cys Gly Arg Gly		
2565	2570	2575	
Gly Trp Ser Tyr Tyr Cys Gly Gly	Leu Lys Asn Val Arg Glu Val Lys		
2580	2585	2590	
Gly Leu Thr Lys Gly Gly Pro Gly	His Glu Glu Pro Ile Pro Met Ser		
2595	2600	2605	
Thr Tyr Gly Trp Asn Leu Val Arg	Leu Gln Ser Gly Val Asp Val Phe		
2610	2615	2620	
Phe Ile Pro Pro Glu Lys Cys Asp	Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu		
2625	2630	2635	2640
Ser Ser Pro Asn Pro Thr Val Glu	Ala Gly Arg Thr Leu Arg Val Leu		
2645	2650	2655	
Asn Leu Val Glu Asn Trp Leu Asn	Asn Asn Thr Gln Phe Cys Ile Lys		
2660	2665	2670	

Val Leu Asn Pro Tyr Met Pro Ser Val Ile Glu Lys Met Glu Ala Leu
2675 2680 2685

Gln Arg Lys Tyr Gly Gly Ala Leu Val Arg Asn Pro Leu Ser Arg Asn
2690 2695 2700

Ser Thr His Glu Met Tyr Trp Val Ser Asn Ala Ser Gly Asn Ile Val
2705 2710 2715 2720

Ser Ser Val Asn Met Ile Ser Arg Met Leu Ile Asn Arg Phe Thr Met
2725 2730 2735

Arg Tyr Lys Lys Ala Thr Tyr Glu Pro Asp Val Asp Leu Gly Ser Gly
2740 2745 2750

Thr Arg Asn Ile Gly Ile Glu Ser Glu Ile Pro Asn Leu Asp Ile Ile
2755 2760 2765

Gly Lys Arg Ile Glu Lys Ile Lys Gln Glu His Glu Thr Ser Trp His
2770 2775 2780

Tyr Asp Gln Asp His Pro Tyr Lys Thr Trp Ala Tyr His Gly Ser Tyr
2785 2790 2795 2800

Glu Thr Lys Gln Thr Gly Ser Ala Ser Ser Met Val Asn Gly Val Val
2805 2810 2815

Arg Leu Leu Thr Lys Pro Trp Asp Val Val Pro Met Val Thr Gln Met
2820 2825 2830

Ala Met Thr Asp Thr Thr Pro Phe Gly Gln Gln Arg Val Phe Lys Glu
2835 2840 2845

Lys Val Asp Thr Arg Thr Gln Glu Pro Lys Glu Gly Thr Lys Lys Leu
2850 2855 2860

Met Lys Ile Thr Ala Glu Trp Leu Trp Lys Glu Leu Gly Lys Lys Lys
2865 2870 2875 2880

Thr Pro Arg Met Cys Thr Arg Glu Glu Phe Thr Arg Lys Val Arg Ser
2885 2890 2895

Asn Ala Ala Leu Gly Ala Val Phe Thr Asp Glu Asn Lys Trp Lys Ser
2900 2905 2910

Ala Arg Glu Ala Val Glu Asp Ser Arg Phe Trp Glu Leu Val Asp Lys
2915 2920 2925

Glu Arg Asn Leu His Leu Glu Gly Lys Cys Glu Thr Cys Val Tyr Asn
 2930 2935 2940
 Met Met Gly Lys Arg Glu Lys Lys Leu Gly Glu Phe Gly Lys Ala Lys
 2945 2950 2955 2960

 Gly Ser Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala Arg Phe Leu Glu
 2965 2970 2975
 Phe Glu Ala Leu Gly Phe Leu Asn Glu Asp His Trp Phe Ser Arg Glu
 2980 2985 2990
 Asn Ser Leu Ser Gly Val Glu Gly Glu Gly Leu His Lys Leu Gly Tyr
 2995 3000 3005
 Ile Leu Arg Asp Val Ser Lys Lys Glu Gly Gly Ala Met Tyr Ala Asp
 3010 3015 3020
 Asp Thr Ala Gly Trp Asp Thr Arg Ile Thr Leu Glu Asp Leu Lys Asn

 3025 3030 3035 3040
 Glu Glu Met Val Thr Asn His Met Glu Gly Glu His Lys Lys Leu Ala
 3045 3050 3055
 Glu Ala Ile Phe Lys Leu Thr Tyr Gln Asn Lys Val Val Arg Val Gln
 3060 3065 3070
 Arg Pro Thr Pro Arg Gly Thr Val Met Asp Ile Ile Ser Arg Arg Asp
 3075 3080 3085
 Gln Arg Gly Ser Gly Gln Val Gly Thr Tyr Gly Leu Asn Thr Phe Thr
 3090 3095 3100

 Asn Met Glu Ala Gln Leu Ile Arg Gln Met Glu Gly Glu Gly Val Phe
 3105 3110 3115 3120
 Lys Ser Ile Gln His Leu Thr Ile Thr Glu Glu Ile Ala Val Gln Asn
 3125 3130 3135
 Trp Leu Ala Arg Val Gly Arg Glu Arg Leu Ser Arg Met Ala Ile Ser
 3140 3145 3150
 Gly Asp Asp Cys Val Val Lys Pro Leu Asp Asp Arg Phe Ala Ser Ala
 3155 3160 3165
 Leu Thr Ala Leu Asn Asp Met Gly Lys Ile Arg Lys Asp Ile Gln Gln

3170 3175 3180
 Trp Glu Pro Ser Arg Gly Trp Asn Asp Trp Thr Gln Val Pro Phe Cys
 3185 3190 3195 3200
 Ser His His Phe His Glu Leu Ile Met Lys Asp Gly Arg Val Leu Val
 3205 3210 3215
 Val Pro Cys Arg Asn Gln Asp Glu Leu Ile Gly Arg Ala Arg Ile Ser
 3220 3225 3230
 Gln Gly Ala Gly Trp Ser Leu Arg Glu Thr Ala Cys Leu Gly Lys Ser
 3235 3240 3245

 Tyr Ala Gln Met Trp Ser Leu Met Tyr Phe His Arg Arg Asp Leu Arg
 3250 3255 3260
 Leu Ala Ala Asn Ala Ile Cys Ser Ala Val Pro Ser His Trp Val Pro
 3265 3270 3275 3280
 Thr Ser Arg Thr Thr Trp Ser Ile His Ala Lys His Glu Trp Met Thr
 3285 3290 3295
 Thr Glu Asp Met Leu Thr Val Trp Asn Arg Val Trp Ile Gln Glu Asn
 3300 3305 3310
 Pro Trp Met Glu Asp Lys Thr Pro Val Glu Ser Trp Glu Glu Ile Pro

 3315 3320 3325
 Tyr Leu Gly Lys Arg Glu Asp Gln Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly Leu
 3330 3335 3340
 Thr Ser Arg Ala Thr Trp Ala Lys Asn Ile Gln Ala Ala Ile Asn Gln
 3345 3350 3355 3360
 Val Arg Ser Leu Ile Gly Asn Glu Glu Tyr Thr Asp Tyr Met Pro Ser
 3365 3370 3375
 Met Lys Arg Phe Arg Arg Glu Glu Glu Glu Ala Gly Val Leu Trp
 3380 3385 3390

<210> 7

<211> 10717

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dengue virus serotype 3, BVS

<400> 7

agttgttagt ctacgtggac cgacaaagac agattctttg agggagctaa gctcaatgta	60
gttctaacag ttttttaatt agagagcaga tctctgatga ataaccaacg gaaaaaggcg	120
aaaaacacgc ctttcaatat gctgaaacgc gagagaaacc gcgtgtcgac tgtgcaacag	180
ctgacaaaga gattctcact tggaaatctg cagggacgag gaccattaaa actgttcattg	240
gccctgggtg cgttccttcg tttcctaaca atcccaccaa cagcagggat attgaagaga	300
tggggaacaa ttaaaaaatc aaaagctatt aatgttttga gagggttcag gaaagagatt	360
ggaaggatgc tgaacatctt gaataggaga cgcagatctg caggcatgat cattatgctg	420
attccaacag tgatggcggt ccatttaacc acgcgtgatg gagagccgcg catgattgtg	480
gggaagaatg aaagaggaaa atccctactt ttcaagacag cctctggaat caacatgtgc	540
acactcatag ctatggatct gggagagatg tgtgatgaca cggtcactta caaatgcccc	600
cacattaccg aagtggagcc tgaagacatt gactgctggt gcaaccttac atcgacatgg	660
gtgacttatg gaacatgcaa tcaagctgga gagcatagac gcgataagag atcagtggcg	720
ttagctcccc atgttggcat gggactggac acacgcactc aaacctggat gtcggctgaa	780
ggagcttgga gacaagtcca gaaggtagag acatgggccc ttaggcaccc agggtttacc	840
atactagccc tatttcttgc ccattacata ggcacttctt tgacccagaa agtggttatt	900
tttatactat taatgctggt taccatccac atgacaatga gatgtgtagg agtaggaaac	960
agagattttg tggaaggcct atcgggagct acgtgggttg acgtggtgct cgagcacggt	1020
gggtgtgtga ctacatggc taagaacaag cccacgtgg acatagagct tcagaagacc	1080
gaggccaccc aactggcgac cctaaggaag ctatgcattg agggaaaaat taccaacata	1140
acaaccgact caagatgtcc cacccaaggg gaagcgattt tacctgagga gcaggaccag	1200
aactacgtgt gtaagcatac atacgtggac agaggctggg gaaacggttg tggtttgttt	1260
ggcaagggaa gcttggtagc atgcgcgaaa tttcaatgtt tagaatcaat agagggaaaa	1320
gtggtgcaac atgagaacct caaatacacc gtcatcatca cagtgcacac aggagaccaa	1380
caccaggtgg gaaatgaaac gcaggagtc acggctgaga taacacccca ggcatacaac	1440
gctgaagcca tttacctga atatggaacc ctgggctag aatgctcacc acggacaggt	1500
ttggatttca atgaaatgat ctcatgaca atgaagaaca aagcatggat ggtacataga	1560
caatggttct ttgacttacc cctaccatgg acatcaggag cttcagcaga aacaccaact	1620
tggaacagga aagagcttct tgtgacattt aaaaatgcac atgcaaaaaa gcaagaagta	1680
gttgttcttg gatcacaaga gggagcaatg catacagcac tgacaggagc tacagagatc	1740
caaacctcag gaggcacaag tatctttgcg gggcacttaa aatglagact caagatggac	1800

aaattggaac tcaaggggat gagctatgca atgtgcttga gtagctttgt gttgaagaaa	1860
gaagtctccg aaacgcagca tgggacaata ctcatlaagg ttgagtacaa aggggaagat	1920
gcacctgca agattccttt ctccacggag gatggacaag gaaaagctct caatggcaga	1980
ctgatcacag ccaatccagt ggtgaccaag aaggaggagc ctgtcaacat tgaggctgaa	2040
cctccttttg gagaaagtaa catagtaatt ggaattggag acaaagccct gaaaatcaac	2100
tggtacaaga agggaagctc gattgggaag atgttcgagg ccaactgccag aggtgcaagg	2160
cgcattggcca tcttgggaga cacagcctgg gactttggat cagtgggtgg tgttttgaat	2220
tcattaggga aaatggtcca ccaaatattt gggagtgtct acacagccct atttgggtga	2280
gtctcttga tgatgaaat tggaataggt gtctctttaa cctggatagg gttgaactca	2340
aaaaatactt ctatgtcatt ttcatgcac gcggccggca ttgtgacact gtatttggga	2400
gtcatggtgc agccgatag tggttgcgtt gtgagctgga aaaacaaaga actgaaatgt	2460
ggcagtggga ttttcatcac agacaacgtg cacacatgga cagaacaata caagttccaa	2520
ccagaatccc cttcaaaact agcttcagct atccagaaag cccatgaaga ggacatttgt	2580
ggaatccgtc cagtaacaag actggagaat ctgatgtgga aacaaataac accagaattg	2640
aatcacattc tatcagaaaa tgaggtaag ttaactatta tgacaggaga catcaaagga	2700
atcatgcagg caggaaaacg atctctgcgg cctcagccca ctgagctgaa gtattcatgg	2760
aaaacatggg gcaaagcaaa aatgtctctc acagagcttc ataaccagac ctttctcatt	2820
gatggcccg aaacagcaga atgccccaac acaaatagag ctggaattc gttggaagtt	2880
gaagactatg gctttggagt attcaccacc aatataaggc taaaattgaa agaaaaacag	2940
gatgtattct gcgactcaaa actcatgtca gcggccataa aagacaacag agccgtccat	3000
gccgatattg gttattggat agaaagtga ctcaatgaca catggaagat agagaaagcc	3060
tctttcattg aagttaaaaa ctgccactgg ccaaaatcac acaccctctg gagcaatgga	3120
gtgctagaaa gtgagatgat aattccaaag aatctcgtg gaccagtgtc tcaacacaac	3180
tatagaccag gctaccatac acaataaca ggaccatggc atctaggtaa gcttgagatg	3240
gactttgatt tctgtgatgg aacaacagtg gtagtgactg aggactgcgg aaatagagga	3300
ccctctttga gaacaaccac tgcctctgga aaactcataa cagaatgggt ctgccgatct	3360
tgacattac caccgctaag atacagaggt gaggatgggt gctggtacgg gatggaatc	3420
agaccattga aggagaaaga agagaatttg gtcaactcct tggtcacagc tggacatggg	3480
caggtcgaca acttttact aggagtcttg ggaatggcat tgttcctgga ggaaatgctt	3540
aggacccgag taggaacgaa acatgcaata ctactagttg cagtttcttt tgtgacattg	3600

atcacaggga acatgtcctt tagagacctg ggaagagtga tggttatggt aggcgccact	3660
atgacggatg acataggtat gggcgtgact tatcttgccc tactagcagc cttcaaagtc	3720
agaccaactt ttgcagctgg actactcttg agaaagctga cctccaagga attgatgatg	3780
actactatag gaattgtact cctctcccag agcaccatac cagagaccat tcttgagttg	3840
actgatgcgt tagccttagg catgatggtc ctcaaatgg tgagaaatat ggaagagtat	3900
caattggcag tgactatcat ggctatcttg tgcgtccaa acgcagtgat attacaaaac	3960
gcatggaaag tgagttgcac aatattggca gtggtgtccg tttccccact gttcttaaca	4020
tcctcacagc aaaaaacaga ttggatacca ttagcatgta cgatcaaagg tctcaatcca	4080
acagctatth ttctaacaac cctctcaaga accagcaaga aaaggagctg gccattaaat	4140
gaggctatca tggcagtcgg gatggtgagc attttagcca gttctctcct aaaaaatgat	4200
attcccatga caggaccatt agtggctgga gggctcctca ctgtgtgcta cgtgctcact	4260
ggacgatcgg ccgatttga actggagaga gcagccgatg tcaaatggga agaccaggca	4320
gagatatcag gaagcagtc aatcctgtca ataacaatat cagaagatgg tagcatgtcg	4380
ataaaaaatg aagaggaaga acaaacactg accatactca ttagaacagg attgctggtg	4440
atctcaggac ttttctctgt atcaatacca atcacggcag cagcatggta cctgtgggaa	4500
gtgaagaaac aacgggccgg agtatgttg gatgttctt cacccccacc catgggaaag	4560
gctgaactgg aagatggagc ctatagaatt aagcaaaaag ggattcttgg atattcccag	4620
atcggagccg gaggtttaca agaaggaaca ttccatacaa tgtggcatgt cacacgtggc	4680
gctgttctaa tgcataaagg aaagaggatt gaaccatcat gggcggacgt caagaaagac	4740
ctaatatcat atggaggagg ctggaagtta gaaggagaat ggaaggaagg agaagaagtc	4800
caggtattgg cactggagcc tggaaaaaat ccaagagccg tccaaacgaa acctggtctt	4860
ttcaaaaacca acgccggaac aataggtgct gtatctctgg acttttctcc tggaacgtca	4920
ggatctccaa ttatcgacaa aaaaggaaaa gttgtgggtc tttatggtaa tgggtgtgtt	4980
acaaggagtg gagcatatgt gattgctata gccagactg aaaaaagcat tgaagacaac	5040
ccagagatcg aagatgacat ttccgaaaag agaagactga ccatcatgga cctccacca	5100
ggagcgggaa agacgaagag ataccttccg gccatagtca gagaagctat aaacggggt	5160
ttgagaacat taatcttggc cccactaga gttgtggcag ctgaaatgga ggaagccctt	5220
agaggacttc caataagata ccagacccca gccatcagag ctgtgcacac cgggcgggag	5280
attgtggacc taatgtgtca tgccacattt accatgaggc tgctatcacc agttagagtg	5340

ccaaactaca acctgattat catggacgaa gccatttca cagaccagc aagtatagca	5400
gctagaggat acatctcaac tcgagtggag atgggtgagg cagctgggat ttttatgaca	5460
gccactcccc cggaagcag agaccattt cctcagagca atgcaccaat catagatgaa	5520
gaaagagaaa tccctgaacg ctctggaat tccggacatg aatgggtcac ggattttaaa	5580
gggaagactg tttggttcgt tccaagtata aaagcaggaa atgatatagc agcttgccctg	5640
aggaaaaatg gaaagaaagt gatacaactc agtaggaaga cctttgattc tgagtatgtc	5700
aagactagaa ccaatgattg ggacttcgtg gttacaactg acatttcaga aatgggtgcc	5760
aatttcaagg ctgagagggt tatagacccc agacgctgca tgaaaccagt catactaaca	5820
gatggtgaag agcgggtgat tctggcagga cctatgccag tgaccactc tagtgcagca	5880
caaagaagag ggagaatagg aagaaatcca aaaaatgaga atgaccagta catatacatg	5940
ggggaacctc tgaaaaatga tgaagactgt gcacactgga aagaagctaa aatgctccta	6000
gataacatca acacgccaga aggaatcatt cctagcatgt tcgaaccaga gcgtgaaaag	6060
gtggatgcc a ttgatggcg ataccgcttg agaggagaag caaggaaaac cttttagtagc	6120
ttaatgagaa gaggagacct accagtctgg ttggcctaca gagtggcagc tgaaggcatc	6180
aactacgcag acagaagggt gtgttttgat ggagtcaaga acaaccaa cctagaagaa	6240
aacgtggaag ttgaaatctg gacaaaagaa ggggaaagga agaaattgaa acccagatgg	6300
ttggatgcta ggatctattc tgaccactg gcgctaaaag aatttaagga atttgcagcc	6360
ggaagaaagt ctctgacct gaacctaatc acagaaatgg gtaggctccc aaccttcag	6420
actcagaagg caagaaacgc actggacaac ttagcagtgc tgcacacggc tgaggcaggt	6480
ggaagggcgt acaacctgc tctcagtga ctgccggaga ccctggagac attgctttta	6540
ctgacacttc tggtacagt cacgggaggg atctttttat tcttgatgag cgcaaggggc	6600
ataggaaga tgacctggg aatgtgctgc ataatacagg ctagcatcct cctatggtac	6660
gcacaaatac agccacctg gatagcagct tcaataatac tggagttttt tctcatagtt	6720
ttgcttattc cagaacctga aaaacagaga acacccaag acaaccaact gacctacgtt	6780
gtcatagcca tctcagagt ggtggccgca accatggcaa acgagatggg tttcctagaa	6840
aaaacgaaga aagatctcgg attgggaagc attgcaacc agcaaccga gagcaacatc	6900
ctggacatag atctacgtc tgcacagca tggacgtgt atgccgtggc cacaacattt	6960
gttacaccaa tgttagaca tagcattgaa aattcctcag tgaatgtgtc cctaacagct	7020
atagccaacc aagccacagt gttaatgggt ctcggaag gatggccatt gtcaaagatg	7080
gacatcggag ttccccctct cgccattgga tgetactcac aagtcaacc cataactctc	7140
acagcagctc ttttcttatt ggtagcacat tatgccatca tagggccagg actccaagca	7200

aaagcaacca gagaagctca gaaaagagca gcggcgggca tcatgaaaaa cccaactgtc	7260
gatggaataa cagtattga cctagatcca ataccttatg atccaaagtt tgaaaagcag	7320
ttgggacaag taatgctcct agtcctctgc gtgactcaag tattgatgat gaggactaca	7380
tgggctctgt gtgaggcttt aaccttagct accgggcccc tctccacatt gtgggaagga	7440
aatccaggga ggttttgga cactaccatt gcggtgtcaa tggctaacat ttttagagg	7500
agttacttgg ccggagctgg acttctcttt tctattatga agaacacaac caacacaaga	7560
aggggaactg gcaacatagg agagacgctt ggagagaaat ggaaaagccg attgaacgcg	7620
ttgggaaaaa gtgaattcca gatctacaag aaaagtggaa tccaggaagt ggatagaacc	7680
ttagcaaaag aaggcattaa aagaggagaa acggaccatc acgtgtgtc gcgaggctca	7740
gcaaaactga gatggttcgt tgagagaaac atggtcacac cagaaggga agtagtgac	7800
ctcggttgtg gcagaggagg ctggtcatac tattgtggag gactaaagaa tgtaagagaa	7860
gtcaaaggcc taacaaaagg aggaccagga cacgaagaac ccatcccat gtcaacatat	7920
gggtggaatc tagtgcgtct tcaaagtga gttgacgttt tcttcatccc gccagaaaag	7980
tgtgacacat tattgtgtga cataggggag tcatcacaa atccacagt ggaagcagga	8040
cgaacactca gatlccitaa cttagtagaa aattggttga acaacaacac tcaattttgc	8100
ataaaggttc tcaaccata tatgcctca gtcatagaaa aaatggaagc actacaaagg	8160
aaatatggag gaggccttagt gaggaatcca ctctacgaa actccacaca tgagatgtac	8220
tgggtatcca atgcttccgg gaacatagtg tcatcagtga acatgatttc aaggatgttg	8280
atcaacagat ttacaatgag atacaagaaa gccacttacg agccggatgt tgacctcgga	8340
agcggaaacc gtaacatcgg gattgaaagt gagatacaa acctagatat aattgggaaa	8400
agaatagaaa aaataaagca agagcatgaa acatcatggc actatgacca agaccacca	8460
tacaaaacgt gggcatacca tggtagctat gaaacaaaac agactggatc agcatcatcc	8520
atggtcaacg gatlgttcag gctgtgaca aaaccttggg acgtcgtccc catggtgaca	8580
cagatggcaa tgacagacac gactccattt ggacaacagc gcgtttttaa agagaaagt	8640
gacacgagaa cccaagaacc gaaagaaggc acgaagaaac taatgaaaat aacagcagag	8700
tggcttttga aagaattagg gaagaaaaag acaccagga tgtgcaccag agaagaattc	8760
acaagaaagg tgagaagcaa tgcagccttg ggggccatat tcatgatga gaacaagtgg	8820
aagtcggcac gtgaggctgt tgaagatagt aggttttggg agctggttga caaggaaagg	8880
aatctccatc ttgaaggaaa gtgtgaaaca tgttgttaca acatgatggg aaaaagagag	8940
aagaagctag gggaattcgg caaggcaaaa ggcagcagag ccatatggta catgtggctt	9000
ggagcacgct tcttagattt tgaagcccta ggattcttaa atgaagatca ctggttctcc	9060

agagagaact ccctgagtgg agtgggaagga gaagggtgc acaagctagg ttacattcta 9120

agagacgtga gcaagaaaga gggaggagca atgtatgccg atgacaccgc aggatgggat 9180

acaagaatca cactagaaga cctaaaaaat gaagaaatgg taacaaacca catggaagga 9240

gaacacaaga aactagccga ggccattttc aaactaacgt accaaaacaa ggtggtgcgt 9300

gtgcaaagac caacaccaag aggcacagta atggacatca tatcgagaag agaccaaaga 9360

ggtagtggac aagtggcac ctatggactc aatattttca ccaatatgga agcccaacta 9420

atcagacaga tggagggaga aggagtcttt aaaagcattc agcacctaac aatcacagaa 9480

gaaatcgctg tgcaaaactg gttagcaaga gtggggcgcg aaaggttatc aagaatggcc 9540

atcagtggag atgattgtgt tgtgaaacct ttagatgaca ggttcgcaag cgctttaaca 9600

gctctaatg acatgggaaa gattaggaag gacatacaac aatgggaacc ttcaagagga 9660

tggaatgatt ggacacaagt gcccttctgt tcacaccatt tccatgagtt aatcatgaaa 9720

gacggtcgcg tactcgttgt tccatgtaga aaccaagatg aactgattgg cagagcccga 9780

atctcccaag gagcagggtg gtctttgcgg gagacggcct gtttggggaa gtcttacgcc 9840

caaatgtgga gcttgatgta ctccacaga cgcgacctca ggctggcggc aaatgctatt 9900

tgctcgccag taccatcaca ttgggttcca acaagtcgaa caacctggtc catacatgct 9960

aaacatgaat ggatgacaac ggaagacatg ctgacagtct ggaacagggt gtggattcaa 10020

gaaaacccat ggatggaaga caaaactcca gtggaatcat gggaggaaat cccatacttg 10080

gggaaaagag aagaccaatg gtgcggctca ttgattgggt taacaagcag ggccacctgg 10140

gcaaagaaca tccaagcagc aataaatcaa gttagatccc ttataggcaa tgaagaatac 10200

acagattaca tgccatccat gaaaagattc agaagagaag aggaagaagc aggagtcttg 10260

tggtagaag caaaactaac atgaacaag gctagaagtc aggtcggatt aagccatagt 10320

acggaaaaaa ctatgctacc tgtgagcccc gtccaaggac gttaaaagaa gtcaggccat 10380

cataaatgcc atagcttgag taaactatgc agcctgtagc tccacctgag aaggtgtaaa 10440

aatccggga ggccacaaac catggaagct gtacgcatgg cgtagtggac tagcggttag 10500

aggagacccc tcctttacaa atcgcagcaa caatgggggc ccaaggcgag atgaagctgt 10560

agtctcgctg gaaggactag aggttagagg agaccccc gaaacaaaa acagcatatt 10620

gacgtggga aagaccagag atectgctgt ctctcagca tcattccagg cacagaacgc 10680

cagaaaatgg aatggtgctg ttgaatcaac aggttct 10717

<210> 8

<211> 3389

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dengue virus serotype 3, BVS

<400> 8

Met Asn Asn Gln Arg Lys Lys Ala Lys Asn Thr Pro Phe Asn Met Leu

1 5 10 15

Lys Arg Glu Arg Asn Arg Val Ser Thr Val Gln Gln Leu Thr Lys Arg

20 25 30

Phe Ser Leu Gly Met Leu Gln Gly Arg Gly Pro Leu Lys Leu Phe Met

35 40 45

Ala Leu Val Ala Phe Leu Arg Phe Leu Thr Ile Pro Pro Thr Ala Gly

50 55 60

Ile Leu Lys Arg Trp Gly Thr Ile Lys Lys Ser Lys Ala Ile Asn Val

65 70 75 80

Leu Arg Gly Phe Arg Lys Glu Ile Gly Arg Met Leu Asn Ile Leu Asn

85 90 95

Arg Arg Arg Arg Ser Ala Gly Met Ile Ile Met Leu Ile Pro Thr Val

100 105 110

Met Ala Phe His Leu Thr Thr Arg Asp Gly Glu Pro Arg Met Ile Val

115 120 125

Gly Lys Asn Glu Arg Gly Lys Ser Leu Leu Phe Lys Thr Ala Ser Gly

130 135 140

Ile Asn Met Cys Thr Leu Ile Ala Met Asp Leu Gly Glu Met Cys Asp

145 150 155 160

Asp Thr Val Thr Tyr Lys Cys Pro His Ile Thr Glu Val Glu Pro Glu

165 170 175

Asp Ile Asp Cys Trp Cys Asn Leu Thr Ser Thr Trp Val Thr Tyr Gly

180 185 190

Thr Cys Asn Gln Ala Gly Glu His Arg Arg Asp Lys Arg Ser Val Ala

195 200 205

Leu Ala Pro His Val Gly Met Gly Leu Asp Thr Arg Thr Gln Thr Trp

210 215 220
 Met Ser Ala Glu Gly Ala Trp Arg Gln Val Glu Lys Val Glu Thr Trp
 225 230 235 240
 Ala Leu Arg His Pro Gly Phe Thr Ile Leu Ala Leu Phe Leu Ala His
 245 250 255
 Tyr Ile Gly Thr Ser Leu Thr Gln Lys Val Val Ile Phe Ile Leu Leu
 260 265 270

 Met Leu Val Thr Pro Ser Met Thr Met Arg Cys Val Gly Val Gly Asn
 275 280 285
 Arg Asp Phe Val Glu Gly Leu Ser Gly Ala Thr Trp Val Asp Val Val
 290 295 300
 Leu Glu His Gly Gly Cys Val Thr Thr Met Ala Lys Asn Lys Pro Thr
 305 310 315 320
 Leu Asp Ile Glu Leu Gln Lys Thr Glu Ala Thr Gln Leu Ala Thr Leu
 325 330 335
 Arg Lys Leu Cys Ile Glu Gly Lys Ile Thr Asn Ile Thr Thr Asp Ser

 340 345 350
 Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Ala Ile Leu Pro Glu Glu Gln Asp Gln
 355 360 365
 Asn Tyr Val Cys Lys His Thr Tyr Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly
 370 375 380
 Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Ser Leu Val Thr Cys Ala Lys Phe Gln
 385 390 395 400
 Cys Leu Glu Ser Ile Glu Gly Lys Val Val Gln His Glu Asn Leu Lys
 405 410 415

 Tyr Thr Val Ile Ile Thr Val His Thr Gly Asp Gln His Gln Val Gly
 420 425 430
 Asn Glu Thr Gln Gly Val Thr Ala Glu Ile Thr Pro Gln Ala Ser Thr
 435 440 445
 Ala Glu Ala Ile Leu Pro Glu Tyr Gly Thr Leu Gly Leu Glu Cys Ser
 450 455 460
 Pro Arg Thr Gly Leu Asp Phe Asn Glu Met Ile Ser Leu Thr Met Lys

465 470 475 480
 Asn Lys Ala Trp Met Val His Arg Gln Trp Phe Phe Asp Leu Pro Leu

 485 490 495
 Pro Trp Thr Ser Gly Ala Ser Ala Glu Thr Pro Thr Trp Asn Arg Lys
 500 505 510
 Glu Leu Leu Val Thr Phe Lys Asn Ala His Ala Lys Lys Gln Glu Val
 515 520 525
 Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Met His Thr Ala Leu Thr Gly
 530 535 540
 Ala Thr Glu Ile Gln Thr Ser Gly Gly Thr Ser Ile Phe Ala Gly His
 545 550 555 560

 Leu Lys Cys Arg Leu Lys Met Asp Lys Leu Glu Leu Lys Gly Met Ser
 565 570 575
 Tyr Ala Met Cys Leu Ser Ser Phe Val Leu Lys Lys Glu Val Ser Glu
 580 585 590
 Thr Gln His Gly Thr Ile Leu Ile Lys Val Glu Tyr Lys Gly Glu Asp
 595 600 605
 Ala Pro Cys Lys Ile Pro Phe Ser Thr Glu Asp Gly Gln Gly Lys Ala
 610 615 620
 Leu Asn Gly Arg Leu Ile Thr Ala Asn Pro Val Val Thr Lys Lys Glu

 625 630 635 640
 Glu Pro Val Asn Ile Glu Ala Glu Pro Pro Phe Gly Glu Ser Asn Ile
 645 650 655
 Val Ile Gly Ile Gly Asp Lys Ala Leu Lys Ile Asn Trp Tyr Lys Lys
 660 665 670
 Gly Ser Ser Ile Gly Lys Met Phe Glu Ala Thr Ala Arg Gly Ala Arg
 675 680 685
 Arg Met Ala Ile Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser Val Gly
 690 695 700

 Gly Val Leu Asn Ser Leu Gly Lys Met Val His Gln Ile Phe Gly Ser
 705 710 715 720

Ala Tyr Thr Ala Leu Phe Gly Gly Val Ser Trp Met Met Lys Ile Gly
725 730 735

Ile Gly Val Leu Leu Thr Trp Ile Gly Leu Asn Ser Lys Asn Thr Ser
740 745 750

Met Ser Phe Ser Cys Ile Ala Ala Gly Ile Val Thr Leu Tyr Leu Gly
755 760 765

Val Met Val Gln Ala Asp Ser Gly Cys Val Val Ser Trp Lys Asn Lys
770 775 780

Glu Leu Lys Cys Gly Ser Gly Ile Phe Ile Thr Asp Asn Val His Thr
785 790 795 800

Trp Thr Glu Gln Tyr Lys Phe Gln Pro Glu Ser Pro Ser Lys Leu Ala
805 810 815

Ser Ala Ile Gln Lys Ala His Glu Glu Asp Ile Cys Gly Ile Arg Ser
820 825 830

Val Thr Arg Leu Glu Asn Leu Met Trp Lys Gln Ile Thr Pro Glu Leu
835 840 845

Asn His Ile Leu Ser Glu Asn Glu Val Lys Leu Thr Ile Met Thr Gly
850 855 860

Asp Ile Lys Gly Ile Met Gln Ala Gly Lys Arg Ser Leu Arg Pro Gln
865 870 875 880

Pro Thr Glu Leu Lys Tyr Ser Trp Lys Thr Trp Gly Lys Ala Lys Met
885 890 895

Leu Ser Thr Glu Ser His Asn Gln Thr Phe Leu Ile Asp Gly Pro Glu
900 905 910

Thr Ala Glu Cys Pro Asn Thr Asn Arg Ala Trp Asn Ser Leu Glu Val
915 920 925

Glu Asp Tyr Gly Phe Gly Val Phe Thr Thr Asn Ile Trp Leu Lys Leu
930 935 940

Lys Glu Lys Gln Asp Val Phe Cys Asp Ser Lys Leu Met Ser Ala Ala
945 950 955 960

Ile Lys Asp Asn Arg Ala Val His Ala Asp Met Gly Tyr Trp Ile Glu
965 970 975

Ser Ala Leu Asn Asp Thr Trp Lys Ile Glu Lys Ala Ser Phe Ile Glu
980 985 990

Val Lys Asn Cys His Trp Pro Lys Ser His Thr Leu Trp Ser Asn Gly
995 1000 1005

Val Leu Glu Ser Glu Met Ile Ile Pro Lys Asn Leu Ala Gly Pro Val
1010 1015 1020

Ser Gln His Asn Tyr Arg Pro Gly Tyr His Thr Gln Ile Thr Gly Pro
1025 1030 1035 1040

Trp His Leu Gly Lys Leu Glu Met Asp Phe Asp Phe Cys Asp Gly Thr
1045 1050 1055

Thr Val Val Val Thr Glu Asp Cys Gly Asn Arg Gly Pro Ser Leu Arg
1060 1065 1070

Thr Thr Thr Ala Ser Gly Lys Leu Ile Thr Glu Trp Cys Cys Arg Ser
1075 1080 1085

Cys Thr Leu Pro Pro Leu Arg Tyr Arg Gly Glu Asp Gly Cys Trp Tyr
1090 1095 1100

Gly Met Glu Ile Arg Pro Leu Lys Glu Lys Glu Glu Asn Leu Val Asn
1105 1110 1115 1120

Ser Leu Val Thr Ala Gly His Gly Gln Val Asp Asn Phe Ser Leu Gly
1125 1130 1135

Val Leu Gly Met Ala Leu Phe Leu Glu Glu Met Leu Arg Thr Arg Val
1140 1145 1150

Gly Thr Lys His Ala Ile Leu Leu Val Ala Val Ser Phe Val Thr Leu
1155 1160 1165

Ile Thr Gly Asn Met Ser Phe Arg Asp Leu Gly Arg Val Met Val Met
1170 1175 1180

Val Gly Ala Thr Met Thr Asp Asp Ile Gly Met Gly Val Thr Tyr Leu
1185 1190 1195 1200

Ala Leu Leu Ala Ala Phe Lys Val Arg Pro Thr Phe Ala Ala Gly Leu
1205 1210 1215

Leu Leu Arg Lys Leu Thr Ser Lys Glu Leu Met Met Thr Thr Ile Gly

1220	1225	1230	
Ile Val Leu Leu Ser Gln Ser Thr Ile Pro Glu Thr Ile Leu Glu Leu			
1235	1240	1245	
Thr Asp Ala Leu Ala Leu Gly Met Met Val Leu Lys Met Val Arg Asn			
1250	1255	1260	
Met Glu Lys Tyr Gln Leu Ala Val Thr Ile Met Ala Ile Leu Cys Val			
1265	1270	1275	1280
Pro Asn Ala Val Ile Leu Gln Asn Ala Trp Lys Val Ser Cys Thr Ile			
1285	1290	1295	
Leu Ala Val Val Ser Val Ser Pro Leu Phe Leu Thr Ser Ser Gln Gln			
1300	1305	1310	
Lys Thr Asp Trp Ile Pro Leu Ala Leu Thr Ile Lys Gly Leu Asn Pro			
1315	1320	1325	
Thr Ala Ile Phe Leu Thr Thr Leu Ser Arg Thr Ser Lys Lys Arg Ser			
1330	1335	1340	
Trp Pro Leu Asn Glu Ala Ile Met Ala Val Gly Met Val Ser Ile Leu			
1345	1350	1355	1360
Ala Ser Ser Leu Leu Lys Asn Asp Ile Pro Met Thr Gly Pro Leu Val			
1365	1370	1375	
Ala Gly Gly Leu Leu Thr Val Cys Tyr Val Leu Thr Gly Arg Ser Ala			
1380	1385	1390	
Asp Leu Glu Leu Glu Arg Ala Ala Asp Val Lys Trp Glu Asp Gln Ala			
1395	1400	1405	
Glu Ile Ser Gly Ser Ser Pro Ile Leu Ser Ile Thr Ile Ser Glu Asp			
1410	1415	1420	
Gly Ser Met Ser Ile Lys Asn Glu Glu Glu Glu Gln Thr Leu Thr Ile			
1425	1430	1435	1440
Leu Ile Arg Thr Gly Leu Leu Val Ile Ser Gly Leu Phe Pro Val Ser			
1445	1450	1455	
Ile Pro Ile Thr Ala Ala Ala Trp Tyr Leu Trp Glu Val Lys Lys Gln			
1460	1465	1470	
Arg Ala Gly Val Leu Trp Asp Val Pro Ser Pro Pro Pro Met Gly Lys			

1475 1480 1485
Ala Glu Leu Glu Asp Gly Ala Tyr Arg Ile Lys Gln Lys Gly Ile Leu

1490 1495 1500
Gly Tyr Ser Gln Ile Gly Ala Gly Val Tyr Lys Glu Gly Thr Phe His
1505 1510 1515 1520

Thr Met Trp His Val Thr Arg Gly Ala Val Leu Met His Lys Gly Lys
1525 1530 1535

Arg Ile Glu Pro Ser Trp Ala Asp Val Lys Lys Asp Leu Ile Ser Tyr
1540 1545 1550

Gly Gly Gly Trp Lys Leu Glu Gly Glu Trp Lys Glu Gly Glu Glu Val
1555 1560 1565

Gln Val Leu Ala Leu Glu Pro Gly Lys Asn Pro Arg Ala Val Gln Thr
1570 1575 1580

Lys Pro Gly Leu Phe Lys Thr Asn Ala Gly Thr Ile Gly Ala Val Ser
1585 1590 1595 1600

Leu Asp Phe Ser Pro Gly Thr Ser Gly Ser Pro Ile Ile Asp Lys Lys
1605 1610 1615

Gly Lys Val Val Gly Leu Tyr Gly Asn Gly Val Val Thr Arg Ser Gly
1620 1625 1630

Ala Tyr Val Ser Ala Ile Ala Gln Thr Glu Lys Ser Ile Glu Asp Asn

1635 1640 1645
Pro Glu Ile Glu Asp Asp Ile Phe Arg Lys Arg Arg Leu Thr Ile Met

1650 1655 1660
Asp Leu His Pro Gly Ala Gly Lys Thr Lys Arg Tyr Leu Pro Ala Ile

1665 1670 1675 1680
Val Arg Glu Ala Ile Lys Arg Gly Leu Arg Thr Leu Ile Leu Ala Pro

1685 1690 1695
Thr Arg Val Val Ala Ala Glu Met Glu Glu Ala Leu Arg Gly Leu Pro

1700 1705 1710

Ile Arg Tyr Gln Thr Pro Ala Ile Arg Ala Val His Thr Gly Arg Glu

1715 1720 1725

Ile Val Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Met Arg Leu Leu Ser
1730 1735 1740

Pro Val Arg Val Pro Asn Tyr Asn Leu Ile Ile Met Asp Glu Ala His
1745 1750 1755 1760

Phe Thr Asp Pro Ala Ser Ile Ala Ala Arg Gly Tyr Ile Ser Thr Arg
1765 1770 1775

Val Glu Met Gly Glu Ala Ala Gly Ile Phe Met Thr Ala Thr Pro Pro
1780 1785 1790

Gly Ser Arg Asp Pro Phe Pro Gln Ser Asn Ala Pro Ile Ile Asp Glu
1795 1800 1805

Glu Arg Glu Ile Pro Glu Arg Ser Trp Asn Ser Gly His Glu Trp Val
1810 1815 1820

Thr Asp Phe Lys Gly Lys Thr Val Trp Phe Val Pro Ser Ile Lys Ala
1825 1830 1835 1840

Gly Asn Asp Ile Ala Ala Cys Leu Arg Lys Asn Gly Lys Lys Val Ile
1845 1850 1855

Gln Leu Ser Arg Lys Thr Phe Asp Ser Glu Tyr Val Lys Thr Arg Thr
1860 1865 1870

Asn Asp Trp Asp Phe Val Val Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met Gly Ala
1875 1880 1885

Asn Phe Lys Ala Glu Arg Val Ile Asp Pro Arg Arg Cys Met Lys Pro
1890 1895 1900

Val Ile Leu Thr Asp Gly Glu Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly Pro Met
1905 1910 1915 1920

Pro Val Thr His Ser Ser Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Ile Gly Arg
1925 1930 1935

Asn Pro Lys Asn Glu Asn Asp Gln Tyr Ile Tyr Met Gly Glu Pro Leu
1940 1945 1950

Glu Asn Asp Glu Asp Cys Ala His Trp Lys Glu Ala Lys Met Leu Leu
1955 1960 1965

Asp Asn Ile Asn Thr Pro Glu Gly Ile Ile Pro Ser Met Phe Glu Pro
1970 1975 1980

Glu Arg Glu Lys Val Asp Ala Ile Asp Gly Glu Tyr Arg Leu Arg Gly
1985 1990 1995 2000

Glu Ala Arg Lys Thr Phe Val Asp Leu Met Arg Arg Gly Asp Leu Pro
2005 2010 2015

Val Trp Leu Ala Tyr Arg Val Ala Ala Glu Gly Ile Asn Tyr Ala Asp
2020 2025 2030

Arg Arg Trp Cys Phe Asp Gly Val Lys Asn Asn Gln Ile Leu Glu Glu
2035 2040 2045

Asn Val Glu Val Glu Ile Trp Thr Lys Glu Gly Glu Arg Lys Lys Leu
2050 2055 2060

Lys Pro Arg Trp Leu Asp Ala Arg Ile Tyr Ser Asp Pro Leu Ala Leu

2065 2070 2075 2080

Lys Glu Phe Lys Glu Phe Ala Ala Gly Arg Lys Ser Leu Thr Leu Asn
2085 2090 2095

Leu Ile Thr Glu Met Gly Arg Leu Pro Thr Phe Met Thr Gln Lys Ala
2100 2105 2110

Arg Asn Ala Leu Asp Asn Leu Ala Val Leu His Thr Ala Glu Ala Gly
2115 2120 2125

Gly Arg Ala Tyr Asn His Ala Leu Ser Glu Leu Pro Glu Thr Leu Glu
2130 2135 2140

Thr Leu Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ala Thr Val Thr Gly Gly Ile Phe
2145 2150 2155 2160

Leu Phe Leu Met Ser Ala Arg Gly Ile Gly Lys Met Thr Leu Gly Met
2165 2170 2175

Cys Cys Ile Ile Thr Ala Ser Ile Leu Leu Trp Tyr Ala Gln Ile Gln
2180 2185 2190

Pro His Trp Ile Ala Ala Ser Ile Ile Leu Glu Phe Phe Leu Ile Val
2195 2200 2205

Leu Leu Ile Pro Glu Pro Glu Lys Gln Arg Thr Pro Gln Asp Asn Gln

2210 2215 2220

Leu Thr Tyr Val Val Ile Ala Ile Leu Thr Val Val Ala Ala Thr Met

2225 2230 2235 2240
 Ala Asn Glu Met Gly Phe Leu Glu Lys Thr Lys Lys Asp Leu Gly Leu
 2245 2250 2255
 Gly Ser Ile Ala Thr Gln Gln Pro Glu Ser Asn Ile Leu Asp Ile Asp
 2260 2265 2270
 Leu Arg Pro Ala Ser Ala Trp Thr Leu Tyr Ala Val Ala Thr Thr Phe
 2275 2280 2285

 Val Thr Pro Met Leu Arg His Ser Ile Glu Asn Ser Ser Val Asn Val
 2290 2295 2300
 Ser Leu Thr Ala Ile Ala Asn Gln Ala Thr Val Leu Met Gly Leu Gly
 2305 2310 2315 2320
 Lys Gly Trp Pro Leu Ser Lys Met Asp Ile Gly Val Pro Leu Leu Ala
 2325 2330 2335
 Ile Gly Cys Tyr Ser Gln Val Asn Pro Ile Thr Leu Thr Ala Ala Leu
 2340 2345 2350
 Phe Leu Leu Val Ala His Tyr Ala Ile Ile Gly Pro Gly Leu Gln Ala

 2355 2360 2365
 Lys Ala Thr Arg Glu Ala Gln Lys Arg Ala Ala Ala Gly Ile Met Lys
 2370 2375 2380
 Asn Pro Thr Val Asp Gly Ile Thr Val Ile Asp Leu Asp Pro Ile Pro
 2385 2390 2395 2400
 Tyr Asp Pro Lys Phe Glu Lys Gln Leu Gly Gln Val Met Leu Leu Val
 2405 2410 2415
 Leu Cys Val Thr Gln Val Leu Met Met Arg Thr Thr Trp Ala Leu Cys
 2420 2425 2430

 Glu Ala Leu Thr Leu Ala Thr Gly Pro Ile Ser Thr Leu Trp Glu Gly
 2435 2440 2445
 Asn Pro Gly Arg Phe Trp Asn Thr Thr Ile Ala Val Ser Met Ala Asn
 2450 2455 2460
 Ile Phe Arg Gly Ser Tyr Leu Ala Gly Ala Gly Leu Leu Phe Ser Ile
 2465 2470 2475 2480
 Met Lys Asn Thr Thr Asn Thr Arg Arg Gly Thr Gly Asn Ile Gly Glu

2485 2490 2495
Thr Leu Gly Glu Lys Trp Lys Ser Arg Leu Asn Ala Leu Gly Lys Ser

2500 2505 2510
Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Lys Ser Gly Ile Gln Glu Val Asp Arg Thr

2515 2520 2525
Leu Ala Lys Glu Gly Ile Lys Arg Gly Glu Thr Asp His His Ala Val

2530 2535 2540
Ser Arg Gly Ser Ala Lys Leu Arg Trp Phe Val Glu Arg Asn Met Val

2545 2550 2555 2560
Thr Pro Glu Gly Lys Val Val Asp Leu Gly Cys Gly Arg Gly Gly Trp

2565 2570 2575

Ser Tyr Tyr Cys Gly Gly Leu Lys Asn Val Arg Glu Val Lys Gly Leu

2580 2585 2590

Thr Lys Gly Gly Pro Gly His Glu Glu Pro Ile Pro Met Ser Thr Tyr

2595 2600 2605

Gly Trp Asn Leu Val Arg Leu Gln Ser Gly Val Asp Val Phe Phe Ile

2610 2615 2620

Pro Pro Glu Lys Cys Asp Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu Ser Ser

2625 2630 2635 2640

Pro Asn Pro Thr Val Glu Ala Gly Arg Thr Leu Arg Val Leu Asn Leu

2645 2650 2655

Val Glu Asn Trp Leu Asn Asn Asn Thr Gln Phe Cys Ile Lys Val Leu

2660 2665 2670

Asn Pro Tyr Met Pro Ser Val Ile Glu Lys Met Glu Ala Leu Gln Arg

2675 2680 2685

Lys Tyr Gly Gly Ala Leu Val Arg Asn Pro Leu Ser Arg Asn Ser Thr

2690 2695 2700

His Glu Met Tyr Trp Val Ser Asn Ala Ser Gly Asn Ile Val Ser Ser

2705 2710 2715 2720

Val Asn Met Ile Ser Arg Met Leu Ile Asn Arg Phe Thr Met Arg Tyr

2725 2730 2735

Lys Lys Ala Thr Tyr Glu Pro Asp Val Asp Leu Gly Ser Gly Thr Arg
 2740 2745 2750
 Asn Ile Gly Ile Glu Ser Glu Ile Pro Asn Leu Asp Ile Ile Gly Lys
 2755 2760 2765
 Arg Ile Glu Lys Ile Lys Gln Glu His Glu Thr Ser Trp His Tyr Asp
 2770 2775 2780
 Gln Asp His Pro Tyr Lys Thr Trp Ala Tyr His Gly Ser Tyr Glu Thr

 2785 2790 2795 2800
 Lys Gln Thr Gly Ser Ala Ser Ser Met Val Asn Gly Val Val Arg Leu
 2805 2810 2815
 Leu Thr Lys Pro Trp Asp Val Val Pro Met Val Thr Gln Met Ala Met
 2820 2825 2830
 Thr Asp Thr Thr Pro Phe Gly Gln Gln Arg Val Phe Lys Glu Lys Val
 2835 2840 2845
 Asp Thr Arg Thr Gln Glu Pro Lys Glu Gly Thr Lys Lys Leu Met Lys
 2850 2855 2860

 Ile Thr Ala Glu Trp Leu Trp Lys Glu Leu Gly Lys Lys Lys Thr Pro
 2865 2870 2875 2880
 Arg Met Cys Thr Arg Glu Glu Phe Thr Arg Lys Val Arg Ser Asn Ala
 2885 2890 2895
 Ala Leu Gly Ala Ile Phe Thr Asp Glu Asn Lys Trp Lys Ser Ala Arg
 2900 2905 2910
 Glu Ala Val Glu Asp Ser Arg Phe Trp Glu Leu Val Asp Lys Glu Arg
 2915 2920 2925
 Asn Leu His Leu Glu Gly Lys Cys Glu Thr Cys Val Tyr Asn Met Met

 2930 2935 2940
 Gly Lys Arg Glu Lys Lys Leu Gly Glu Phe Gly Lys Ala Lys Gly Ser
 2945 2950 2955 2960
 Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala Arg Phe Leu Glu Phe Glu
 2965 2970 2975
 Ala Leu Gly Phe Leu Asn Glu Asp His Trp Phe Ser Arg Glu Asn Ser
 2980 2985 2990

Leu Ser Gly Val Glu Gly Glu Gly Leu His Lys Leu Gly Tyr Ile Leu
 2995 3000 3005

 Arg Asp Val Ser Lys Lys Glu Gly Gly Ala Met Tyr Ala Asp Asp Thr
 3010 3015 3020
 Ala Gly Trp Asp Thr Arg Ile Thr Leu Glu Asp Leu Lys Asn Glu Glu
 3025 3030 3035 3040
 Met Val Thr Asn His Met Glu Gly Glu His Lys Lys Leu Ala Glu Ala
 3045 3050 3055
 Ile Phe Lys Leu Thr Tyr Gln Asn Lys Val Val Arg Val Gln Arg Pro
 3060 3065 3070
 Thr Pro Arg Gly Thr Val Met Asp Ile Ile Ser Arg Arg Asp Gln Arg

 3075 3080 3085
 Gly Ser Gly Gln Val Gly Thr Tyr Gly Leu Asn Thr Phe Thr Asn Met
 3090 3095 3100
 Glu Ala Gln Leu Ile Arg Gln Met Glu Gly Glu Gly Val Phe Lys Ser
 3105 3110 3115 3120
 Ile Gln His Leu Thr Ile Thr Glu Glu Ile Ala Val Gln Asn Trp Leu
 3125 3130 3135
 Ala Arg Val Gly Arg Glu Arg Leu Ser Arg Met Ala Ile Ser Gly Asp
 3140 3145 3150

 Asp Cys Val Val Lys Pro Leu Asp Asp Arg Phe Ala Ser Ala Leu Thr
 3155 3160 3165
 Ala Leu Asn Asp Met Gly Lys Ile Arg Lys Asp Ile Gln Gln Trp Glu
 3170 3175 3180
 Pro Ser Arg Gly Trp Asn Asp Trp Thr Gln Val Pro Phe Cys Ser His
 3185 3190 3195 3200
 His Phe His Glu Leu Ile Met Lys Asp Gly Arg Val Leu Val Val Pro
 3205 3210 3215
 Cys Arg Asn Gln Asp Glu Leu Ile Gly Arg Ala Arg Ile Ser Gln Gly

 3220 3225 3230
 Ala Gly Trp Ser Leu Arg Glu Thr Ala Cys Leu Gly Lys Ser Tyr Ala

3235 3240 3245
 Gln Met Trp Ser Leu Met Tyr Phe His Arg Arg Asp Leu Arg Leu Ala
 3250 3255 3260
 Ala Asn Ala Ile Cys Ser Ala Val Pro Ser His Trp Val Pro Thr Ser
 3265 3270 3275 3280
 Arg Thr Thr Trp Ser Ile His Ala Lys His Glu Trp Met Thr Thr Glu
 3285 3290 3295

 Asp Met Leu Thr Val Trp Asn Arg Val Trp Ile Gln Glu Asn Pro Trp
 3300 3305 3310
 Met Glu Asp Lys Thr Pro Val Glu Ser Trp Glu Glu Ile Pro Tyr Leu
 3315 3320 3325
 Gly Lys Arg Glu Asp Gln Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly Leu Thr Ser
 3330 3335 3340
 Arg Ala Thr Trp Ala Lys Asn Ile Gln Ala Ala Ile Asn Gln Val Arg
 3345 3350 3355 3360
 Ser Leu Ile Gly Asn Glu Glu Tyr Thr Asp Tyr Met Pro Ser Met Lys

 3365 3370 3375
 Arg Phe Arg Arg Glu Glu Glu Glu Ala Gly Val Leu Trp
 3380 3385

 <210> 9
 <211> 3389
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dengue virus serotype 3, MVS
 <400> 9

 Met Asn Asn Gln Arg Lys Lys Ala Lys Asn Thr Pro Phe Asn Met Leu
 1 5 10 15
 Lys Arg Glu Arg Asn Arg Val Ser Thr Val Gln Gln Leu Thr Lys Arg
 20 25 30

 Phe Ser Leu Gly Met Leu Gln Gly Arg Gly Pro Leu Lys Leu Phe Met
 35 40 45
 Ala Leu Val Ala Phe Leu Arg Phe Leu Thr Ile Pro Pro Thr Ala Gly

50 55 60
 Ile Leu Lys Arg Trp Gly Thr Ile Lys Lys Ser Lys Ala Ile Asn Val
 65 70 75 80
 Leu Arg Gly Phe Arg Lys Glu Ile Gly Arg Met Leu Asn Ile Leu Asn
 85 90 95
 Arg Arg Arg Arg Ser Ala Gly Met Ile Ile Met Leu Ile Pro Thr Val

 100 105 110
 Met Ala Phe His Leu Thr Thr Arg Asp Gly Glu Pro Arg Met Ile Val
 115 120 125
 Gly Lys Asn Glu Arg Gly Lys Ser Leu Leu Phe Lys Thr Ala Ser Gly
 130 135 140
 Ile Asn Met Cys Thr Leu Ile Ala Met Asp Leu Gly Glu Met Cys Asp
 145 150 155 160
 Asp Thr Val Thr Tyr Lys Cys Pro His Ile Thr Glu Val Glu Pro Glu
 165 170 175

 Asp Ile Asp Cys Trp Cys Asn Leu Thr Ser Thr Trp Val Thr Tyr Gly
 180 185 190
 Thr Cys Asn Gln Ala Gly Glu His Arg Arg Asp Lys Arg Ser Val Ala
 195 200 205
 Leu Ala Pro His Val Gly Met Gly Leu Asp Thr Arg Thr Gln Thr Trp
 210 215 220
 Met Ser Ala Glu Gly Ala Trp Arg Gln Val Glu Lys Val Glu Thr Trp
 225 230 235 240
 Ala Leu Arg His Pro Gly Phe Thr Ile Leu Ala Leu Phe Leu Ala His

 245 250 255
 Tyr Ile Gly Thr Ser Leu Thr Gln Lys Val Val Ile Phe Ile Leu Leu
 260 265 270
 Met Leu Val Thr Pro Ser Met Thr Met Arg Cys Val Gly Val Gly Asn
 275 280 285
 Arg Asp Phe Val Glu Gly Leu Ser Gly Ala Thr Trp Val Asp Val Val
 290 295 300
 Leu Glu His Gly Gly Cys Val Thr Thr Met Ala Lys Asn Lys Pro Thr

305 310 315 320
 Leu Asp Ile Glu Leu Gln Lys Thr Glu Ala Thr Gln Leu Ala Thr Leu
 325 330 335
 Arg Lys Leu Cys Ile Glu Gly Lys Ile Thr Asn Ile Thr Thr Asp Ser
 340 345 350
 Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Ala Ile Leu Pro Glu Glu Gln Asp Gln
 355 360 365
 Asn Tyr Val Cys Lys His Thr Tyr Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly
 370 375 380
 Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Ser Leu Val Thr Cys Ala Lys Phe Gln

 385 390 395 400
 Cys Leu Glu Ser Ile Glu Gly Lys Val Val Gln His Glu Asn Leu Lys
 405 410 415
 Tyr Thr Val Ile Ile Thr Val His Thr Gly Asp Gln His Gln Val Gly
 420 425 430
 Asn Glu Thr Gln Gly Val Thr Ala Glu Ile Thr Pro Gln Ala Ser Thr
 435 440 445
 Ala Glu Ala Ile Leu Pro Glu Tyr Gly Thr Leu Gly Leu Glu Cys Ser
 450 455 460

 Pro Arg Thr Gly Leu Asp Phe Asn Glu Met Ile Ser Leu Thr Met Lys
 465 470 475 480
 Asn Lys Ala Trp Met Val His Arg Gln Trp Phe Phe Asp Leu Pro Leu
 485 490 495
 Pro Trp Thr Ser Gly Ala Ser Ala Glu Thr Pro Thr Trp Asn Arg Lys
 500 505 510
 Glu Leu Leu Val Thr Phe Lys Asn Ala His Ala Lys Lys Gln Glu Val
 515 520 525
 Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Met His Thr Ala Leu Thr Gly

 530 535 540
 Ala Thr Glu Ile Gln Thr Ser Gly Gly Thr Ser Ile Phe Ala Gly His
 545 550 555 560

Leu Lys Cys Arg Leu Lys Met Asp Lys Leu Glu Leu Lys Gly Met Ser
 565 570 575
 Tyr Ala Met Cys Leu Ser Ser Phe Val Leu Lys Lys Glu Val Ser Glu
 580 585 590
 Thr Gln His Gly Thr Ile Leu Ile Lys Val Glu Tyr Lys Gly Glu Asp
 595 600 605

 Ala Pro Cys Lys Ile Pro Phe Ser Thr Glu Asp Gly Gln Gly Lys Ala
 610 615 620
 Leu Asn Gly Arg Leu Ile Thr Ala Asn Pro Val Val Thr Lys Lys Glu
 625 630 635 640
 Glu Pro Val Asn Ile Glu Ala Glu Pro Pro Phe Gly Glu Ser Asn Ile
 645 650 655
 Val Ile Gly Ile Gly Asp Lys Ala Leu Lys Ile Asn Trp Tyr Lys Lys
 660 665 670
 Gly Ser Ser Ile Gly Lys Met Phe Glu Ala Thr Ala Arg Gly Ala Arg

 675 680 685
 Arg Met Ala Ile Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser Val Gly
 690 695 700
 Gly Val Leu Asn Ser Leu Gly Lys Met Val His Gln Ile Phe Gly Ser
 705 710 715 720
 Ala Tyr Thr Ala Leu Phe Gly Gly Val Ser Trp Met Met Lys Ile Gly
 725 730 735
 Ile Gly Val Leu Leu Thr Trp Ile Gly Leu Asn Ser Lys Asn Thr Ser
 740 745 750

 Met Ser Phe Ser Cys Ile Ala Ala Gly Ile Val Thr Leu Tyr Leu Gly
 755 760 765
 Val Met Val Gln Ala Asp Ser Gly Cys Val Val Ser Trp Lys Asn Lys
 770 775 780
 Glu Leu Lys Cys Gly Ser Gly Ile Phe Ile Thr Asp Asn Val His Thr
 785 790 795 800
 Trp Thr Glu Gln Tyr Lys Phe Gln Pro Glu Ser Pro Ser Lys Leu Ala
 805 810 815

Ser Ala Ile Gln Lys Ala His Glu Glu Asp Ile Cys Gly Ile Arg Ser

820 825 830
Val Thr Arg Leu Glu Asn Leu Met Trp Lys Gln Ile Thr Pro Glu Leu
835 840 845
Asn His Ile Leu Ser Glu Asn Glu Val Lys Leu Thr Ile Met Thr Gly
850 855 860
Asp Ile Lys Gly Ile Met Gln Ala Gly Lys Arg Ser Leu Arg Pro Gln
865 870 875 880
Pro Thr Glu Leu Lys Tyr Ser Trp Lys Thr Trp Gly Lys Ala Lys Met
885 890 895

Leu Ser Thr Glu Ser His Asn Gln Thr Phe Leu Ile Asp Gly Pro Glu
900 905 910
Thr Ala Glu Cys Pro Asn Thr Asn Arg Ala Trp Asn Ser Leu Glu Val
915 920 925
Glu Asp Tyr Gly Phe Gly Val Phe Thr Thr Asn Ile Trp Leu Lys Leu
930 935 940
Lys Glu Lys Gln Asp Val Phe Cys Asp Ser Lys Leu Met Ser Ala Ala
945 950 955 960
Ile Lys Asp Asn Arg Ala Val His Ala Asp Met Gly Tyr Trp Ile Glu

965 970 975
Ser Ala Leu Asn Asp Thr Trp Lys Ile Glu Lys Ala Ser Phe Ile Glu
980 985 990
Val Lys Asn Cys His Trp Pro Lys Ser His Thr Leu Trp Ser Asn Gly
995 1000 1005
Val Leu Glu Ser Glu Met Ile Ile Pro Lys Asn Leu Ala Gly Pro Val
1010 1015 1020
Ser Gln His Asn Tyr Arg Pro Gly Tyr His Thr Gln Ile Thr Gly Pro
1025 1030 1035 1040

Trp His Leu Gly Lys Leu Glu Met Asp Phe Asp Phe Cys Asp Gly Thr
1045 1050 1055
Thr Val Val Val Thr Glu Asp Cys Gly Asn Arg Gly Pro Ser Leu Arg

1060	1065	1070	
Thr Thr Thr Ala Ser Gly Lys Leu Ile Thr Glu Trp Cys Cys Arg Ser			
1075	1080	1085	
Cys Thr Leu Pro Pro Leu Arg Tyr Arg Gly Glu Asp Gly Cys Trp Tyr			
1090	1095	1100	
Gly Met Glu Ile Arg Pro Leu Lys Glu Lys Glu Glu Asn Leu Val Asn			
1105	1110	1115	1120
Ser Leu Val Thr Ala Gly His Gly Gln Val Asp Asn Phe Ser Leu Gly			
1125	1130	1135	
Val Leu Gly Met Ala Leu Phe Leu Glu Glu Met Leu Arg Thr Arg Val			
1140	1145	1150	
Gly Thr Lys His Ala Ile Leu Leu Val Ala Val Ser Phe Val Thr Leu			
1155	1160	1165	
Ile Thr Gly Asn Met Ser Phe Arg Asp Leu Gly Arg Val Met Val Met			
1170	1175	1180	
Val Gly Ala Thr Met Thr Asp Asp Ile Gly Met Gly Val Thr Tyr Leu			
1185	1190	1195	1200
Ala Leu Leu Ala Ala Phe Lys Val Arg Pro Thr Phe Ala Ala Gly Leu			
1205	1210	1215	
Leu Leu Arg Lys Leu Thr Ser Lys Glu Leu Met Met Thr Thr Ile Gly			
1220	1225	1230	
Ile Val Leu Leu Ser Gln Ser Thr Ile Pro Glu Thr Ile Leu Glu Leu			
1235	1240	1245	
Thr Asp Ala Leu Ala Leu Gly Met Met Val Leu Lys Met Val Arg Asn			
1250	1255	1260	
Met Glu Lys Tyr Gln Leu Ala Val Thr Ile Met Ala Ile Leu Cys Val			
1265	1270	1275	1280
Pro Asn Ala Val Ile Leu Gln Asn Ala Trp Lys Val Ser Cys Thr Ile			
1285	1290	1295	
Leu Ala Val Val Ser Val Ser Pro Leu Phe Leu Thr Ser Ser Gln Gln			
1300	1305	1310	
Lys Thr Asp Trp Ile Pro Leu Ala Leu Thr Ile Lys Gly Leu Asn Pro			

1315	1320	1325	
Thr Ala Ile Phe Leu Thr Thr Leu Ser Arg Thr Ser Lys Lys Arg Ser			
1330	1335	1340	
Trp Pro Leu Asn Glu Ala Ile Met Ala Val Gly Met Val Ser Ile Leu			
1345	1350	1355	1360
Ala Ser Ser Leu Leu Lys Asn Asp Ile Pro Met Thr Gly Pro Leu Val			
1365	1370	1375	
Ala Gly Gly Leu Leu Thr Val Cys Tyr Val Leu Thr Gly Arg Ser Ala			
1380	1385	1390	
Asp Leu Glu Leu Glu Arg Ala Ala Asp Val Lys Trp Glu Asp Gln Ala			
1395	1400	1405	
Glu Ile Ser Gly Ser Ser Pro Ile Leu Ser Ile Thr Ile Ser Glu Asp			
1410	1415	1420	
Gly Ser Met Ser Ile Lys Asn Glu Glu Glu Glu Gln Thr Leu Thr Ile			
1425	1430	1435	1440
Leu Ile Arg Thr Gly Leu Leu Val Ile Ser Gly Leu Phe Pro Val Ser			
1445	1450	1455	
Ile Pro Ile Thr Ala Ala Ala Trp Tyr Leu Trp Glu Val Lys Lys Gln			
1460	1465	1470	
Arg Ala Gly Val Leu Trp Asp Val Pro Ser Pro Pro Pro Met Gly Lys			
1475	1480	1485	
Ala Glu Leu Glu Asp Gly Ala Tyr Arg Ile Lys Gln Lys Gly Ile Leu			
1490	1495	1500	
Gly Tyr Ser Gln Ile Gly Ala Gly Val Tyr Lys Glu Gly Thr Phe His			
1505	1510	1515	1520
Thr Met Trp His Val Thr Arg Gly Ala Val Leu Met His Lys Gly Lys			
1525	1530	1535	
Arg Ile Glu Pro Ser Trp Ala Asp Val Lys Lys Asp Leu Ile Ser Tyr			
1540	1545	1550	
Gly Gly Gly Trp Lys Leu Glu Gly Glu Trp Lys Glu Gly Glu Glu Val			
1555	1560	1565	

Gln Val Leu Ala Leu Glu Pro Gly Lys Asn Pro Arg Ala Val Gln Thr
1570 1575 1580

Lys Pro Gly Leu Phe Lys Thr Asn Ala Gly Thr Ile Gly Ala Val Ser
1585 1590 1595 1600

Leu Asp Phe Ser Pro Gly Thr Ser Gly Ser Pro Ile Ile Asp Lys Lys
1605 1610 1615

Gly Lys Val Val Gly Leu Tyr Gly Asn Gly Val Val Thr Arg Ser Gly
1620 1625 1630

Ala Tyr Val Ser Ala Ile Ala Gln Thr Glu Lys Ser Ile Glu Asp Asn
1635 1640 1645

Pro Glu Ile Glu Asp Asp Ile Phe Arg Lys Arg Arg Leu Thr Ile Met
1650 1655 1660

Asp Leu His Pro Gly Ala Gly Lys Thr Lys Arg Tyr Leu Pro Ala Ile
1665 1670 1675 1680

Val Arg Glu Ala Ile Lys Arg Gly Leu Arg Thr Leu Ile Leu Ala Pro
1685 1690 1695

Thr Arg Val Val Ala Ala Glu Met Glu Glu Ala Leu Arg Gly Leu Pro
1700 1705 1710

Ile Arg Tyr Gln Thr Pro Ala Ile Arg Ala Val His Thr Gly Arg Glu
1715 1720 1725

Ile Val Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Met Arg Leu Leu Ser
1730 1735 1740

Pro Val Arg Val Pro Asn Tyr Asn Leu Ile Ile Met Asp Glu Ala His
1745 1750 1755 1760

Phe Thr Asp Pro Ala Ser Ile Ala Ala Arg Gly Tyr Ile Ser Thr Arg
1765 1770 1775

Val Glu Met Gly Glu Ala Ala Gly Ile Phe Met Thr Ala Thr Pro Pro
1780 1785 1790

Gly Ser Arg Asp Pro Phe Pro Gln Ser Asn Ala Pro Ile Ile Asp Glu
1795 1800 1805

Glu Arg Glu Ile Pro Glu Arg Ser Trp Asn Ser Gly His Glu Trp Val
1810 1815 1820

Thr Asp Phe Lys Gly Lys Thr Val Trp Phe Val Pro Ser Ile Lys Ala

1825 1830 1835 1840

Gly Asn Asp Ile Ala Ala Cys Leu Arg Lys Asn Gly Lys Lys Val Ile

1845 1850 1855

Gln Leu Ser Arg Lys Thr Phe Asp Ser Glu Tyr Val Lys Thr Arg Thr

1860 1865 1870

Asn Asp Trp Asp Phe Val Val Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met Gly Ala

1875 1880 1885

Asn Phe Lys Ala Glu Arg Val Ile Asp Pro Arg Arg Cys Met Lys Pro

1890 1895 1900

Val Ile Leu Thr Asp Gly Glu Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly Pro Met

1905 1910 1915 1920

Pro Val Thr His Ser Ser Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Ile Gly Arg

1925 1930 1935

Asn Pro Lys Asn Glu Asn Asp Gln Tyr Ile Tyr Met Gly Glu Pro Leu

1940 1945 1950

Glu Asn Asp Glu Asp Cys Ala His Trp Lys Glu Ala Lys Met Leu Leu

1955 1960 1965

Asp Asn Ile Asn Thr Pro Glu Gly Ile Ile Pro Ser Met Phe Glu Pro

1970 1975 1980

Glu Arg Glu Lys Val Asp Ala Ile Asp Gly Glu Tyr Arg Leu Arg Gly

1985 1990 1995 2000

Glu Ala Arg Lys Thr Phe Val Asp Leu Met Arg Arg Gly Asp Leu Pro

2005 2010 2015

Val Trp Leu Ala Tyr Arg Val Ala Ala Glu Gly Ile Asn Tyr Ala Asp

2020 2025 2030

Arg Arg Trp Cys Phe Asp Gly Val Lys Asn Asn Gln Ile Leu Glu Glu

2035 2040 2045

Asn Val Glu Val Glu Ile Trp Thr Lys Glu Gly Glu Arg Lys Lys Leu

2050 2055 2060

Lys Pro Arg Trp Leu Asp Ala Arg Ile Tyr Ser Asp Pro Leu Ala Leu

2065 2070 2075 2080
 Lys Glu Phe Lys Glu Phe Ala Ala Gly Arg Lys Ser Leu Thr Leu Asn
 2085 2090 2095
 Leu Ile Thr Glu Met Gly Arg Leu Pro Thr Phe Met Thr Gln Lys Ala
 2100 2105 2110
 Arg Asp Ala Leu Asp Asn Leu Ala Val Leu His Thr Ala Glu Ala Gly

 2115 2120 2125
 Gly Arg Ala Tyr Asn His Ala Leu Ser Glu Leu Pro Glu Thr Leu Glu
 2130 2135 2140
 Thr Leu Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ala Thr Val Thr Gly Gly Ile Phe
 2145 2150 2155 2160
 Leu Phe Leu Met Ser Ala Arg Gly Ile Gly Lys Met Thr Leu Gly Met
 2165 2170 2175
 Cys Cys Ile Ile Thr Ala Ser Ile Leu Leu Trp Tyr Ala Gln Ile Gln
 2180 2185 2190

 Pro His Trp Ile Ala Ala Ser Ile Ile Leu Glu Phe Phe Leu Ile Val
 2195 2200 2205
 Leu Leu Ile Pro Glu Pro Glu Lys Gln Arg Thr Pro Gln Asp Asn Gln
 2210 2215 2220
 Leu Thr Tyr Val Val Ile Ala Ile Leu Thr Val Val Ala Ala Thr Met
 2225 2230 2235 2240
 Ala Asn Glu Met Gly Phe Leu Glu Lys Thr Lys Lys Asp Leu Gly Leu
 2245 2250 2255
 Gly Ser Ile Ala Thr Gln Gln Pro Glu Ser Asn Ile Leu Asp Ile Asp

 2260 2265 2270
 Leu Arg Pro Ala Ser Ala Trp Thr Leu Tyr Ala Val Ala Thr Thr Phe
 2275 2280 2285
 Val Thr Pro Met Leu Arg His Ser Ile Glu Asn Ser Ser Val Asn Val
 2290 2295 2300
 Ser Leu Thr Ala Ile Ala Asn Gln Ala Thr Val Leu Met Gly Leu Gly
 2305 2310 2315 2320
 Lys Gly Trp Pro Leu Ser Lys Met Asp Ile Gly Val Pro Leu Leu Ala

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

Ser Tyr Tyr Cys Gly Gly Leu Lys Asn Val Arg Glu Val Lys Gly Leu
2580 2585 2590

Thr Lys Gly Gly Pro Gly His Glu Glu Pro Ile Pro Met Ser Thr Tyr
2595 2600 2605

Gly Trp Asn Leu Val Arg Leu Gln Ser Gly Val Asp Val Phe Phe Ile
2610 2615 2620

Pro Pro Glu Lys Cys Asp Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu Ser Ser
2625 2630 2635 2640

Pro Asn Pro Thr Val Glu Ala Gly Arg Thr Leu Arg Val Leu Asn Leu
2645 2650 2655

Val Glu Asn Trp Leu Asn Asn Asn Thr Gln Phe Cys Ile Lys Val Leu
2660 2665 2670

Asn Pro Tyr Met Pro Ser Val Ile Glu Lys Met Glu Ala Leu Gln Arg
2675 2680 2685

Lys Tyr Gly Gly Ala Leu Val Arg Asn Pro Leu Ser Arg Asn Ser Thr
2690 2695 2700

His Glu Met Tyr Trp Val Ser Asn Ala Ser Gly Asn Ile Val Ser Ser
2705 2710 2715 2720

Val Asn Met Ile Ser Arg Met Leu Ile Asn Arg Phe Thr Met Arg Tyr
2725 2730 2735

Lys Lys Ala Thr Tyr Glu Pro Asp Val Asp Leu Gly Ser Gly Thr Arg
2740 2745 2750

Asn Ile Gly Ile Glu Ser Glu Ile Pro Asn Leu Asp Ile Ile Gly Lys
2755 2760 2765

Arg Ile Glu Lys Ile Lys Gln Glu His Glu Thr Ser Trp His Tyr Asp
2770 2775 2780

Gln Asp His Pro Tyr Lys Thr Trp Ala Tyr His Gly Ser Tyr Glu Thr
2785 2790 2795 2800

Lys Gln Thr Gly Ser Ala Ser Ser Met Val Asn Gly Val Val Arg Leu
2805 2810 2815

Leu Thr Lys Pro Trp Asp Val Val Pro Met Val Thr Gln Met Ala Met
2820 2825 2830

Thr Asp Thr Thr Pro Phe Gly Gln Gln Arg Val Phe Lys Glu Lys Val

2835 2840 2845

Asp Thr Arg Thr Gln Glu Pro Lys Glu Gly Thr Lys Lys Leu Met Lys

2850 2855 2860

Ile Thr Ala Glu Trp Leu Trp Lys Glu Leu Gly Lys Lys Lys Thr Pro

2865 2870 2875 2880

Arg Met Cys Thr Arg Glu Glu Phe Thr Arg Lys Val Arg Ser Asn Ala

2885 2890 2895

Ala Leu Gly Ala Ile Phe Thr Asp Glu Asn Lys Trp Lys Ser Ala Arg

2900 2905 2910

Glu Ala Val Glu Asp Ser Arg Phe Trp Glu Leu Val Asp Lys Glu Arg

2915 2920 2925

Asn Leu His Leu Glu Gly Lys Cys Glu Thr Cys Val Tyr Asn Met Met

2930 2935 2940

Gly Lys Arg Glu Lys Lys Leu Gly Glu Phe Gly Lys Ala Lys Gly Ser

2945 2950 2955 2960

Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala Arg Phe Leu Glu Phe Glu

2965 2970 2975

Ala Leu Gly Phe Leu Asn Glu Asp His Trp Phe Ser Arg Glu Asn Ser

2980 2985 2990

Leu Ser Gly Val Glu Gly Glu Gly Leu His Lys Leu Gly Tyr Ile Leu

2995 3000 3005

Arg Asp Val Ser Lys Lys Glu Gly Gly Ala Met Tyr Ala Asp Asp Thr

3010 3015 3020

Ala Gly Trp Asp Thr Arg Ile Thr Leu Glu Asp Leu Lys Asn Glu Glu

3025 3030 3035 3040

Met Val Thr Asn His Met Glu Gly Glu His Lys Lys Leu Ala Glu Ala

3045 3050 3055

Ile Phe Lys Leu Thr Tyr Gln Asn Lys Val Val Arg Val Gln Arg Pro

3060 3065 3070

Thr Pro Arg Gly Thr Val Met Asp Ile Ile Ser Arg Arg Asp Gln Arg

3075 3080 3085
 Gly Ser Gly Gln Val Gly Thr Tyr Gly Leu Asn Thr Phe Thr Asn Met
 3090 3095 3100
 Glu Ala Gln Leu Ile Arg Gln Met Glu Gly Glu Gly Val Phe Lys Ser
 3105 3110 3115 3120
 Ile Gln His Leu Thr Ile Thr Glu Glu Ile Ala Val Gln Asn Trp Leu

 3125 3130 3135
 Ala Arg Val Gly Arg Glu Arg Leu Ser Arg Met Ala Ile Ser Gly Asp
 3140 3145 3150
 Asp Cys Val Val Lys Pro Leu Asp Asp Arg Phe Ala Ser Ala Leu Thr
 3155 3160 3165
 Ala Leu Asn Asp Met Gly Lys Ile Arg Lys Asp Ile Gln Gln Trp Glu
 3170 3175 3180
 Pro Ser Arg Gly Trp Asn Asp Trp Thr Gln Val Pro Phe Cys Ser His
 3185 3190 3195 3200

 His Phe His Glu Leu Ile Met Lys Asp Gly Arg Val Leu Val Val Pro
 3205 3210 3215
 Cys Arg Asn Gln Asp Glu Leu Ile Gly Arg Ala Arg Ile Ser Gln Gly
 3220 3225 3230
 Ala Gly Trp Ser Leu Arg Glu Thr Ala Cys Leu Gly Lys Ser Tyr Ala
 3235 3240 3245
 Gln Met Trp Ser Leu Met Tyr Phe His Arg Arg Asp Leu Arg Leu Ala
 3250 3255 3260
 Ala Asn Ala Ile Cys Ser Ala Val Pro Ser His Trp Val Pro Thr Ser

 3265 3270 3275 3280
 Arg Thr Thr Trp Ser Ile His Ala Lys His Glu Trp Met Thr Thr Glu
 3285 3290 3295
 Asp Met Leu Thr Val Trp Asn Arg Val Trp Ile Gln Glu Asn Pro Trp
 3300 3305 3310
 Met Glu Asp Lys Thr Pro Val Glu Ser Trp Glu Glu Ile Pro Tyr Leu
 3315 3320 3325
 Gly Lys Arg Glu Asp Gln Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly Leu Thr Ser

3330	3335	3340	
Arg Ala Thr Trp Ala Lys Asn Ile Gln Ala Ala Ile Asn Gln Val Arg			
3345	3350	3355	3360
Ser Leu Ile Gly Asn Glu Glu Tyr Thr Asp Tyr Met Pro Ser Met Lys			
	3365	3370	3375
Arg Phe Arg Arg Glu Glu Glu Glu Ala Gly Val Leu Trp			
	3380	3385	
<210>	10		
<211>	10723		
<212>	DNA		
<213>	Artificial Sequence		
<220><223>	Dengue virus serotype 4, BVS		
<220><221>	misc_feature		
<222>	(3773)		
<223>	a or g		
<220><221>	misc_feature		
<222>	(7026)		
<223>	t or c		
<220><221>	misc_feature		
<222>	(7538)		
<223>	t or c		
<400>	10		
agttgttagt ctacgtggac cgacaaagac agattctttg agggagctaa gctcaatgta		60	
gttctaacag ttttttaatt agagagcaga tctctgatga ataaccaacg gaaaaaggcg		120	
aaaaacacgc ctttcaatat gctgaaacgc gagagaaacc gcgtgtcgac tgtgcaacag		180	
ctgacaaaga gattctcact tggaatgctg caggagcag gacctttaa actgttcattg		240	
gccctggtgg cgctccttcg tttcctaaca atcccaccaa cagcagggat attgaagaga		300	
tggggaacaa ttaaaaaatc aaaagctatt aatgttttga gaggtttcag gaaagagatt		360	
ggaaggatgc tgaacatctt gaataggaga cgcagctctg caggcatgat cattatgctg		420	
attccaacag tgatggcgtt ccatttaacc acgcgtgatg gcgaaccct catgatagt		480	
gcaaaacatg aaagggggag acctctcttg ttaagacaa cagaggggat caacaaatgc		540	
actctcattg ccatggactt gggtgaaatg tgtgaggaca ctgtcacgta taaatgcccc		600	

ttactggtca atacgaacc tgaagacatt gattgctggt gcaatctcac gtctacctgg	660
gtcatgtatg ggacatgcac ccagagcgga gaacggagac gagagaagcg cttagtagct	720
ttaacaccac attcaggaat gggattggaa acaagagctg agacatggat gtcacggaa	780
ggggcttga agcatgctca gagagtagag agctggatac tcagaaacc aggattcgcg	840
ctcttgccag gatttatggc ttatatgatt gggcaaacag gaatccagcg aactgtcttc	900
tttgtcctaa tgatgctggt cgcccatcc tacggaatgc gatgcgtagg agtaggaaac	960
agagactttg tggaaggagt cttaggtgga gcatgggtcg atctggtgct agaacatgga	1020
ggatgcgtca caacatggc ccagggaata ccaacctgg atttgaact gactaagaca	1080
acagccaagg aagtggctct gtaagaacc tattgcattg aagcctcaat atcaaacata	1140
accacggcaa caagatgtcc aacgaagga gagccttacc taaaagagga acaagaccaa	1200
cagtacattt gccggagaga tgtgtagac agagggtggg gcaatggctg tggcttgttt	1260
ggaaaaggag gatttgtgac atgtgcgaag tttcatgtt cggggaagat aacaggcaat	1320
ttgttccaaa ttgagaacct tgaatacaca gtggttgtaa cagtccaca tggagacacc	1380
catgcagtag gaaatgacac gtccaatcat ggagttacag ccacgataac tcccaggtea	1440
ccatcggtgg aagtcaaatt gccggactat ggagaactaa cactcgattg tgaaccagg	1500
tctggaattg actttaatga gatgattctg atgaaaatga aaaagaaaac atggcttgtg	1560
cataagcaat ggtttttga tctacctcia ccatggacag caggagcaga cacatcagag	1620
gttacttga attacaaaga gagaatggtg acatttaagg ttctctatgc caagagacag	1680
gatgtgacag tgctgggac tcaggaagga gccatgcatt ctgccctcgc tggagccaca	1740
gaagtggact ccgtgatgg aaatcacatg ttgacaggac atctcaagt caaagtcgt	1800
atggagaaat tgagaatcaa gggaatgtca tacacgatgt gttcaggaaa gttctcaatt	1860
gacaaagaga tggcagaac acagcatggg acaacagtgg tgaaagtcaa gtatgaaggt	1920
gctggagctc cgtgtaagt ccccatagag ataagagatg tgaacaagga aaaagtggtt	1980
gggcgtatca tctcatccac ccttttggct gagaatacca acagtgtaac caacatagag	2040
ttagaacccc cctttgggga cagctacata gtgatagggt ttggaaacag tgcattaaaca	2100
ctccattggt tcaggaaagg gatttcatt ggcaagatgt ttgagtcac atacagaggt	2160
gcaaaacgaa tggccattct aggtgaaaca gcttgggatt ttggttccgt tgggtgactg	2220
ttcacatcat tgggaaaggc tgtgcaccag gtttttggaa gtgtgtatc aacctgttt	2280
ggaggagtct catggatgat tagaatccta attgggttcc tagtgttgtg gattggcacg	2340

aactcaagga acacittcaat ggctatgacg tgcatactg cggcattgt gacactgtat	2400
ttgggagtca tgggtgcaggc cgatagtgtt tgcgttgtga gctggaaaaa caaagaactg	2460
aaatgtggca gtgggatttt catcacagac aacgtgcaca catggacaga acaatacaag	2520
ttccaaccag aatccccttc aaaactagct tcagctatcc agaaagccca tgaagaggac	2580
atttgtgaa tccgtctagt aacaagactg gagaatctga tgtggaaaca aataacacca	2640
gaattgaatc acattctatc agaaaatgag gtgaagttaa ctattatgac aggagacatc	2700
aaaggaatca tgcaggcagg aaaacgatct ctgcggcctc agccactga gctgaagtat	2760
tcattggaaaa catggggcaa agcaaaaatg ctctctacag agtctcataa ccagaccttt	2820
ctcattgatg gccccgaaac agcagaatgc cccaacacaa atagagcttg gaattcgttg	2880
gaagttgaag actatggctt tggagtattc accaccaata tatggctaaa attgaaagaa	2940
aaacaggatg tattctgcga ctcaaaactc atgtcagcgg ccataaaaga caacagagcc	3000
gtccatgccg atatgggtta ttggatagaa agtgcactca atgacacatg gaagatagag	3060
aaagcctctt tcattgaagt taaaaactgc cactggccaa aatcacacac cctctggagc	3120
aatggagtgc tagaaagtga gatgataatt ccaaagaatc tcgctggacc agtgtctcaa	3180
cacaactata gaccaggcta ccatacacia ataacaggac catggcatct aggttaagctt	3240
gagatggact ttgatttctg tgatggaaca acagtggtag tgactgagga ctgcggaaat	3300
agaggaccct ctttgagaac aaccactgcc tctggaaaac tcataacaga atgggtctgc	3360
cgatcttgca cattaccacc gctaagatac agaggtgagg atgggtgctg gtacgggatg	3420
gaaatcagac cattgaagga gaaagaagag aatttggta actccttggc cacagctgga	3480
catgggcagg tcgacaactt ttacttagga gtcttgggaa tggcattgtt cctggaggaa	3540
atgcttagga cccgagtagg aacgaaacat gcaatactac tagttgcagt ttcttttgtg	3600
acattgatca cagggaacat gtcctttaga gacctgggaa gagtgatggt tatggtaggc	3660
gccactatga cgggtgacat aggtatgggc gtgacttata ttgcctact agcagccttc	3720
aaagtcagac caacttttgc agctggacta ctcttgagaa agctgacctc canggaattg	3780
atgatgacta ctataggaat tgtactcttc tcccagagca ccataccaga gaccattctt	3840
gagttgactg atgcgttagc cttaggcatt atggctctca aaatggtgag aaatatggaa	3900
aagtatcaat tggcagtgc tatcatggct atcttgtgcg tcccaaacgc agtgatatta	3960
caaaacgcgt ggaaagtgag ttgcacaata ttggcagtgg tgtccgttcc cccactgttc	4020
ttaacatcct cacagcaaaa aacagattgg ataccattag cattgacgat caaaggtctc	4080

aatccaacag ctatTTTTct aacaaccctc tcaagaacca gcaagaaaag gagctggcca	4140
ttaaattgagg ctatcatggc agtcgggatg gtgagcattt tagccagttc tctcctaaaa	4200
aatgatattc ccatgacagg accattagtg gctggagggc tectcactgt gtgtacgtg	4260
ctcactggac gatcgccga tttggaactg gagagagcag ccgatgtcaa atgggaagac	4320
caggcagaga tatcaggaag cagtccaatc ctgtcaataa caatatcaga agatggtagc	4380
atgtcgataa aaaaatgaaga ggaagaacaa aactgacca tactcattag aacaggattg	4440
ctggtgatct caggactttt tctgtatca ataccaatca cggcagcagc atggtacctg	4500
tgggaagtga agaacaacg ggccggagta ttgtgggatg ttccttcacc cccacccatg	4560
ggaaaggctg aactggaaga tggagcctat agaattaagc aaaaagggat tcttgatat	4620
tcccagatcg gagccggagt ttacaaagaa ggaacattcc atacaatgtg gcatgtcaca	4680
cgtggcgctg ttctaattga taaaggaaag aggattgaac catcatgggc ggacgtcaag	4740
aaagacctaa tatcatatgg aggaggctgg aagttagaag gagaatggaa ggaaggagaa	4800
gaagtccagg tattggcact ggagcctgga aaaaatccaa gagccgtcca aacgaaacct	4860
ggtcttttca aaaccaacgc cggaacaata ggtgctgtat ctctggactt ttctctgga	4920
acgtcaggat ctccaattat cgacaaaaaa ggaaaagtgt tgggtcttta tggtaatggt	4980
gttgttacaa ggagtggagc atatgtgagt gctatagccc agactgaaaa aagcattgaa	5040
gacaaccag agatcgaaga tgacattttc cgaaagagaa gactgacat catggacctc	5100
caccaggag cgggaaagac gaagagatac ctccggcca tagtcagaga agctataaaa	5160
cggggtttga gaacattaat cttggcccc actagattg tggcagctga aatggaggaa	5220
gcccttagag gacttccaat aagataccag acccagcca tcagagctgt gcacaccggg	5280
cgggagattg tggacctaat gtgtcatgcc acatttacca tgaggctgct atcaccagtt	5340
agagtccaa actacaacct gattatcatg gacgaagccc atttcacaga tccagcaagt	5400
atagcagcta gaggatacat ctcaactcga gtggagatgg gtgaggcagc tgggattttt	5460
atgacagcca ctccccggg aagcagagac ccatttctc agagcaatgc accaatcata	5520
gatgaagaaa gagaaatccc tgaacgctcg tggaaattccg gacatgaatg ggtcacggat	5580
tttaaaggga agactgtttg gttcgttcca agtataaaag caggaaatga tatagcagct	5640
tgctgagga aaaaatggaa gaaagtgata caactcagta ggaagacctt tgattctgag	5700
tatgtcaaga ctagaacaa tgattgggac ttcgtggtta caactgacat ttcagaaatg	5760
ggtgccaat tcaaggctga gagggttata gacccagac gctgcatgaa accagtcata	5820
ctaacagatg gtgaagagcg ggtgattctg gcaggaccta tgccagtgac cactctagt	5880
gcagcacaaa gaagagggag aataggaaga aatccaaaa atgagaatga ccagtacata	5940

tacatggggg aacctctgga aaatgatgaa gactgtgcac actggaaaga agctaaaatg	6000
ctcctagata acatcaacac gccagaagga atcattccta gcatgttcga accagagcgt	6060
gaaaaggtgg atgccattga tggcgaatac cgcttgagag gagaagcaag gaaaaccttt	6120
gtagacttaa tgagaagagg agacctacca gtctgggttg cctacagagt ggcagctgaa	6180
ggcatcaact acgcagacag aaggtggtgt ttgatggag tcaagaacaa ccaaatccta	6240
gaagaaaacg tggaagtga aatctggaca aaagaagggg aaaggaagaa attgaaaccc	6300
agatggttgg atgctaggat ctattctgac cactggcg ctaaaagaatt taaggaattt	6360
gcagccggaa gaaagtctct gacctgaac ctaatcacag aatgggtag gctcccaacc	6420
ttcatgactc agaaggtaag agacgcactg gacaacttag cagtgtcga cacggctgag	6480
gcaggtggaa gggcgtacaa ccatgctctc agtgaactgc cggagaccct ggagacattg	6540
cttttactga cacttctggc tacagtcacg ggagggatct ttttattctt gatgagcgca	6600
aggggcatag ggaagatgac cctgggaatg tgctgcataa tcacggctag catcctccta	6660
tggtacgcac aaatacagcc aactggata gcagcttcaa taatactgga gttttttctc	6720
atagttttgc ttattccaga acctgaaaaa cagagaacac cccaagacaa ccaactgacc	6780
tacgttgtca tagccatcct cacagtgttg gccgcaacca tggcaaacga gatgggtttc	6840
ctagaaaaaa cgaagaaaga tctcggattg ggaagcattg caaccagca acccgagagc	6900
aacatcctgg acatagatct acgtctcga tcagatgga cgctgtatgc cgtggccaca	6960
acatttgta caccaatgtt gagacatagc attgaaaatt cctcagtga tgtgtcccta	7020
acagcnatag ccaaccaagc cacagtgtta atgggtctcg ggaaaggatg gccattgtca	7080
aagatggaca tcggagtcc ctttctcgcc attggatgct actcacaagt caaccccata	7140
actctcacag cagctctttt cttattggta gcacattatg ccatcatagg gccaggactc	7200
caagcaaaag caaccagaga agctcagaaa agagcagcgg cgggcatcat gaaaaacca	7260
actgtcgatg gaataacagt gattgaccta gatccaatac cttatgatcc aaagtttgaa	7320
aagcagttgg gacaagtaat gtccttagtc ctctgcgtga ctcaagtatt gatgatgagg	7380
actacatggg ctctgtgtga ggctttaacc ttagctaccg ggeccatctc cacattgtgg	7440
gaaggaaatc caggagggtt ttggaacact accattgcgg tgtcaatggc taacattttt	7500
agagggagtt acttggccgg agctggactt ctctttnta ttatgaagaa cacaaccaac	7560
acaagaaggg gaactggcaa cataggagag acgcttgag agaaatggaa aagccgattg	7620
aacgcattgg gaaaaagtga attccagatc tacaagaaaa gtggaatcca ggaagtggat	7680
agaaccttag caaaagaagg cattaaaaga ggagaaacgg accatcacgc tgtgtcgga	7740
ggctcagcaa aactgagatg gtctgttgag agaaacatgg tcacaccaga agggaaagta	7800

gtggacctcg gttgtggcag aggaggctgg tcatactatt gtggaggact aaagaatgta	7860
agagaagtca aaggcctaac aaaaggagga ccaggacacg aagaacccat ccccatgtca	7920
acatatgggt ggaatctagt gcgtcttcaa agtggagtig acgttttctt catcccgcca	7980
gaaaagtgtg acacattatt gtgtgacata ggggagtcac caccaaatcc cacagtggaa	8040
gcaggacgaa cactcagagt ccttaactta gtagaaaatt ggttgaacaa caacactcaa	8100
ttttgcataa aggtttctca cccatataatg cctcagtcac tagaaaaaat ggaagcacta	8160
caaaggaaat atggaggagc cttagttagg aatccactct cacgaaactc cacacatgag	8220
atgtactggg tatccaatgc ttccgggaac atagtgtcat cagtgaacat gatttcaagg	8280
atgttgatca acagatttac aatgagatac aagaaagcca cttacgagcc ggatgttgac	8340
ctcgggaagcg gaacccgtaa catcgggatt gaaagtgaga taccaaact agatataatt	8400
gggaaaaaga tagaaaaaat aaagcaagag catgaaacat catggcacta tgaccaagac	8460
caccataca aaacgtgggc ataccatggt agctatgaaa caaacagac tggatcagca	8520
tcatccatgg tcaacggagt ggtcaggctg ctgacaaaac cttgggacgt cgtcccatg	8580
gtgacacaga tggcaatgac agacacgact ccatttggac aacagcgcgt ttttaaagag	8640
aaagtggaca cgagaacca agaaccgaaa gaaggcacga agaaactaat gaaaataaca	8700
gcagagtggc tttggaaaga attaggaag aaaaagacac ccaggatgtg caccagagaa	8760
gaattcaca gaaaggtag aagcaatgca gccttggggg ccatattcac tgatgagaac	8820
aagtggaagt cggcacgtga ggctgttgaa gatagtaggt tttgggagct ggttgacaag	8880
gaaaggaatc tccatcttga aggaaagtgt gaaacatgtg tgtacaacat gatgggaaaa	8940
agagagaaga agctaggga attcggcaag gcaaaaggca gcagagccat atggtacatg	9000
tggcttggag cacgttctt agagtgtgaa gccctaggat tcttaaatga agatcactgg	9060
ttctccagag agaactccct gagtggagtg gaaggagaag ggctgcacaa gctaggttac	9120
attctaagag acgtgagcaa gaaagaggga ggagcaatgt atgccgatga caccgcagga	9180
tgggatacaa gaatcacact agaagacct aaaaatgaag aaatggtaac aaaccacatg	9240
gaaggagaac acaagaaact agccgaggcc attttcaaac taacgtacca aaacaaggtg	9300
gtgcgtgtgc aaagaccaac accaagaggc acagtaatgg acatcatac gagaagagac	9360
caaagaggta gtggacaagt tggcacctat ggactcaata ctttcacaa tatggaagcc	9420
caactaatca gacagatgga gggagaagga gtctttaaaa gcattcagca cctaacaatc	9480
acagaagaaa tcgctgtgca aaactggtta gcaagagtgg ggcgcgaaag gttatcaaga	9540

atggccatca gtggagatga ttgtgttttg aaaccttttag atgacagggtt cgcaagcgct 9600
 ttaacagctc taaatgacat gggaaagatt aggaagagaca tacaacaatg ggaaccttca 9660
 agaggatgga atgattggac acaagtgtccc ttctgtttcac accattttcca tgagttaatc 9720
 atgaaagacg gtgcgtact cgttgtttccc tgtagaaacc aagatgaact gattggcaga 9780
 gcccgaatct cccaaggagc aggggtgtct ttgcgggaga cggcctgttt ggggaagtct 9840
 tacgccccaa tgtggagctt gatgtacttc cacagacgag acctcaggct ggccggcaaat 9900
 gctattttgt cggcagttacc atcacattgg gtccaacaa gtcgaacaac ctggtccata 9960

catgctaaac atgaatggat gacaacggaa gacatgttga cagtctggaa cagggtgttg 10020
 attcaagaaa acccatggat ggaagacaaa actccagtgg aatcatggga ggaaatccca 10080
 tacttgggga aaagagaaga ccaatggtgc ggctcattga ttgggttaac aagcagggcc 10140
 acctgggcaa agaacaatcca agcagcaata aatcaagtta gatcccttat aggcaatgaa 10200
 gaatacacag attacatgcc atccatgaaa agattcagaa gagaagagga agaagcagga 10260
 gttctgttgt agaaagcaaa actaatatga aacaaggcta gaagtcaggt cggattaagc 10320
 catagtacgg aaaaaactat gctacctgtg agccccgtcc aaggacgtta aaagaagtca 10380

ggccatcata aatgccatag cttgagtaaa ctatgcagcc ttagctcca cctgagaagg 10440
 tgtaaaaaat ccgggaggcc acaaacatg gaagctgtac gcatggcgta gtggactagc 10500
 ggtagagga gaccctccc ttacaatcg cagcaacaat gggggcccaa ggagagatga 10560
 agctgtagtc tcgtggaag gactagaggt tagaggagac cccccgaaa caaaaacag 10620
 catattgacg ctgggaaaga ccagagatcc tgcgtgtctc tcagcatcat tccaggcaca 10680
 gaacgccaga aaatggaatg gtgctgttga atcaacaggt tct 10723

<210> 11
 <211> 3391
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Dengue virus serotype 4, BVS
 <220><221> SITE
 <222> (1226)
 <223> Lys or Arg
 <220><221> SITE
 <222> (2481)
 <223> Ser or Phe
 <400> 11

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

245 250 255
 Met Ile Gly Gln Thr Gly Ile Gln Arg Thr Val Phe Phe Val Leu Met
 260 265 270
 Met Leu Val Ala Pro Ser Tyr Gly Met Arg Cys Val Gly Val Gly Asn
 275 280 285
 Arg Asp Phe Val Glu Gly Val Ser Gly Gly Ala Trp Val Asp Leu Val
 290 295 300
 Leu Glu His Gly Gly Cys Val Thr Thr Met Ala Gln Gly Lys Pro Thr
 305 310 315 320
 Leu Asp Phe Glu Leu Thr Lys Thr Thr Ala Lys Glu Val Ala Leu Leu
 325 330 335
 Arg Thr Tyr Cys Ile Glu Ala Ser Ile Ser Asn Ile Thr Thr Ala Thr
 340 345 350
 Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Pro Tyr Leu Lys Glu Glu Gln Asp Gln
 355 360 365
 Gln Tyr Ile Cys Arg Arg Asp Val Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly
 370 375 380
 Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Gly Val Val Thr Cys Ala Lys Phe Ser
 385 390 395 400
 Cys Ser Gly Lys Ile Thr Gly Asn Leu Val Gln Ile Glu Asn Leu Glu
 405 410 415
 Tyr Thr Val Val Val Thr Val His Asn Gly Asp Thr His Ala Val Gly
 420 425 430
 Asn Asp Thr Ser Asn His Gly Val Thr Ala Thr Ile Thr Pro Arg Ser
 435 440 445
 Pro Ser Val Glu Val Lys Leu Pro Asp Tyr Gly Glu Leu Thr Leu Asp
 450 455 460
 Cys Glu Pro Arg Ser Gly Ile Asp Phe Asn Glu Met Ile Leu Met Lys
 465 470 475 480
 Met Lys Lys Lys Thr Trp Leu Val His Lys Gln Trp Phe Leu Asp Leu
 485 490 495

Pro Leu Pro Trp Thr Ala Gly Ala Asp Thr Ser Glu Val His Trp Asn
500 505 510

Tyr Lys Glu Arg Met Val Thr Phe Lys Val Pro His Ala Lys Arg Gln
515 520 525

Asp Val Thr Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Met His Ser Ala Leu
530 535 540

Ala Gly Ala Thr Glu Val Asp Ser Gly Asp Gly Asn His Met Phe Ala
545 550 555 560

Gly His Leu Lys Cys Lys Val Arg Met Glu Lys Leu Arg Ile Lys Gly
565 570 575

Met Ser Tyr Thr Met Cys Ser Gly Lys Phe Ser Ile Asp Lys Glu Met
580 585 590

Ala Glu Thr Gln His Gly Thr Thr Val Val Lys Val Lys Tyr Glu Gly
595 600 605

Ala Gly Ala Pro Cys Lys Val Pro Ile Glu Ile Arg Asp Val Asn Lys
610 615 620

Glu Lys Val Val Gly Arg Ile Ile Ser Ser Thr Pro Leu Ala Glu Asn
625 630 635 640

Thr Asn Ser Val Thr Asn Ile Glu Leu Glu Pro Pro Phe Gly Asp Ser
645 650 655

Tyr Ile Val Ile Gly Val Gly Asn Ser Ala Leu Thr Leu His Trp Phe
660 665 670

Arg Lys Gly Ser Ser Ile Gly Lys Met Phe Glu Ser Thr Tyr Arg Gly
675 680 685

Ala Lys Arg Met Ala Ile Leu Gly Glu Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser
690 695 700

Val Gly Gly Leu Phe Thr Ser Leu Gly Lys Ala Val His Gln Val Phe
705 710 715 720

Gly Ser Val Tyr Thr Thr Leu Phe Gly Gly Val Ser Trp Met Ile Arg
725 730 735

Ile Leu Ile Gly Phe Leu Val Leu Trp Ile Gly Thr Asn Ser Arg Asn
740 745 750

Thr Ser Met Ala Met Thr Cys Ile Ala Ala Gly Ile Val Thr Leu Tyr

755 760 765

Leu Gly Val Met Val Gln Ala Asp Ser Gly Cys Val Val Ser Trp Lys

770 775 780

Asn Lys Glu Leu Lys Cys Gly Ser Gly Ile Phe Ile Thr Asp Asn Val

785 790 795 800

His Thr Trp Thr Glu Gln Tyr Lys Phe Gln Pro Glu Ser Pro Ser Lys

805 810 815

Leu Ala Ser Ala Ile Gln Lys Ala His Glu Glu Asp Ile Cys Gly Ile

820 825 830

Arg Ser Val Thr Arg Leu Glu Asn Leu Met Trp Lys Gln Ile Thr Pro

835 840 845

Glu Leu Asn His Ile Leu Ser Glu Asn Glu Val Lys Leu Thr Ile Met

850 855 860

Thr Gly Asp Ile Lys Gly Ile Met Gln Ala Gly Lys Arg Ser Leu Arg

865 870 875 880

Pro Gln Pro Thr Glu Leu Lys Tyr Ser Trp Lys Thr Trp Gly Lys Ala

885 890 895

Lys Met Leu Ser Thr Glu Ser His Asn Gln Thr Phe Leu Ile Asp Gly

900 905 910

Pro Glu Thr Ala Glu Cys Pro Asn Thr Asn Arg Ala Trp Asn Ser Leu

915 920 925

Glu Val Glu Asp Tyr Gly Phe Gly Val Phe Thr Thr Asn Ile Trp Leu

930 935 940

Lys Leu Lys Glu Lys Gln Asp Val Phe Cys Asp Ser Lys Leu Met Ser

945 950 955 960

Ala Ala Ile Lys Asp Asn Arg Ala Val His Ala Asp Met Gly Tyr Trp

965 970 975

Ile Glu Ser Ala Leu Asn Asp Thr Trp Lys Ile Glu Lys Ala Ser Phe

980 985 990

Ile Glu Val Lys Asn Cys His Trp Pro Lys Ser His Thr Leu Trp Ser

995	1000	1005	
Asn Gly Val Leu Glu Ser Glu Met Ile Ile Pro Lys Asn Leu Ala Gly			
1010	1015	1020	
Pro Val Ser Gln His Asn Tyr Arg Pro Gly Tyr His Thr Gln Ile Thr			
1025	1030	1035	1040
Gly Pro Trp His Leu Gly Lys Leu Glu Met Asp Phe Asp Phe Cys Asp			
	1045	1050	1055
Gly Thr Thr Val Val Val Thr Glu Asp Cys Gly Asn Arg Gly Pro Ser			
1060	1065	1070	
Leu Arg Thr Thr Thr Ala Ser Gly Lys Leu Ile Thr Glu Trp Cys Cys			
1075	1080	1085	
Arg Ser Cys Thr Leu Pro Pro Leu Arg Tyr Arg Gly Glu Asp Gly Cys			
1090	1095	1100	
Trp Tyr Gly Met Glu Ile Arg Pro Leu Lys Glu Lys Glu Glu Asn Leu			
1105	1110	1115	1120
Val Asn Ser Leu Val Thr Ala Gly His Gly Gln Val Asp Asn Phe Ser			
1125	1130	1135	
Leu Gly Val Leu Gly Met Ala Leu Phe Leu Glu Glu Met Leu Arg Thr			
1140	1145	1150	
Arg Val Gly Thr Lys His Ala Ile Leu Leu Val Ala Val Ser Phe Val			
1155	1160	1165	
Thr Leu Ile Thr Gly Asn Met Ser Phe Arg Asp Leu Gly Arg Val Met			
1170	1175	1180	
Val Met Val Gly Ala Thr Met Thr Gly Asp Ile Gly Met Gly Val Thr			
1185	1190	1195	1200
Tyr Leu Ala Leu Leu Ala Ala Phe Lys Val Arg Pro Thr Phe Ala Ala			
1205	1210	1215	
Gly Leu Leu Leu Arg Lys Leu Thr Ser Xaa Glu Leu Met Met Thr Thr			
1220	1225	1230	
Ile Gly Ile Val Leu Leu Ser Gln Ser Thr Ile Pro Glu Thr Ile Leu			
1235	1240	1245	
Glu Leu Thr Asp Ala Leu Ala Leu Gly Met Met Val Leu Lys Met Val			

1250 1255 1260
 Arg Asn Met Glu Lys Tyr Gln Leu Ala Val Thr Ile Met Ala Ile Leu
 1265 1270 1275 1280
 Cys Val Pro Asn Ala Val Ile Leu Gln Asn Ala Trp Lys Val Ser Cys
 1285 1290 1295
 Thr Ile Leu Ala Val Val Ser Val Ser Pro Leu Phe Leu Thr Ser Ser
 1300 1305 1310
 Gln Gln Lys Thr Asp Trp Ile Pro Leu Ala Leu Thr Ile Lys Gly Leu
 1315 1320 1325
 Asn Pro Thr Ala Ile Phe Leu Thr Thr Leu Ser Arg Thr Ser Lys Lys

 1330 1335 1340
 Arg Ser Trp Pro Leu Asn Glu Ala Ile Met Ala Val Gly Met Val Ser
 1345 1350 1355 1360
 Ile Leu Ala Ser Ser Leu Leu Lys Asn Asp Ile Pro Met Thr Gly Pro
 1365 1370 1375
 Leu Val Ala Gly Gly Leu Leu Thr Val Cys Tyr Val Leu Thr Gly Arg
 1380 1385 1390
 Ser Ala Asp Leu Glu Leu Glu Arg Ala Ala Asp Val Lys Trp Glu Asp
 1395 1400 1405

 Gln Ala Glu Ile Ser Gly Ser Ser Pro Ile Leu Ser Ile Thr Ile Ser
 1410 1415 1420
 Glu Asp Gly Ser Met Ser Ile Lys Asn Glu Glu Glu Glu Gln Thr Leu
 1425 1430 1435 1440
 Thr Ile Leu Ile Arg Thr Gly Leu Leu Val Ile Ser Gly Leu Phe Pro
 1445 1450 1455
 Val Ser Ile Pro Ile Thr Ala Ala Ala Trp Tyr Leu Trp Glu Val Lys
 1460 1465 1470
 Lys Gln Arg Ala Gly Val Leu Trp Asp Val Pro Ser Pro Pro Pro Met

 1475 1480 1485
 Gly Lys Ala Glu Leu Glu Asp Gly Ala Tyr Arg Ile Lys Gln Lys Gly
 1490 1495 1500

Ile Leu Gly Tyr Ser Gln Ile Gly Ala Gly Val Tyr Lys Glu Gly Thr
1505 1510 1515 1520
Phe His Thr Met Trp His Val Thr Arg Gly Ala Val Leu Met His Lys
 1525 1530 1535
Gly Lys Arg Ile Glu Pro Ser Trp Ala Asp Val Lys Lys Asp Leu Ile
 1540 1545 1550

Ser Tyr Gly Gly Gly Trp Lys Leu Glu Gly Glu Trp Lys Glu Gly Glu
 1555 1560 1565
Glu Val Gln Val Leu Ala Leu Glu Pro Gly Lys Asn Pro Arg Ala Val
 1570 1575 1580
Gln Thr Lys Pro Gly Leu Phe Lys Thr Asn Ala Gly Thr Ile Gly Ala
1585 1590 1595 1600
Val Ser Leu Asp Phe Ser Pro Gly Thr Ser Gly Ser Pro Ile Ile Asp
 1605 1610 1615
Lys Lys Gly Lys Val Val Gly Leu Tyr Gly Asn Gly Val Val Thr Arg

 1620 1625 1630
Ser Gly Ala Tyr Val Ser Ala Ile Ala Gln Thr Glu Lys Ser Ile Glu
 1635 1640 1645
Asp Asn Pro Glu Ile Glu Asp Asp Ile Phe Arg Lys Arg Arg Leu Thr
 1650 1655 1660
Ile Met Asp Leu His Pro Gly Ala Gly Lys Thr Lys Arg Tyr Leu Pro
1665 1670 1675 1680
Ala Ile Val Arg Glu Ala Ile Lys Arg Gly Leu Arg Thr Leu Ile Leu
 1685 1690 1695

Ala Pro Thr Arg Val Val Ala Ala Glu Met Glu Glu Ala Leu Arg Gly
 1700 1705 1710
Leu Pro Ile Arg Tyr Gln Thr Pro Ala Ile Arg Ala Val His Thr Gly
 1715 1720 1725
Arg Glu Ile Val Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Met Arg Leu
 1730 1735 1740
Leu Ser Pro Val Arg Val Pro Asn Tyr Asn Leu Ile Ile Met Asp Glu
1745 1750 1755 1760

Ala His Phe Thr Asp Pro Ala Ser Ile Ala Ala Arg Gly Tyr Ile Ser

1765 1770 1775

Thr Arg Val Glu Met Gly Glu Ala Ala Gly Ile Phe Met Thr Ala Thr

1780 1785 1790

Pro Pro Gly Ser Arg Asp Pro Phe Pro Gln Ser Asn Ala Pro Ile Ile

1795 1800 1805

Asp Glu Glu Arg Glu Ile Pro Glu Arg Ser Trp Asn Ser Gly His Glu

1810 1815 1820

Trp Val Thr Asp Phe Lys Gly Lys Thr Val Trp Phe Val Pro Ser Ile

1825 1830 1835 1840

Lys Ala Gly Asn Asp Ile Ala Ala Cys Leu Arg Lys Asn Gly Lys Lys

1845 1850 1855

Val Ile Gln Leu Ser Arg Lys Thr Phe Asp Ser Glu Tyr Val Lys Thr

1860 1865 1870

Arg Thr Asn Asp Trp Asp Phe Val Val Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met

1875 1880 1885

Gly Ala Asn Phe Lys Ala Glu Arg Val Ile Asp Pro Arg Arg Cys Met

1890 1895 1900

Lys Pro Val Ile Leu Thr Asp Gly Glu Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly

1905 1910 1915 1920

Pro Met Pro Val Thr His Ser Ser Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Ile

1925 1930 1935

Gly Arg Asn Pro Lys Asn Glu Asn Asp Gln Tyr Ile Tyr Met Gly Glu

1940 1945 1950

Pro Leu Glu Asn Asp Glu Asp Cys Ala His Trp Lys Glu Ala Lys Met

1955 1960 1965

Leu Leu Asp Asn Ile Asn Thr Pro Glu Gly Ile Ile Pro Ser Met Phe

1970 1975 1980

Glu Pro Glu Arg Glu Lys Val Asp Ala Ile Asp Gly Glu Tyr Arg Leu

1985 1990 1995 2000

Arg Gly Glu Ala Arg Lys Thr Phe Val Asp Leu Met Arg Arg Gly Asp

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

2260 2265 2270
 Ile Asp Leu Arg Pro Ala Ser Ala Trp Thr Leu Tyr Ala Val Ala Thr
 2275 2280 2285
 Thr Phe Val Thr Pro Met Leu Arg His Ser Ile Glu Asn Ser Ser Val
 2290 2295 2300
 Asn Val Ser Leu Thr Ala Ile Ala Asn Gln Ala Thr Val Leu Met Gly
 2305 2310 2315 2320
 Leu Gly Lys Gly Trp Pro Leu Ser Lys Met Asp Ile Gly Val Pro Leu
 2325 2330 2335
 Leu Ala Ile Gly Cys Tyr Ser Gln Val Asn Pro Ile Thr Leu Thr Ala

 2340 2345 2350
 Ala Leu Phe Leu Leu Val Ala His Tyr Ala Ile Ile Gly Pro Gly Leu
 2355 2360 2365
 Gln Ala Lys Ala Thr Arg Glu Ala Gln Lys Arg Ala Ala Ala Gly Ile
 2370 2375 2380
 Met Lys Asn Pro Thr Val Asp Gly Ile Thr Val Ile Asp Leu Asp Pro
 2385 2390 2395 2400
 Ile Pro Tyr Asp Pro Lys Phe Glu Lys Gln Leu Gly Gln Val Met Leu
 2405 2410 2415

 Leu Val Leu Cys Val Thr Gln Val Leu Met Met Arg Thr Thr Trp Ala
 2420 2425 2430
 Leu Cys Glu Ala Leu Thr Leu Ala Thr Gly Pro Ile Ser Thr Leu Trp
 2435 2440 2445
 Glu Gly Asn Pro Gly Arg Phe Trp Asn Thr Thr Ile Ala Val Ser Met
 2450 2455 2460
 Ala Asn Ile Phe Arg Gly Ser Tyr Leu Ala Gly Ala Gly Leu Leu Phe
 2465 2470 2475 2480
 Xaa Ile Met Lys Asn Thr Thr Asn Thr Arg Arg Gly Thr Gly Asn Ile

 2485 2490 2495
 Gly Glu Thr Leu Gly Glu Lys Trp Lys Ser Arg Leu Asn Ala Leu Gly
 2500 2505 2510

Lys Ser Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Lys Ser Gly Ile Gln Glu Val Asp
 2515 2520 2525
 Arg Thr Leu Ala Lys Glu Gly Ile Lys Arg Gly Glu Thr Asp His His
 2530 2535 2540
 Ala Val Ser Arg Gly Ser Ala Lys Leu Arg Trp Phe Val Glu Arg Asn
 2545 2550 2555 2560

 Met Val Thr Pro Glu Gly Lys Val Val Asp Leu Gly Cys Gly Arg Gly
 2565 2570 2575
 Gly Trp Ser Tyr Tyr Cys Gly Gly Leu Lys Asn Val Arg Glu Val Lys
 2580 2585 2590
 Gly Leu Thr Lys Gly Gly Pro Gly His Glu Glu Pro Ile Pro Met Ser
 2595 2600 2605
 Thr Tyr Gly Trp Asn Leu Val Arg Leu Gln Ser Gly Val Asp Val Phe
 2610 2615 2620
 Phe Ile Pro Pro Glu Lys Cys Asp Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu

 2625 2630 2635 2640
 Ser Ser Pro Asn Pro Thr Val Glu Ala Gly Arg Thr Leu Arg Val Leu
 2645 2650 2655
 Asn Leu Val Glu Asn Trp Leu Asn Asn Asn Thr Gln Phe Cys Ile Lys
 2660 2665 2670
 Val Leu Asn Pro Tyr Met Pro Ser Val Ile Glu Lys Met Glu Ala Leu
 2675 2680 2685
 Gln Arg Lys Tyr Gly Gly Ala Leu Val Arg Asn Pro Leu Ser Arg Asn
 2690 2695 2700

 Ser Thr His Glu Met Tyr Trp Val Ser Asn Ala Ser Gly Asn Ile Val
 2705 2710 2715 2720
 Ser Ser Val Asn Met Ile Ser Arg Met Leu Ile Asn Arg Phe Thr Met
 2725 2730 2735
 Arg Tyr Lys Lys Ala Thr Tyr Glu Pro Asp Val Asp Leu Gly Ser Gly
 2740 2745 2750
 Thr Arg Asn Ile Gly Ile Glu Ser Glu Ile Pro Asn Leu Asp Ile Ile
 2755 2760 2765

Gly Lys Arg Ile Glu Lys Ile Lys Gln Glu His Glu Thr Ser Trp His

2770

2775

2780

Tyr Asp Gln Asp His Pro Tyr Lys Thr Trp Ala Tyr His Gly Ser Tyr

2785

2790

2795

2800

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

2805

2810

2815

Arg Leu Leu Thr Lys Pro Trp Asp Val Val Pro Met Val Thr Gln Met

2820

2825

2830

Ala Met Thr Asp Thr Thr Pro Phe Gly Gln Gln Arg Val Phe Lys Glu

2835

2840

2845

Lys Val Asp Thr Arg Thr Gln Glu Pro Lys Glu Gly Thr Lys Lys Leu

2850

2855

2860

Met Lys Ile Thr Ala Glu Trp Leu Trp Lys Glu Leu Gly Lys Lys Lys

2865

2870

2875

2880

Thr Pro Arg Met Cys Thr Arg Glu Glu Phe Thr Arg Lys Val Arg Ser

2885

2890

2895

Asn Ala Ala Leu Gly Ala Ile Phe Thr Asp Glu Asn Lys Trp Lys Ser

2900

2905

2910

Ala Arg Glu Ala Val Glu Asp Ser Arg Phe Trp Glu Leu Val Asp Lys

2915

2920

2925

Glu Arg Asn Leu His Leu Glu Gly Lys Cys Glu Thr Cys Val Tyr Asn

2930

2935

2940

Met Met Gly Lys Arg Glu Lys Lys Leu Gly Glu Phe Gly Lys Ala Lys

2945

2950

2955

2960

Gly Ser Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala Arg Phe Leu Glu

2965

2970

2975

Phe Glu Ala Leu Gly Phe Leu Asn Glu Asp His Trp Phe Ser Arg Glu

2980

2985

2990

Asn Ser Leu Ser Gly Val Glu Gly Glu Gly Leu His Lys Leu Gly Tyr

2995

3000

3005

Ile Leu Arg Asp Val Ser Lys Lys Glu Gly Gly Ala Met Tyr Ala Asp

3010 3015 3020
 Asp Thr Ala Gly Trp Asp Thr Arg Ile Thr Leu Glu Asp Leu Lys Asn
 3025 3030 3035 3040
 Glu Glu Met Val Thr Asn His Met Glu Gly Glu His Lys Lys Leu Ala
 3045 3050 3055
 Glu Ala Ile Phe Lys Leu Thr Tyr Gln Asn Lys Val Val Arg Val Gln

 3060 3065 3070
 Arg Pro Thr Pro Arg Gly Thr Val Met Asp Ile Ile Ser Arg Arg Asp
 3075 3080 3085
 Gln Arg Gly Ser Gly Gln Val Gly Thr Tyr Gly Leu Asn Thr Phe Thr
 3090 3095 3100
 Asn Met Glu Ala Gln Leu Ile Arg Gln Met Glu Gly Glu Gly Val Phe
 3105 3110 3115 3120
 Lys Ser Ile Gln His Leu Thr Ile Thr Glu Glu Ile Ala Val Gln Asn
 3125 3130 3135

 Trp Leu Ala Arg Val Gly Arg Glu Arg Leu Ser Arg Met Ala Ile Ser
 3140 3145 3150
 Gly Asp Asp Cys Val Val Lys Pro Leu Asp Asp Arg Phe Ala Ser Ala
 3155 3160 3165
 Leu Thr Ala Leu Asn Asp Met Gly Lys Ile Arg Lys Asp Ile Gln Gln
 3170 3175 3180
 Trp Glu Pro Ser Arg Gly Trp Asn Asp Trp Thr Gln Val Pro Phe Cys
 3185 3190 3195 3200
 Ser His His Phe His Glu Leu Ile Met Lys Asp Gly Arg Val Leu Val

 3205 3210 3215
 Val Pro Cys Arg Asn Gln Asp Glu Leu Ile Gly Arg Ala Arg Ile Ser
 3220 3225 3230
 Gln Gly Ala Gly Trp Ser Leu Arg Glu Thr Ala Cys Leu Gly Lys Ser
 3235 3240 3245
 Tyr Ala Gln Met Trp Ser Leu Met Tyr Phe His Arg Arg Asp Leu Arg
 3250 3255 3260
 Leu Ala Ala Asn Ala Ile Cys Ser Ala Val Pro Ser His Trp Val Pro

3265 3270 3275 3280

Thr Ser Arg Thr Thr Trp Ser Ile His Ala Lys His Glu Trp Met Thr

 3285 3290 3295

Thr Glu Asp Met Leu Thr Val Trp Asn Arg Val Trp Ile Gln Glu Asn

 3300 3305 3310

Pro Trp Met Glu Asp Lys Thr Pro Val Glu Ser Trp Glu Glu Ile Pro

 3315 3320 3325

Tyr Leu Gly Lys Arg Glu Asp Gln Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly Leu

 3330 3335 3340

Thr Ser Arg Ala Thr Trp Ala Lys Asn Ile Gln Ala Ala Ile Asn Gln

3345 3350 3355 3360

Val Arg Ser Leu Ile Gly Asn Glu Glu Tyr Thr Asp Tyr Met Pro Ser

 3365 3370 3375

Met Lys Arg Phe Arg Arg Glu Glu Glu Glu Ala Gly Val Leu Trp

 3380 3385 3390

<210> 12

<211> 3391

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dengue virus serotype 4, MVS

<220><221> SITE

<222> (1226)

<223> Lys or Arg

<400> 12

Met Asn Asn Gln Arg Lys Lys Ala Lys Asn Thr Pro Phe Asn Met Leu

1 5 10 15

Lys Arg Glu Arg Asn Arg Val Ser Thr Val Gln Gln Leu Thr Lys Arg

 20 25 30

Phe Ser Leu Gly Met Leu Gln Gly Arg Gly Pro Leu Lys Leu Phe Met

 35 40 45

Ala Leu Val Ala Phe Leu Arg Phe Leu Thr Ile Pro Pro Thr Ala Gly

50 55 60

Ile Leu Lys Arg Trp Gly Thr Ile Lys Lys Ser Lys Ala Ile Asn Val
65 70 75 80

Leu Arg Gly Phe Arg Lys Glu Ile Gly Arg Met Leu Asn Ile Leu Asn
85 90 95

Arg Arg Arg Ser Ser Ala Gly Met Ile Ile Met Leu Ile Pro Thr Val
100 105 110

Met Ala Phe His Leu Thr Thr Arg Asp Gly Glu Pro Leu Met Ile Val
115 120 125

Ala Lys His Glu Arg Gly Arg Pro Leu Leu Phe Lys Thr Thr Glu Gly
130 135 140

Ile Asn Lys Cys Thr Leu Ile Ala Met Asp Leu Gly Glu Met Cys Glu

145 150 155 160
Asp Thr Val Thr Tyr Lys Cys Pro Leu Leu Val Asn Thr Glu Pro Glu
165 170 175

Asp Ile Asp Cys Trp Cys Asn Leu Thr Ser Thr Trp Val Met Tyr Gly
180 185 190

Thr Cys Thr Gln Ser Gly Glu Arg Arg Arg Glu Lys Arg Ser Val Ala
195 200 205

Leu Thr Pro His Ser Gly Met Gly Leu Glu Thr Arg Ala Glu Thr Trp
210 215 220

Met Ser Ser Glu Gly Ala Trp Lys His Ala Gln Arg Val Glu Ser Trp
225 230 235 240

Ile Leu Arg Asn Pro Gly Phe Ala Leu Leu Ala Gly Phe Met Ala Tyr
245 250 255

Met Ile Gly Gln Thr Gly Ile Gln Arg Thr Val Phe Phe Val Leu Met
260 265 270

Met Leu Val Ala Pro Ser Tyr Gly Met Arg Cys Val Gly Val Gly Asn
275 280 285

Arg Asp Phe Val Glu Gly Val Ser Gly Gly Ala Trp Val Asp Leu Val

290 295 300

Leu Glu His Gly Gly Cys Val Thr Thr Met Ala Gln Gly Lys Pro Thr

305 310 315 320
 Leu Asp Phe Glu Leu Thr Lys Thr Thr Ala Lys Glu Val Ala Leu Leu
 325 330 335
 Arg Thr Tyr Cys Ile Glu Ala Ser Ile Ser Asn Ile Thr Thr Ala Thr
 340 345 350
 Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Pro Tyr Leu Lys Glu Glu Gln Asp Gln
 355 360 365

 Gln Tyr Ile Cys Arg Arg Asp Val Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly
 370 375 380
 Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Gly Val Val Thr Cys Ala Lys Phe Ser
 385 390 395 400
 Cys Ser Gly Lys Ile Thr Gly Asn Leu Val Gln Ile Glu Asn Leu Glu
 405 410 415
 Tyr Thr Val Val Val Thr Val His Asn Gly Asp Thr His Ala Val Gly
 420 425 430
 Asn Asp Thr Ser Asn His Gly Val Thr Ala Thr Ile Thr Pro Arg Ser

 435 440 445
 Pro Ser Val Glu Val Lys Leu Pro Asp Tyr Gly Glu Leu Thr Leu Asp
 450 455 460
 Cys Glu Pro Arg Ser Gly Ile Asp Phe Asn Glu Met Ile Leu Met Lys
 465 470 475 480
 Met Lys Lys Lys Thr Trp Leu Val His Lys Gln Trp Phe Leu Asp Leu
 485 490 495
 Pro Leu Pro Trp Thr Ala Gly Ala Asp Thr Ser Glu Val His Trp Asn
 500 505 510

 Tyr Lys Glu Arg Met Val Thr Phe Lys Val Pro His Ala Lys Arg Gln
 515 520 525
 Asp Val Thr Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Met His Ser Ala Leu
 530 535 540
 Ala Gly Ala Thr Glu Val Asp Ser Gly Asp Gly Asn His Met Phe Ala
 545 550 555 560
 Gly His Leu Lys Cys Lys Val Arg Met Glu Lys Leu Arg Ile Lys Gly

565 570 575
Met Ser Tyr Thr Met Cys Ser Gly Lys Phe Ser Ile Asp Lys Glu Met

580 585 590
Ala Glu Thr Gln His Gly Thr Thr Val Val Lys Val Lys Tyr Glu Gly

595 600 605
Ala Gly Ala Pro Cys Lys Val Pro Ile Glu Ile Arg Asp Val Asn Lys

610 615 620
Glu Lys Val Val Gly Arg Ile Ile Ser Ser Thr Pro Leu Ala Glu Asn

625 630 635 640
Thr Asn Ser Val Thr Asn Ile Glu Leu Glu Pro Pro Phe Gly Asp Ser

645 650 655

Tyr Ile Val Ile Gly Val Gly Asn Ser Ala Leu Thr Leu His Trp Phe
660 665 670

Arg Lys Gly Ser Ser Ile Gly Lys Met Phe Glu Ser Thr Tyr Arg Gly
675 680 685

Ala Lys Arg Met Ala Ile Leu Gly Glu Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser
690 695 700

Val Gly Gly Leu Phe Thr Ser Leu Gly Lys Ala Val His Gln Val Phe
705 710 715 720

Gly Ser Val Tyr Thr Thr Leu Phe Gly Gly Val Ser Trp Met Ile Arg

725 730 735
Ile Leu Ile Gly Phe Leu Val Leu Trp Ile Gly Thr Asn Ser Arg Asn

740 745 750
Thr Ser Met Ala Met Thr Cys Ile Ala Ala Gly Ile Val Thr Leu Tyr

755 760 765
Leu Gly Val Met Val Gln Ala Asp Ser Gly Cys Val Val Ser Trp Lys

770 775 780
Asn Lys Glu Leu Lys Cys Gly Ser Gly Ile Phe Ile Thr Asp Asn Val

785 790 795 800

His Thr Trp Thr Glu Gln Tyr Lys Phe Gln Pro Glu Ser Pro Ser Lys
805 810 815

Leu Ala Ser Ala Ile Gln Lys Ala His Glu Glu Asp Ile Cys Gly Ile
 820 825 830
 Arg Ser Val Thr Arg Leu Glu Asn Leu Met Trp Lys Gln Ile Thr Pro
 835 840 845
 Glu Leu Asn His Ile Leu Ser Glu Asn Glu Val Lys Leu Thr Ile Met
 850 855 860
 Thr Gly Asp Ile Lys Gly Ile Met Gln Ala Gly Lys Arg Ser Leu Arg

 865 870 875 880
 Pro Gln Pro Thr Glu Leu Lys Tyr Ser Trp Lys Thr Trp Gly Lys Ala
 885 890 895
 Lys Met Leu Ser Thr Glu Ser His Asn Gln Thr Phe Leu Ile Asp Gly
 900 905 910
 Pro Glu Thr Ala Glu Cys Pro Asn Thr Asn Arg Ala Trp Asn Ser Leu
 915 920 925
 Glu Val Glu Asp Tyr Gly Phe Gly Val Phe Thr Thr Asn Ile Trp Leu
 930 935 940

 Lys Leu Lys Glu Lys Gln Asp Val Phe Cys Asp Ser Lys Leu Met Ser
 945 950 955 960
 Ala Ala Ile Lys Asp Asn Arg Ala Val His Ala Asp Met Gly Tyr Trp
 965 970 975
 Ile Glu Ser Ala Leu Asn Asp Thr Trp Lys Ile Glu Lys Ala Ser Phe
 980 985 990
 Ile Glu Val Lys Asn Cys His Trp Pro Lys Ser His Thr Leu Trp Ser
 995 1000 1005
 Asn Gly Val Leu Glu Ser Glu Met Ile Ile Pro Lys Asn Leu Ala Gly

 1010 1015 1020
 Pro Val Ser Gln His Asn Tyr Arg Pro Gly Tyr His Thr Gln Ile Thr
 1025 1030 1035 1040
 Gly Pro Trp His Leu Gly Lys Leu Glu Met Asp Phe Asp Phe Cys Asp
 1045 1050 1055
 Gly Thr Thr Val Val Val Thr Glu Asp Cys Gly Asn Arg Gly Pro Ser
 1060 1065 1070

Leu Arg Thr Thr Thr Ala Ser Gly Lys Leu Ile Thr Glu Trp Cys Cys
 1075 1080 1085

 Arg Ser Cys Thr Leu Pro Pro Leu Arg Tyr Arg Gly Glu Asp Gly Cys
 1090 1095 1100
 Trp Tyr Gly Met Glu Ile Arg Pro Leu Lys Glu Lys Glu Glu Asn Leu
 1105 1110 1115 1120
 Val Asn Ser Leu Val Thr Ala Gly His Gly Gln Val Asp Asn Phe Ser
 1125 1130 1135
 Leu Gly Val Leu Gly Met Ala Leu Phe Leu Glu Glu Met Leu Arg Thr
 1140 1145 1150
 Arg Val Gly Thr Lys His Ala Ile Leu Leu Val Ala Val Ser Phe Val

 1155 1160 1165
 Thr Leu Ile Thr Gly Asn Met Ser Phe Arg Asp Leu Gly Arg Val Met
 1170 1175 1180
 Val Met Val Gly Ala Thr Met Thr Gly Asp Ile Gly Met Gly Val Thr
 1185 1190 1195 1200
 Tyr Leu Ala Leu Leu Ala Ala Phe Lys Val Arg Pro Thr Phe Ala Ala
 1205 1210 1215
 Gly Leu Leu Leu Arg Lys Leu Thr Ser Xaa Glu Leu Met Met Thr Thr
 1220 1225 1230

 Ile Gly Ile Val Leu Leu Ser Gln Ser Thr Ile Pro Glu Thr Ile Leu
 1235 1240 1245
 Glu Leu Thr Asp Ala Leu Ala Leu Gly Met Met Val Leu Lys Met Val
 1250 1255 1260
 Arg Asn Met Glu Lys Tyr Gln Leu Ala Val Thr Ile Met Ala Ile Leu
 1265 1270 1275 1280
 Cys Val Pro Asn Ala Val Ile Leu Gln Asn Ala Trp Lys Val Ser Cys
 1285 1290 1295
 Thr Ile Leu Ala Val Val Ser Val Ser Pro Leu Phe Leu Thr Ser Ser

 1300 1305 1310
 Gln Gln Lys Thr Asp Trp Ile Pro Leu Ala Leu Thr Ile Lys Gly Leu

1315	1320	1325	
Asn Pro Thr Ala Ile Phe Leu Thr Thr Leu Ser Arg Thr Ser Lys Lys			
1330	1335	1340	
Arg Ser Trp Pro Leu Asn Glu Ala Ile Met Ala Val Gly Met Val Ser			
1345	1350	1355	1360
Ile Leu Ala Ser Ser Leu Leu Lys Asn Asp Ile Pro Met Thr Gly Pro			
1365	1370	1375	
Leu Val Ala Gly Gly Leu Leu Thr Val Cys Tyr Val Leu Thr Gly Arg			
1380	1385	1390	
Ser Ala Asp Leu Glu Leu Glu Arg Ala Ala Asp Val Lys Trp Glu Asp			
1395	1400	1405	
Gln Ala Glu Ile Ser Gly Ser Ser Pro Ile Leu Ser Ile Thr Ile Ser			
1410	1415	1420	
Glu Asp Gly Ser Met Ser Ile Lys Asn Glu Glu Glu Glu Gln Thr Leu			
1425	1430	1435	1440
Thr Ile Leu Ile Arg Thr Gly Leu Leu Val Ile Ser Gly Leu Phe Pro			
1445	1450	1455	
Val Ser Ile Pro Ile Thr Ala Ala Ala Trp Tyr Leu Trp Glu Val Lys			
1460	1465	1470	
Lys Gln Arg Ala Gly Val Leu Trp Asp Val Pro Ser Pro Pro Pro Met			
1475	1480	1485	
Gly Lys Ala Glu Leu Glu Asp Gly Ala Tyr Arg Ile Lys Gln Lys Gly			
1490	1495	1500	
Ile Leu Gly Tyr Ser Gln Ile Gly Ala Gly Val Tyr Lys Glu Gly Thr			
1505	1510	1515	1520
Phe His Thr Met Trp His Val Thr Arg Gly Ala Val Leu Met His Lys			
1525	1530	1535	
Gly Lys Arg Ile Glu Pro Ser Trp Ala Asp Val Lys Lys Asp Leu Ile			
1540	1545	1550	
Ser Tyr Gly Gly Gly Trp Lys Leu Glu Gly Glu Trp Lys Glu Gly Glu			
1555	1560	1565	
Glu Val Gln Val Leu Ala Leu Glu Pro Gly Lys Asn Pro Arg Ala Val			

1570 1575 1580
 Gln Thr Lys Pro Gly Leu Phe Lys Thr Asn Ala Gly Thr Ile Gly Ala

 1585 1590 1595 1600
 Val Ser Leu Asp Phe Ser Pro Gly Thr Ser Gly Ser Pro Ile Ile Asp

 1605 1610 1615
 Lys Lys Gly Lys Val Val Gly Leu Tyr Gly Asn Gly Val Val Thr Arg

 1620 1625 1630
 Ser Gly Ala Tyr Val Ser Ala Ile Ala Gln Thr Glu Lys Ser Ile Glu

 1635 1640 1645
 Asp Asn Pro Glu Ile Glu Asp Asp Ile Phe Arg Lys Arg Arg Leu Thr

 1650 1655 1660

 Ile Met Asp Leu His Pro Gly Ala Gly Lys Thr Lys Arg Tyr Leu Pro
 1665 1670 1675 1680
 Ala Ile Val Arg Glu Ala Ile Lys Arg Gly Leu Arg Thr Leu Ile Leu

 1685 1690 1695
 Ala Pro Thr Arg Val Val Ala Ala Glu Met Glu Glu Ala Leu Arg Gly

 1700 1705 1710
 Leu Pro Ile Arg Tyr Gln Thr Pro Ala Ile Arg Ala Val His Thr Gly

 1715 1720 1725
 Arg Glu Ile Val Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Met Arg Leu

 1730 1735 1740
 Leu Ser Pro Val Arg Val Pro Asn Tyr Asn Leu Ile Ile Met Asp Glu
 1745 1750 1755 1760
 Ala His Phe Thr Asp Pro Ala Ser Ile Ala Ala Arg Gly Tyr Ile Ser

 1765 1770 1775
 Thr Arg Val Glu Met Gly Glu Ala Ala Gly Ile Phe Met Thr Ala Thr

 1780 1785 1790
 Pro Pro Gly Ser Arg Asp Pro Phe Pro Gln Ser Asn Ala Pro Ile Ile

 1795 1800 1805

 Asp Glu Glu Arg Glu Ile Pro Glu Arg Ser Trp Asn Ser Gly His Glu

 1810 1815 1820

Trp Val Thr Asp Phe Lys Gly Lys Thr Val Trp Phe Val Pro Ser Ile
 1825 1830 1835 1840
 Lys Ala Gly Asn Asp Ile Ala Ala Cys Leu Arg Lys Asn Gly Lys Lys
 1845 1850 1855
 Val Ile Gln Leu Ser Arg Lys Thr Phe Asp Ser Glu Tyr Val Lys Thr
 1860 1865 1870
 Arg Thr Asn Asp Trp Asp Phe Val Val Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met
 1875 1880 1885
 Gly Ala Asn Phe Lys Ala Glu Arg Val Ile Asp Pro Arg Arg Cys Met
 1890 1895 1900
 Lys Pro Val Ile Leu Thr Asp Gly Glu Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly
 1905 1910 1915 1920
 Pro Met Pro Val Thr His Ser Ser Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Ile
 1925 1930 1935
 Gly Arg Asn Pro Lys Asn Glu Asn Asp Gln Tyr Ile Tyr Met Gly Glu
 1940 1945 1950
 Pro Leu Glu Asn Asp Glu Asp Cys Ala His Trp Lys Glu Ala Lys Met
 1955 1960 1965
 Leu Leu Asp Asn Ile Asn Thr Pro Glu Gly Ile Ile Pro Ser Met Phe
 1970 1975 1980
 Glu Pro Glu Arg Glu Lys Val Asp Ala Ile Asp Gly Glu Tyr Arg Leu
 1985 1990 1995 2000
 Arg Gly Glu Ala Arg Lys Thr Phe Val Asp Leu Met Arg Arg Gly Asp
 2005 2010 2015
 Leu Pro Val Trp Leu Ala Tyr Arg Val Ala Ala Glu Gly Ile Asn Tyr
 2020 2025 2030
 Ala Asp Arg Arg Trp Cys Phe Asp Gly Val Lys Asn Asn Gln Ile Leu
 2035 2040 2045
 Glu Glu Asn Val Glu Val Glu Ile Trp Thr Lys Glu Gly Glu Arg Lys
 2050 2055 2060
 Lys Leu Lys Pro Arg Trp Leu Asp Ala Arg Ile Tyr Ser Asp Pro Leu
 2065 2070 2075 2080

Ala Leu Lys Glu Phe Lys Glu Phe Ala Ala Gly Arg Lys Ser Leu Thr

2085 2090 2095

Leu Asn Leu Ile Thr Glu Met Gly Arg Leu Pro Thr Phe Met Thr Gln

2100 2105 2110

Lys Val Arg Asp Ala Leu Asp Asn Leu Ala Val Leu His Thr Ala Glu

2115 2120 2125

Ala Gly Gly Arg Ala Tyr Asn His Ala Leu Ser Glu Leu Pro Glu Thr

2130 2135 2140

Leu Glu Thr Leu Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ala Thr Val Thr Gly Gly

2145 2150 2155 2160

Ile Phe Leu Phe Leu Met Ser Ala Arg Gly Ile Gly Lys Met Thr Leu

2165 2170 2175

Gly Met Cys Cys Ile Ile Thr Ala Ser Ile Leu Leu Trp Tyr Ala Gln

2180 2185 2190

Ile Gln Pro His Trp Ile Ala Ala Ser Ile Ile Leu Glu Phe Phe Leu

2195 2200 2205

Ile Val Leu Leu Ile Pro Glu Pro Glu Lys Gln Arg Thr Pro Gln Asp

2210 2215 2220

Asn Gln Leu Thr Tyr Val Val Ile Ala Ile Leu Thr Val Val Ala Ala

2225 2230 2235 2240

Thr Met Ala Asn Glu Met Gly Phe Leu Glu Lys Thr Lys Lys Asp Leu

2245 2250 2255

Gly Leu Gly Ser Ile Ala Thr Gln Gln Pro Glu Ser Asn Ile Leu Asp

2260 2265 2270

Ile Asp Leu Arg Pro Ala Ser Ala Trp Thr Leu Tyr Ala Val Ala Thr

2275 2280 2285

Thr Phe Val Thr Pro Met Leu Arg His Ser Ile Glu Asn Ser Ser Val

2290 2295 2300

Asn Val Ser Leu Thr Ala Ile Ala Asn Gln Ala Thr Val Leu Met Gly

2305 2310 2315 2320

Leu Gly Lys Gly Trp Pro Leu Ser Lys Met Asp Ile Gly Val Pro Leu

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

2580 2585 2590
Gly Leu Thr Lys Gly Gly Pro Gly His Glu Glu Pro Ile Pro Met Ser

2595 2600 2605
Thr Tyr Gly Trp Asn Leu Val Arg Leu Gln Ser Gly Val Asp Val Phe

2610 2615 2620
Phe Ile Pro Pro Glu Lys Cys Asp Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu

2625 2630 2635 2640
Ser Ser Pro Asn Pro Thr Val Glu Ala Gly Arg Thr Leu Arg Val Leu

2645 2650 2655
Asn Leu Val Glu Asn Trp Leu Asn Asn Asn Thr Gln Phe Cys Ile Lys

2660 2665 2670

Val Leu Asn Pro Tyr Met Pro Ser Val Ile Glu Lys Met Glu Ala Leu

2675 2680 2685

Gln Arg Lys Tyr Gly Gly Ala Leu Val Arg Asn Pro Leu Ser Arg Asn

2690 2695 2700

Ser Thr His Glu Met Tyr Trp Val Ser Asn Ala Ser Gly Asn Ile Val

2705 2710 2715 2720

Ser Ser Val Asn Met Ile Ser Arg Met Leu Ile Asn Arg Phe Thr Met

2725 2730 2735

Arg Tyr Lys Lys Ala Thr Tyr Glu Pro Asp Val Asp Leu Gly Ser Gly

2740 2745 2750

Thr Arg Asn Ile Gly Ile Glu Ser Glu Ile Pro Asn Leu Asp Ile Ile

2755 2760 2765

Gly Lys Arg Ile Glu Lys Ile Lys Gln Glu His Glu Thr Ser Trp His

2770 2775 2780

Tyr Asp Gln Asp His Pro Tyr Lys Thr Trp Ala Tyr His Gly Ser Tyr

2785 2790 2795 2800

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

2805 2810 2815

Arg Leu Leu Thr Lys Pro Trp Asp Val Val Pro Met Val Thr Gln Met

2820 2825 2830

Ala Met Thr Asp Thr Thr Pro Phe Gly Gln Gln Arg Val Phe Lys Glu
2835 2840 2845

Lys Val Asp Thr Arg Thr Gln Glu Pro Lys Glu Gly Thr Lys Lys Leu
2850 2855 2860

Met Lys Ile Thr Ala Glu Trp Leu Trp Lys Glu Leu Gly Lys Lys Lys
2865 2870 2875 2880

Thr Pro Arg Met Cys Thr Arg Glu Glu Phe Thr Arg Lys Val Arg Ser
2885 2890 2895

Asn Ala Ala Leu Gly Ala Ile Phe Thr Asp Glu Asn Lys Trp Lys Ser
2900 2905 2910

Ala Arg Glu Ala Val Glu Asp Ser Arg Phe Trp Glu Leu Val Asp Lys
2915 2920 2925

Glu Arg Asn Leu His Leu Glu Gly Lys Cys Glu Thr Cys Val Tyr Asn
2930 2935 2940

Met Met Gly Lys Arg Glu Lys Lys Leu Gly Glu Phe Gly Lys Ala Lys
2945 2950 2955 2960

Gly Ser Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala Arg Phe Leu Glu
2965 2970 2975

Phe Glu Ala Leu Gly Phe Leu Asn Glu Asp His Trp Phe Ser Arg Glu
2980 2985 2990

Asn Ser Leu Ser Gly Val Glu Gly Glu Gly Leu His Lys Leu Gly Tyr
2995 3000 3005

Ile Leu Arg Asp Val Ser Lys Lys Glu Gly Gly Ala Met Tyr Ala Asp
3010 3015 3020

Asp Thr Ala Gly Trp Asp Thr Arg Ile Thr Leu Glu Asp Leu Lys Asn
3025 3030 3035 3040

Glu Glu Met Val Thr Asn His Met Glu Gly Glu His Lys Lys Leu Ala
3045 3050 3055

Glu Ala Ile Phe Lys Leu Thr Tyr Gln Asn Lys Val Val Arg Val Gln
3060 3065 3070

Arg Pro Thr Pro Arg Gly Thr Val Met Asp Ile Ile Ser Arg Arg Asp
3075 3080 3085

Gln Arg Gly Ser Gly Gln Val Gly Thr Tyr Gly Leu Asn Thr Phe Thr

3090

3095

3100

Asn Met Glu Ala Gln Leu Ile Arg Gln Met Glu Gly Glu Gly Val Phe

3105

3110

3115

3120

Lys Ser Ile Gln His Leu Thr Ile Thr Glu Glu Ile Ala Val Gln Asn

3125

3130

3135

Trp Leu Ala Arg Val Gly Arg Glu Arg Leu Ser Arg Met Ala Ile Ser

3140

3145

3150

Gly Asp Asp Cys Val Val Lys Pro Leu Asp Asp Arg Phe Ala Ser Ala

3155

3160

3165

Leu Thr Ala Leu Asn Asp Met Gly Lys Ile Arg Lys Asp Ile Gln Gln

3170

3175

3180

Trp Glu Pro Ser Arg Gly Trp Asn Asp Trp Thr Gln Val Pro Phe Cys

3185

3190

3195

3200

Ser His His Phe His Glu Leu Ile Met Lys Asp Gly Arg Val Leu Val

3205

3210

3215

Val Pro Cys Arg Asn Gln Asp Glu Leu Ile Gly Arg Ala Arg Ile Ser

3220

3225

3230

Gln Gly Ala Gly Trp Ser Leu Arg Glu Thr Ala Cys Leu Gly Lys Ser

3235

3240

3245

Tyr Ala Gln Met Trp Ser Leu Met Tyr Phe His Arg Arg Asp Leu Arg

3250

3255

3260

Leu Ala Ala Asn Ala Ile Cys Ser Ala Val Pro Ser His Trp Val Pro

3265

3270

3275

3280

Thr Ser Arg Thr Thr Trp Ser Ile His Ala Lys His Glu Trp Met Thr

3285

3290

3295

Thr Glu Asp Met Leu Thr Val Trp Asn Arg Val Trp Ile Gln Glu Asn

3300

3305

3310

Pro Trp Met Glu Asp Lys Thr Pro Val Glu Ser Trp Glu Glu Ile Pro

3315

3320

3325

Tyr Leu Gly Lys Arg Glu Asp Gln Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly Leu

3330 3335 3340
 Thr Ser Arg Ala Thr Trp Ala Lys Asn Ile Gln Ala Ala Ile Asn Gln
 3345 3350 3355 3360
 Val Arg Ser Leu Ile Gly Asn Glu Glu Tyr Thr Asp Tyr Met Pro Ser
 3365 3370 3375
 Met Lys Arg Phe Arg Arg Glu Glu Glu Glu Ala Gly Val Leu Trp
 3380 3385 3390

<210> 13
 <211> 10723
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Dengue virus seroytpe 1, MVS
 <400> 13

agttgttagt ctacgtggac cgacaaagac agattctttg agggagctaa gctcaatgta	60
gttctaacag ttttttaatt agagagcaga tctctgatga ataaccaacg gaaaaaggcg	120
aaaaacacgc ctttcaatat gctgaaacgc gagagaaacc gcgtgtcgac tgtgcaacag	180
ctgacaaaga gattctcact tggaaatctg caggagcagag gaccattaaa actgttcattg	240
gccctggtgg cgttccctcg tttcctaaca atcccaccaa cagcagggat attgaagaga	300
tggggaacaa ttaaaaaatc aaaagctatt aatgttttga gagggttcag gaaagagatt	360
ggaaggatgc tgaacatctt gaataggaga cgcagatctg caggcatgat cattatgctg	420
attccaacag tgatggcggt ccatthaacc acgcgtgggg gagagccga tatgatagtt	480
agcaagcagg aaagaggaaa gtcacttttg ttcaagacct ctgcaggtgt caacatgtgc	540
accctcattg cgatggattt gggagagtig tgtgaggaca cgatgaccta caaatgcccc	600
cggatcactg aggcggaacc agatgacgtt gactgttggt gcaatgccac ggacacatgg	660
gtgacctatg gaacgtgctc tcaaactggc gaacaccgac gagacaaacg ttccgtcgca	720
ttggccccac acgtggggct tggcctagaa acaagagccg aaacgtggat gtcctctgaa	780
ggtgcttgga aacagatata aaaagtagag acttgggctc tgagacatcc aggattcacg	840
gtgatagccc tttttctagc acatgccata ggaacatcca tcaccagaa agggatcatt	900
ttcattttgc tgatgctggt aacaccatct atggccatgc gatgcgtggg aataggcaac	960
agagacttcg tggaaggact gtcaggagca acatgggtgg atgtggtact ggagcatgga	1020
agttgcgtca ccaccatggc aaaaaacaaa ccaacactgg acattgaact ctgaagacg	1080

gaggtcacaa accctgcagt tctgcgtaaa ttgtgcattg aagctaaaat atcaaacacc	1140
accaccgatt cgagatgtcc aacacaagga gaagccacac tgggtgaaga acaagacgcg	1200
aacttttgtgt gccgacgaac gttcgtggac agaggctggg gcaatggctg tgggctattc	1260
ggaaaaggta gtctaataac gtgtgccaag ttttaagtgt tgacaaaact agaaggaaag	1320
atagtccaat atgaaaacct aaaatattca gtgatatgca ccgtccacac tggagatcag	1380
caccaggtagg gaaatgagac tacagaacat ggaacaactg caaccataac acctcaagct	1440
cctacgtcgg aaatacagct gaccgactac ggaaccctta cattagattg ttcacctagg	1500
acagggctag attttaacga gatggtgttg ctgacaatga aagaaagatc atggcttgtc	1560
cacaaacaat gggtccctaga cttaccactg ccttggacct ctggggcttc aacatcccaa	1620
gagacttgga acagacaaga tttactggtc acatttaaga cagctcatgc aaagaagcag	1680
gaagtagtcg tactaggatc acaagaagga gcaatgcaca ctgctgtgac tggagcgaca	1740
gaaatccaaa cgtcaggaac gacaacaatt ttcgcaggac acctaaaatg cagactaaaa	1800
atggacaaac taactttaaa agggatgtca tatgtgatgt gcacaggctc attcaagtta	1860
gagaaagaag tggctgagac ccagcatgga actgttctgg tgcaggttaa atatgaagga	1920
acagacgcac catgcaagat tcccttttcg acccaagatg agaaaggagc aaccagaat	1980
gggagattaa taacagccaa ccccatagtc actgacaaag aaaaaccagt caatatgag	2040
gcagaaccac cctttgggtga gagctacatc gtggtaggag caggtgaaaa agctttgaaa	2100
ctaagctggt tcaagaaagg aagcagcata gggaaaatgt ttgaagcaac tgcccagga	2160
gcacgaagga tggccattct gggagacacc gcatgggact tcggttctat aggaggagtg	2220
ttcacgtcta tgggaaaact ggtacaccag gtttttggaa ctgcatatgg agttttgttt	2280
agcggagttt cttggaccat gaaaatagga atagggttc tgctgacatg gctaggatta	2340
aattcaagga acacgtccct ttcgatgatg tgcacgcag ccggcattgt gacactgtat	2400
ttgggagtca tgggtcaggc cgatagtgtt tgcgttgtga gctggaaaaa caaagaactg	2460
aatgtggca gtgggatttt catcacagac aacgtgcaca catggacaga acaatacaag	2520
ttccaaccag aatccccttc aaaactagct tcagctatcc agaaagccca tgaagaggac	2580
atttgtggaa tccgctcagt aacaagactg gagaatctga tgtggaaaca aataacacca	2640
gaattgaatc acattctatc agaaaatgag gtgaagttaa ctattatgac aggagacatc	2700
aaaggaatca tgcaggcagg aaaacgatct ctgcggcctc agcccactga gctgaagtat	2760
tcatggaaaa catggggcaa agcaaaaatg ctctctacag agtctcataa ccagaccttt	2820

ctcattgatg gccccgaaac agcagaatgc cccaacacaa atagagcttg gaattcgttg	2880
gaagttgaag actatggctt tggagtattc accaccaata tatggctaaa attgaaagaa	2940
aaacaggatg tattctgcga ctcaaaactc atgtcagcgg ccataaaaaga caacagagcc	3000
gtccatgccg atatgggtta ttggatagaa agtgcactca atgacacatg gaagatagag	3060
aaagcctctt tcattgaagt taaaaactgc cactggccaa aatcacacac cctctggagc	3120
aatggagtgc tagaaagtga gatgataatt ccaaagaatc tcgctggacc agtgtctcaa	3180
cacaactata gaccaggcta ccatacacia ataacaggac catggcatct aggtaagctt	3240
gagatggact ttgatttctg tgatggaaca acagtggtag tgactgagga ctgcggaaat	3300
agaggaccct ctttgagaac aaccactgcc tctggaaaac tcataacaga atgggtctgc	3360
cgatcttgca cattaccacc gctaagatac agagggtagg atgggtgctg gtacgggatg	3420
gaaatcagac cattgaagga gaaagaagag aatttggtca actccttggc cacagctgga	3480
catgggcagg tcgacaactt ttactagga gtcttgggaa tggcattgtt cctggaggaa	3540
atgcttagga cccgagtagg aacgaaacat gcaatactac tagttgcagt ttcttttgtg	3600
acattgatca caggaacat gtcttttaga gacctgggaa gagtgatggt tatggtaggc	3660
gccactatga cggatgacat aggtatgggc gtgacttata ttgccctact agcagccttc	3720
aaagtcagac caacttttgc agctggacta ctcttgagaa agctgacctc caaggaattg	3780
atgatgacta ctataggaat tgtactctc tcccagagca ccctaccaga gaccattctt	3840
gagttgactg atgcgttagc cttaggcatg atggctctca aaatggtgag aaatatggaa	3900
aagtatcaat tggcagtgc tatcatggct atcttgtgcg tcccaaacgc agtgatatta	3960
caaaacgcat ggaaagttag ttgcacaata ttggcagtgg tgtccgtttc cccactgttc	4020
ttaacatcct cacagcaaaa aacagattgg ataccattag cattgacgat caaaggtctc	4080
aatccaacag ctatttttct aacaaccctc tcaagaacca gcaagaaaag gagctggcca	4140
ttaaagtagg ctatcatggc agtcgggatg gtgagcattt tagccagttc tctcctaaaa	4200
aatgatattc ccatgacagg accattagtg gctggagggc tctcactgt gtgctacgtg	4260
ctcactggac gatcgccga tttggaactg gagagagcag ccgatgtcaa atgggaagac	4320
caggcagaga tatcaggaag cagtccaatc ctgtcaataa caatatcaga agatggtagc	4380
atgtcgataa aaaaatgaaga ggaagatcaa aactgacca tactcattag aacaggattg	4440
ctggtgatct caggactttt tcctgtatca ataccaatca cggcagcagc atggtacctg	4500
tgggaagtga agaaacaacg ggccggagta ttgtgggatg ttccttcacc cccacccatg	4560
ggaaaggctg aactggaaga tggagcctat agaattaagc aaaaagggat tcttgatat	4620
tcccagatcg gagccggagt ttacaaagaa ggaacattcc atacaatgtg gcatgtcaca	4680

cgtaggcgctg ttctaata gca taaaggaaaagg attgaac catcatgggc ggacgtcaag	4740
aaagacctaa tatcataatgg aggaggctgg aagttagaag gagaatggaa ggaaggagaa	4800
gaagtccagg tattggcact ggagcctgga aaaaatccaa gagccgtcca aacgaaacct	4860
ggctctttca aaaccaacgc cggaacaata ggtgctgtat ctctggactt tctcctgga	4920
acgtcaggat ctccaattat cgacaaaaaa ggaaaagtgg tgggtcttta tggtaatggt	4980
gttggttaca ggagtggagc atatgtgagt gctatagccc agactgaaaa aagcattgaa	5040
gacaaccag agatcgaaga tgacattttc cgaaagagaa gactgacat catggacctc	5100
caccaggag cgggaaagac gaagagatac ctccggcca tagtcagaga agctataaaa	5160
cggggtttga gaacattaat ctggccccc actagattg tggcagctga aatggaggaa	5220
gcccttagag gacttccaat aagataccag acccagcca tcagagctgt gcacaccggg	5280
cgggagattg tggacctaat gtgtcatgcc acatttacca tgaggctgct atcaccagtt	5340
agagtccaa actacaacct gattatcatg gacgaagccc atttcacaga ccagcaagt	5400
atagcagcta gaggatacat ctcaactcga gtggagatgg gtgaggcagc tgggattttt	5460
atgacagcca ctccccggg aagcagagac cctttctc agagcaatgc accaatcata	5520
gatgaagaaa gagaaatccc tgaacgctcg tggaattccg gacatgaatg ggtcacggat	5580
tttaaggga agactgtttg gttcgttcca agtataaaag caggaaatga tatagcagct	5640
tgcttagga aaaaaggaaa gaaagtgata caactcagta ggaagacctt tgattctgag	5700
tatgtcaaga ctagaaccaa tgattgggac ttcgtggtta caactgacat ttcagaaatg	5760
ggtgccatt tcaaggetga gagggttata gacccagac gctgcatgaa accagtcata	5820
ctaacagatg gtgaagagcg ggtgattctg gcaggaccta tgccagtac cactctagt	5880
gcagcacaaa gaagaggag aataggaaga aatccaaaa atgagaatga ccagtacata	5940
tacatggggg aacctctgga aatgatgaa gactgtgcac actggaaaga agctaaaatg	6000
ctcctagata acatcaacac gccagaagga atcattccta gcatgttcga accagagcgt	6060
gaaaaggtag atgccattga tggcgaatac cgcttgagag gagaagcaag gaaaaccttt	6120
gtagacttaa tgagaaggagg agacctacca gtctggttgg cctacagagt ggcagctgaa	6180
ggcatcaact acgcagacag aagggtgtgt ttgatggag tcaagaacaa ccaaatccta	6240
gaagaaaacg tggagtga aatctggaca aaagaagggg aaaggaagaa attgaaacct	6300
agatggttgg atgctaggat ctattctgac cactggcgc taaaagaatt taaggattt	6360
gcagccggaa gaaagtctct gacctgaac ctaatcacag aatgggtag gctccaacc	6420
ttcatgactc agaaggcaag agacgactg gacaacttag cagtgtgca cacggctgag	6480
gcagggtgaa gggcgtacaa ccatgctctc agtgaactgc cggagacct ggagacattg	6540

cttttactga cacttctggc tacagtcacg ggagggatct ttttattctt gatgagcgca	6600
aggggcatag ggaagatgac cctgggaatg tgctgcataa tcacggctag catcctccta	6660
tggtacgcac aaatacagcc acactggata gcagcttcaa taatactgga gttttttctc	6720
atagttttgc ttattccaga acctgaaaaa cagagaacac cccaagacaa ccaactgacc	6780
tacgttgtca tagccatcct cacagtgggtg gccgcaacca tggcaaacga gatgggtttc	6840
ctagaaaaaa cgaagaaaga tctcggattg ggaagcattg caaccagca acccgagagc	6900
aacatcctgg acatagatct acgtcctgca tcagcatgga cgctgtatgc cgtggccaca	6960
acatttgta caccaatgtt gagacatagc attgaaaatt cctcagtga tgtgtccta	7020
acagctatag ccaaccaagc cacagtgtta atgggtctcg ggaaaggatg gccattgtca	7080
aagatggaca tcggagtcc cttctcgcg attggatgct actcacaagt caaccccata	7140
actctcacag cagctctttt cttattggta gcacattatg ccatcatagg gccaggactc	7200
caagcaaaag caaccagaga agctcagaaa agagcagcgg cgggcatcat gaaaaacca	7260
actgtcgatg gaataacagt gattgaccta gatccaatac cttatgatcc gaagtttgaa	7320
aagcagttag gacaagtaat gctcctagtc ctctgcgtga ctcaagtatt gatgatgagg	7380
actacatggg ctctgtgtga ggctttaacc ttagctaccg ggcccatctc cacattgtgg	7440
gaaggaaatc cagggaggtt ttggaacact accattgcgg tgtcaatggc taacattttt	7500
agagggagtt acttggccgg agctggactt ctcttttcta ttatgaagaa cacaaccaac	7560
acaagaaggg gaactggcaa cataggagag acgcttggag agaaatggaa aagccgattg	7620
aacgcattgg gaaaaagtga attccagatc tacaagaaaa gtggaatcca ggaagtggat	7680
agaaccttag caaagaagg cattaaaaga ggagaaacgg accatcacgc tgtgtcgca	7740
ggctcagcaa aactgagatg gtctgttag agaaacatgg tcacaccaga agggaaagta	7800
gtggacctcg gttgtggcag aggaggctgg tcatactatt gtggaggact aaagaatgta	7860
agagaagtca aaggcctaac aaaaggagga ccaggacacg aagaacccat ccccatgtca	7920
acatatgggt ggaatctagt gcgtcttcaa agtggagtig acgttttctt catcccgcca	7980
gaaaagtgtg acacattatt gtgtgacata ggggagtcac caccaaatcc cacagtggaa	8040
gcaggacgaa cactcagagt ccttaactta gtagaaaatt ggttgaacaa caacactcaa	8100
ttttgcataa aggttctcaa cccatatatg ccctcagtca tagaaaaat ggaagcacta	8160
caaaggaaat atggaggagc cttagttagg aatccactct cacgaaactc cacacatgag	8220
atgtactggg tatccaatgc ttccgggaac atagtgtcat cagtgaacat gatttcaagg	8280

atgttgatca acagatttac aatgagatac aagaaagcca cttacgagcc ggatgttgac	8340
ctcggaagcg gaacccgtaa catcgggatt gaaagtgaga taccaaacct agatataatt	8400
gggaaaagaa tagaaaaaat aaagcaagag catgaaacat catggcacta tgaccaagac	8460
caccataca aaacgtgggc ataccatggt agctatgaaa caaaacagac tggatcagca	8520
tcattcatgg tcaacggagt ggtcaggctg ctgacaaaac cttgggacgt cgtcccatg	8580
gtgacacaga tggcaatgac agacacgact ccatttggac aacagcgcgt ttttaaagag	8640
aaagtggaca cgagaaccca agaaccgaaa gaaggcacga agaaactaat gaaaataaca	8700
gcagagtggc tttggaaaga attaggaag aaaaagacac ccaggatgtg caccagagaa	8760
gaattcacia gaaaggtgag aagcaatgca gccttggggg ccatattcac tgatgagaac	8820
aagtggaaat cggcacgtga ggctgttgaa gatagtaggt tttgggagct ggttgacaag	8880
gaaaggaatc tccatcttga aggaaagtgt gaaacatgtg tgtacaacat gatgggaaaa	8940
agagagaaga agctaggga attcggcaag gcaaaaggca gcagagccat atggtacatg	9000
tggcttggag cacgcttctt agagtgtgaa gccttaggat tcttaaatga agatcactgg	9060
ttctccagag agaactccct gagtggagtg gaaggagaag ggctgcacaa gctaggttac	9120
attctaagag acgtgagcaa gaaagaggga ggagcaatgt atgccgatga caccgcagga	9180
tgggatacaa gaatcacact agaagaccta aaaaatgaag aaatggtaac aaaccacatg	9240
gaaggagaac acaagaaact agccgaggcc attttcaaac taactacca aaacaagggtg	9300
gtgcgtgtgc aaagaccaac accaagaggc acagtaatgg acatcatac gagaaagac	9360
caaagaggta gtggacaagt tggcacctat ggactcaata ctttcaccaa tatggaagcc	9420
caactaatca gacagatgga gggagaagga gtctttaaaa gcattcagca cctaacaatc	9480
acagaagaaa tcgctgtgca aaactggtta gcaagagtgg ggcgcgaaag gttatcaaga	9540
atggccatca gtggagatga ttgtgttgtg aaaccttttag atgacaggtt cgcaagcgt	9600
ttaacagctc taaatgacat gggaaagatt aggaaagaca tacaacaatg ggaaccttca	9660
agaggatgga atgattggac acaagtgcc tttgtttcac accatttcca tgagttaatc	9720
atgaaagacg gtcgcgtact cgtttgttcca tgtagaaacc aagatgaact gattggcaga	9780
gcccgaatct cccaaggagc aggggtggtct ttgcgggaga cggcctgttt gggaagtct	9840
tacgccccaa tgtggagctt gatgtacttc cacagacgag acctcaggct ggcggcaaat	9900
gtattttgct cggcagtacc atcacattgg gttccaacaa gtcgaacaac ctggtccata	9960
catgctaaac atgaatggat gacaacggaa gacatgctga cagtctggaa cagggtgtgg	10020
attcaagaaa acctatggat ggaagacaaa actccagtgg aatcatggga ggaaatccca	10080
tacttgggga aaagagaaga ccaatggtgc ggctcattga ttgggttaac aagcagggcc	10140

acctgggcaa agaacatcca agcagcaata aatcaagtta gatcccttat aggcaatgaa 10200

gaatacacag attacatgcc atccatgaaa agattcagaa gagaagagga agaagcagga 10260

gttctgtggt agaaagcaaa actaacatga aacaaggcta gaagtcaggt cggattaagc 10320

catagtacgg aaaaaactat gctacctgtg agccccgtcc aaggacgtta aaagaagtca 10380

ggccatcata aatgcatag cttgagtaaa ctatgcagcc ttagctcca cctgagaagg 10440

tgtaaaaaat cggggaggcc acaaacatg gaagctgtac gcatggcgta gtggactagc 10500

ggttagagga gacccctccc ttacaaatcg cagcaacaat gggggcccaa ggcgagatga 10560

agctgtatgc tcgctggaag gactagaggt tagaggagac cccccgaaa caaaaaacag 10620

catattgacg ctgggaaaga ccagagatcc tctgtctcc tcagcatcat tccaggcaca 10680

gaacgccaga aaatggaatg gtgctgttga atcaacaggt tct 10723

<210> 14

<211> 10723

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dengue virus serotype 2, MVS

<400> 14

agttgttagt ctacgtggac cgacaaagac agattctttg agggagctaa gctcaatgta 60

gttctaacag ttttttaatt agagagcaga tctctgatga ataaccaacg gaaaaaggcg 120

aaaaacacgc ctttcaatat gctgaaacgc gagagaaacc gcgtgtcgac tgtgcaacag 180

ctgacaaaga gattctcact tggaatgctg caggagcag gaccattaaa actgttcag 240

gccctggtgg cgttccttcg ttctctaaca atcccacaa cagcagggat attgaagaga 300

tggggaacaa ttaaaaaatc aaaagctatt aatgttttga gaggttcag gaaagagatt 360

ggaaggatgc tgaacatctt gaataggaga cgagatctg caggcatgat cattatgctg 420

attccaacag tgatggcggt ccatttaacc acacgtaacg gagaaccaca catgatcgtc 480

agcagacaag agaaaggga aagtcttctg tttaaaacag aggttggcgt gaacatgtgt 540

accctcatgg ccatggacct tggatgaattg tgaagaca caatcacgta cgagtgtccc 600

cttctcagcg agaatgagcc agaagacata gactgttgg gcaactctac gtccacgtgg 660

gtaacttatg ggacgtgtac caccatggga gaacatagaa gagaaaaaag atcagtggca 720

ctcgttccac atgtgggaat gggactggag acacgaactg aaacatggat gtcacagaa 780

ggggcctgga aacatgtcca gagaattgaa acttggatct tgagacatcc aggcctcacc 840

atgatggcag caatcctggc atacaccata ggaacgacac atttcaaag agccctgatc 900

ttcaccttac tgacagctgt cactccttca atgacaatgc gttgcatagg aatgtcaa	960
agagactttg tggaggggtt ttcaggagga agctgggttg acatagtctt aga	1020
agctgtgtga cgacgatggc aaaaaacaaa ccaacattgg attttgaact gata	1080
gaagccaaac agcctgccac cctaaggaag tactgtatag aggcaaagct aac	1140
acaacagaat ctgctgccc aacacaaggg gaaccagcc taaatgaaga gcagga	1200
aggttcgtct gcaaacactc catggttagac agaggatggg gaaatggatg tgg	1260
ggaaggagg gcatgtgtac ctgtgctatg ttcagatgca aaaagaacat gga	1320
gttgtgcaac cagaaaactt ggaatacacc attgtgataa cactcactc aggg	1380
catgcagtcg gaaatgacac aggaaaacat ggcaaggaaa tcaaaataac acc	1440
tccatcacag aagcagaatt gacaggttat ggcaactgtca caatggagtg ct	1500
acgggcctcg acttcaatga gatggtgttg ctgcagatgg aaaataaagc ttg	1560
cacaggcaat ggttcctaga cctgccgtta ccatggttgc ccggagcgga cac	1620
tcaaattgga tacagaaaga gacattggtc actttcaaaa atcccatgc gaag	1680
gatgtgttg ttttaggac ccaagaaggg gccatgcaca cagcacttac aggg	1740
gaaatccaaa tgcacatcagg aaacttactc ttcacaggac atctcaagtg cag	1800
atggacaagc tacagctcaa aggaatgtca tactctatgt gcacaggaaa gtt	1860
gtgaaggaaa tagcagaac acaacatgga acaatagtta tcagagtgca at	1920
gacggctctc catgcaagat cccttttgag ataatggatt tggaaaaaag ac	1980
ggtcgctga ttacagtcaa cccaattgtg acagaaaaag atagcccagt ca	2040
gcagaacctc catttgaga cagctacatc atcataggag tagagccggg aca	2100
ctcaactggt ttaagaaagg aagtctatc ggccaaatgt ttgagacaac aat	2160
gcgaagagaa tggccatttt aggtgacaca gcctgggatt ttggatcctt ggg	2220
tttacatcta taggaaaggc tctccacaa gtctttggag caatctatgg agct	2280
agtggggttt catggactat gaaaatctc ataggagtca ttatcacatg gat	2340
aattcacgca gcacctcact gtctgtgaca ctagtattgg tgggaattgt gac	2400
ttgggagtca tgggtgcaggc cgatagtgtt tgcgttgtga gctggaaaaa ca	2460
aatgtggca gtgggatttt catcacagac aacgtgcaca catggacaga aca	2520
ttccaaccag aatccccttc aaaactagct tcagctatcc agaaagccca tga	2580
atttgtggaa tccgctcagt aacaagactg gagaatctga tgtggaaaca aat	2640
gaattgaatc acattctatc agaaaatgag gtgaagttaa ctattatgac ag	2700
aaaggaaatca tgcaggcagg aaaacgatct ctgcggcctc agcccactga g	2760

tcattgaaaa catggggcaa agcaaaaatg ctctctacag agtctcataa ccagaccttt	2820
ctcattgatg gccccgaaac agcagaatgc cccaacacaa atagagcttg gaattcgttg	2880
gaagttgaag actatggctt tggagtattc accaccaata tatggctaaa attgaaagaa	2940
aaacaggatg tattctgcga ctcaaaactc atgtcagcgg ccataaaaga caacagagcc	3000
gtccatgccg atatgggtta ttggatagaa agtgcactca atgacacatg gaagatagag	3060
aaagcctctt tcattgaagt taaaaactgc cactggccaa aatcacacac cctctggagc	3120
aatggagtgc tagaaagtga gatgataatt ccaaagaatc tcgctggacc agtgtctcaa	3180
cacaactata gaccaggcta ccatacacia ataacaggac catggcatct aggttaagctt	3240
gagatggact ttgatttctg tgatggaaca acagtggtag tgactgagga ctgcggaaat	3300
agaggaccct ctttgagaac aaccactgcc tctggaaaac tcataacaga atggtgctgc	3360
cgatcttgca cattaccacc gctaagatac agaggtaggg atgggtgctg gtacgggatg	3420
gaaatcagac cattgaagga gaaagaagag aatttggtca actccttggt cacagctgga	3480
catgggcagg tcgacaactt ttcactagga gtcttgggaa tggcattgtt cctggaggaa	3540
atgcttagga cccgagtagg aacgaacat gcaatactac tagttgcagt ttcttttctg	3600
acattgatca cagggaacat gtcttttaga gacctgggaa gagtatggt tatggtaggc	3660
gccactatga cggatgacat aggtatgggc gtgacttata ttgccctact agcagccttc	3720
aaagtacagc caacttttgc agctggacta ctcttgagaa agctgacctc caaggaattg	3780
atgatgacta ctataggaat tgtactcttc tcccagagca ccataccaga gaccttctt	3840
gagttgactg atgcgttagc cttaggcatg atggtctca aaatggtgag aaatatggaa	3900
aagtatcaat tggcagtac tatcatggct atcttgtcgc tcccaaacgc agtgatatta	3960
caaaacgcac ggaagttag ttgcacaata ttggcagtgg tgtccgttcc cccactgttc	4020
ttaacatcct cacagcaaaa aacagattgg ataccattag cattgacgat caaaggtctc	4080
aatccaacag ctatttttct aacaaccttc tcaagaacca gcaagaaaag gagctggcca	4140
ttaaatgagg ctatcatggc agtcgggatg gtgagcattt tagccagttc tctcctaaaa	4200
aatgatattc ccatgacagg accattatgt gctggagggc tcctcactgt gtgctacgtg	4260
ctcactggac gatcgccga tttggaactg gagagagcag ccgatgtcaa atgggaagac	4320
caggcagaga tatcaggaag cagtccaatc ctgtcaataa caatatcaga agatggtagc	4380
atgtcgataa aaaatgaaga ggaagaacaa aactgacca tactcattag aacaggattg	4440
ctggtgatct caggactttt tctgtatca ataccaatca cggcagcagc atggtacctg	4500

tggaagtga agaacaacg ggccggagta ttgtgggatg ttccttcacc cccacccatg	4560
ggaaaggctg aactggaaga tggagcctat agaattaagc aaaaagggat tcttgatat	4620
tcccagatcg gagccggagt ttacaaagaa ggaacattcc atacaatgtg gcatgtcaca	4680
cgtggcgctg ttctaataca taaaggaaag aggattgaac catcatgggc ggacgtcaag	4740
aaagacctaa tatcatatgg aggaggctgg aagttagaag gagaatggaa ggaaggagaa	4800
gaagtccagg tattggcact ggagcctgga aaaaatccaa gagccgtcca aacgaaacct	4860
ggtcttttca aaaccaacgc cggaacaata ggtgctgtat ctctggactt ttctcctgga	4920
acgtcaggat ctccaattat cgacaaaaaa ggaaaagtgt tgggtcttta tggtaatggt	4980
gttggttaca ggagtggagc atatgtgagt gctatagccc agactgaaaa aagcattgaa	5040
gacaaccag agatcgaaga tgacattttc cgaaagagaa gactgaccat catggacctc	5100
caccagagag cgggaaagac gaagagatac ctccggcca tagtcagaga agctataaaa	5160
cgggggttga gaacattaat cttggccccc actagagtgt tggcagctga aatggaggaa	5220
gcccttagag gacttccaat aagataccag accccagcca tcagagctgt gcacaccggg	5280
cgggagattg tggacctaat gtgtcatgcc acatttacca tgaggctgct atcaccagtt	5340
agagtgccaa actacaacct gattatcatg gacgaagccc atttcacaga cccagcaagt	5400
atagcagcta gaggatacat ctcaactcga gtggagatgg gtgaggcagc tgggattttt	5460
atgacagcca ctccccggg aagcagagac ccatttcctc agagcaatgc accaatcata	5520
gatgaagaaa gagaaatccc tgaacgctcg tggaattccg gacatgaatg ggtcacggat	5580
tttaaaggga agactgtttg gttcgttcca agtataaaag caggaaatga tatagcagct	5640
tgcttagga aaaaatggaa gaaagtga caactcagta ggaagacctt tgattctgag	5700
tatgtcaaga ctagaaccaa tgattgggac ttctgtgtta caactgacat ttcagaaatg	5760
ggtgccaatt tcaaggetga gagggttata gacccagac gctgcatgaa accagtcata	5820
ctaacagatg gtgaagagcg ggtgattctg gcaggaccta tgccagtgc cactctagt	5880
gcagcacaaa gaagaggag aataggaaga aatccaaaa atgagaatga ccagtacata	5940
tacatggggg aacctctgga aaatgatgaa gactgtgcac actggaaaga agctaaaatg	6000
ctcctagata acatcaacac gccagaagga atcattccta gcatgttcga accagagcgt	6060
gaaaagggtg atgccattga tggcgaatac cgtttgagag gagaagcaag gaaaaccttt	6120
gtagacttaa tgagaaggagg agacctacca gtctgggttg cctacagagt ggcagctgaa	6180
ggcatcaact acgcagacag aagggtggtgt ttgatggag tcaagaacaa ccaaatccta	6240

gaagaaaacg tggaagtga aatctggaca aaagaagggg aaaggaagaa attgaaaccc	6300
agatgggttg atgctagat ctattctgac cactggcgc taaaagaatt taaggaattt	6360
gcagccggaa gaaagtctct gacctgaac ctaatcacag aaatgggtag gctccaacc	6420
ttcatgactc agaaggcaag agacgcactg gacaacttag cagtgtgca cacggctgag	6480
gcaggtggaa gggcgtacaa ccatgtctc agtgaactgc cggagaccct ggagacattg	6540
cttttactga cacttctggc tacagtcacg ggagggatct ttttattctt gatgagcgca	6600
aggggcatag ggaagatgac cctgggaatg tctgcataa tcacggctag catcctccta	6660
tggtacgcac aaatacagcc aactggata gcagcttcaa taatactgga gtttttctc	6720
atagttttgc ttattccaga acctgaaaaa cagagaacac ccaagacaa ccaactgacc	6780
tacgttgtca tagccatcct cacagtgggt gccgaacca tggcaaacga gatgggtttc	6840
ctagaaaaa cgaagaaaga tctcggattg ggaagcattg caaccagca acccgagagc	6900
aacatcctgg acatagatct acgtcctgca tcagcatgga cgctgtatgc cgtggccaca	6960
acatttgta caccaatgtt gagacatagc attgaaaatt cctcagtga tgtgtccta	7020
acagctatag ccaaccaagc cacagtgtta atgggtctcg ggaaaggatg gccattgtca	7080
aagatggaca tcggagtcc ctttctcgcc attggatgct actcacaagt caacccata	7140
actctcacag cagctctttt cttattggta gcacattatg ccatcatagg gccaggactc	7200
caagcaaaag caaccagaga agctcagaaa agagcagcgg cgggcatcat gaaaaacca	7260
actgtcgatg gaataacagt gattgaccta gatccaatac cttatgatcc aaagtttgaa	7320
aagcagttgg gacaagtaat gtccttagtc ctctgcgtga ctcaagtatt gatgatgagg	7380
actacatggg ctctgtgtga ggctttaacc tttagtaccg ggcccatctc cacattgtgg	7440
gaaggaaatc caggagaggt ttggaacact accattgcgg tgtcaatggc taacattttt	7500
agaggagatt acttggccgg agctggactt ctcttttcta ttatgaagaa cacaaccaac	7560
acaagaaggg gaactggcaa cataggagag acgcttgag agaatggaa aagccgattg	7620
aacgcattgg gaaaaagtga attccagatc tacaagaaaa gtggaatcca ggaagtggat	7680
agaaccttag caaaagaagg cattaaaaga ggagaaacgg accatcacgc tgtgtcgca	7740
ggctcagcaa aactgagatg gttcgttgag agaaacatgg tcacaccaga agggaaagta	7800
gtggacctcg gttgtggcag aggaggctgg tcatactatt gtggaggact aaagaatgta	7860
agagaagtca aaggcctaac aaaaggagga ccaggacacg aagaacccat ccccatgtca	7920
acatatgggt ggaatctagt gcgtcttcaa agtggagtgt acgttttctt catcccgcca	7980
gaaaagtgtg acacattatt gtgtgacata ggggagtcac caccaaatcc cacagtggaa	8040
gcaggacgaa cactcagagt ccttaactta gtgaaaaatt ggttgaacaa caacactcaa	8100

ttttgcataa aggtttctcaa cccatataatg ccctcagtca tagaaaaaat ggaagcacta	8160
caaaggaaat atggaggagc cttagttagg aatccactct cacgaaactc cacacatgag	8220
atgtactggg tatccaatgc ttccgggaac atagtgtcat cagtgaacat gatttcaagg	8280
atgttgatca acagatttac aatgagatac aagaaagcca cttacgagcc ggatgttgac	8340
ctcgggaagcg gaacccgtaa catcgggatt gaaagtgaga taccaaacct agatataatt	8400
gggaaaagaa tagaaaaaat aaagcaagag catgaaacat catggcacta tgaccaagac	8460
cacccataca aaacgtgggc ataccatggt agctatgaaa caaacagac tggatcagca	8520
tcatccatgg tcaacggagt ggtcaggctg ctgacaaaac cttgggacgt cgtcccatg	8580
gtgacacaga tggcaatgac agacacgact ccatttggac aacagcgcgt ttttaaagag	8640
aaagtggaca cgagaacca agaaccgaaa gaaggcacga agaaactaat gaaaataaca	8700
gcagagtggc tttggaaaga attaggggaag aaaaagacac ccaggatgtg caccagagaa	8760
gaattcacia gaaaggtgag aagcaatgca gccttggggg ccgtattcac tgatgagaac	8820
aagtggaaat cggcacgtga ggctgttgaa gatagtaggt tttgggagct ggttgacaag	8880
gaaaggaatc tccatcttga aggaaagtgt gaaacatgtg tgtacaacat gatgggaaaa	8940
agagagaaga agctagggga attcggcaag gcaaaaggca gcagagccat atggtacatg	9000
tggcttggag cacgcttctt agagtittgaa gccctaggat tcttaaatga agatcactgg	9060
ttctccagag agaactccct gagtggagtg gaaggagaag ggctgcacia gctaggttac	9120
attctaagag acgtgagcaa gaaagaggga ggagcaatgt atgccgatga caccgcagga	9180
tgggatacaa gaatcacact agaagaccta aaaaatgaag aaatggtaac aaaccacatg	9240
gaaggagaac acaagaaact agccgaggcc attttcaaac taactacca aaacaaggtg	9300
gtgcgtgtgc aaagaccaac accaagaggc acagtaatgg acatcatac gagaagagac	9360
caaagaggta gtggacaagt tggcacctat ggactcaata ctttcaccaa tatggaagcc	9420
caactaatca gacagatgga gggagaagga gtctttaaaa gcattcagca cctaacaatc	9480
acagaagaaa tcgctgtgca aaactgggta gcaagagtgg ggcgcgaaag gttatcaaga	9540
atggccatca gtggagatga ttgtgttgtg aaaccttttag atgacaggtt cgcaagcgt	9600
ttaacagctc taaatgacat gggaaagatt aggaaagaca tacaacaatg ggaaccttca	9660
agaggatgga atgattggac acaagtgcc tttgtttcac accatttcca tgagttaatc	9720
atgaaagacg gtcgcgtact cgtttttcca tgtagaaacc aagatgaact gattggcaga	9780
gcccgaatct cccaaggagc aggggtggtct ttgcgggaga cggcctgttt ggggaagtct	9840
tacgccccaa tgtggagctt gatgtacttc cacagacgag acctcaggtt ggcggcaaat	9900
gctatttgct cggcagtacc atcacattgg gttccaacaa gtcgaacaac ctggtccata	9960

catgctaaac atgaatggat gacaacggaa gacatgctga cagtctggaa cagggtgtgg 10020

attcaagaaa acccatggat ggaagacaaa actccagtgg aatcatggga ggaaatccca 10080

tacttgggga aaagagaaga ccaatggtgc ggtcattga ttgggttaac aagcagggcc 10140

acctgggcaa agaacatcca agcagcaata aatcaagtta gatcccttat aggcaatgaa 10200

gaatacacag attacatgcc atccatgaaa agattcagaa gagaagagga agaagcagga 10260

gttctgtggt agaaagcaaa actaacatga aacaaggcta gaagtcaggt cggattaagc 10320

catagtacgg aaaaaactat gctacctgtg agccccgtcc aaggacgtta aaagaagtca 10380

ggccatcata aatgccatag cttgagtaaa ctatgcagcc thtagctcca cctgagaagg 10440

tgtaaaaaat ccgggaggcc acaaaccatg gaagctgtac gcatggcgta gtggactagc 10500

ggtttagagga gacctctccc ttacaaatcg cagcaacaat gggggcccaa ggcgagatga 10560

agctgtagt ctcgtggaag gactagaggt tagaggagac cccccgaaa caaaaaacag 10620

catattgacg ctgggaaaga ccagagatcc tgctgtctcc tcagcatcat tccaggcaca 10680

gaacgccaga aaatggaatg gtgctgttga atcaacaggt tct 10723

<210> 15

<211> 10717

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Dengue virus serotype 3, MVS

<400> 15

agttgttagt ctacgtggac cgacaaagac agattctttg agggagctaa gctcaatgta 60

gttctaacag ttttttaatt agagagcaga tctctgatga ataaccaacg gaaaaaggcg 120

aaaaacacgc ctttcaatat gctgaaacgc gagagaaacc gcgtgtcgac tgtgcaacag 180

ctgacaaaga gattctcact tggaatgctg caggagcag gaccattaaa actgttcattg 240

gccctggtgg cgttccttcg ttctctaaca atcccaccaa cagcagggat attgaagaga 300

tggggaacaa ttaaaaaatc aaaagctatt aatgttttga gaggttcag gaaagagatt 360

ggaaggatgc tgaacatctt gaataggaga cgcagatctg caggcatgat cattatgctg 420

attccaacag tgatggcggt ccatttaacc acgcgtgatg gagagccgag catgattgtg 480

gggaagaatg aaagaggaaa atccctactt ttcaagacag cctctggaat caacatgtgc 540

acactcatag ctatggatct gggagagatg tgtgatgaca cggtcactta caaatgcccc 600

cacattaccg aagtggagcc tgaagacatt gactgctggt gcaaccttac atcgacatgg 660

gtgacttatg gaacatgcaa tcaagctgga gagcatagac gcgataagag atcagtggcg 720

ttagctcccc atgttggcat gggactggac acacgcactc aaacctggat gtcggctgaa	780
ggagcttgga gacaagtcga gaaggtagag acatgggccc ttaggcaccc agggtttacc	840
atactagccc tatttcttgc ccattacata ggcacttcct tgacccagaa agtggttatt	900
tttatactat taatgctggc taccatcc atgacaatga gatgtgtagg agtaggaaac	960
agagattttg tggaaggcct atcgggagct acgtgggttg acgtggtgct cgagcacggt	1020
gggtgtgtga ctacatggc taagaacaag cccacgtgg acatagagct tcagaagacc	1080
gaggccccc aactggcgac cctaaggaag ctatgcattg agggaaaaat taccaacata	1140
acaaccgact caagatgcc cacccaagg gaagcgattt tacctgagga gcaggaccag	1200
aactacgtgt gtaagcatc atacgtggac agaggctggg gaaacggttg tggtttgttt	1260
ggcaagggaa gcttggtag atgcgcgaaa tttcaatgtt tagaatcaat agagggaaaa	1320
gtggtgcaac atgagaacct caaatacacc gtcacatca cagtgcacac aggagaccaa	1380
caccaggtgg gaaatgaaac gcagggagtc acggctgaga taacaccca ggcatcaacc	1440
gctgaagcca ttttacctga atatggaacc ctgggctag aatgctcacc acggacaggt	1500
ttggatttca atgaaatgat ctattgaca atgaagaaca aagcatggat ggtacataga	1560
caatggttct ttgacttacc cctaccatgg acatcaggag cttcagcaga aacaccaact	1620
tggaacagga aagagcttct tgtgacattt aaaaatgcac atgcaaaaaa gcaagaagta	1680
gttgttcttg gatcacaaga gggagcaatg catacagcac tgacaggagc tacagagatc	1740
caaacctcag gaggcacaag tatctttgcg gggcacttaa aatgtagact caagatggac	1800
aaattggaac tcaaggggat gagctatgca atgtgcttga gtagctttgt gttgaagaaa	1860
gaagtctccg aaacgcagca tgggacaata ctcatlaagg ttgagtacaa aggggaagat	1920
gcacctgca agattccttt ctccacggag gatggacaag gaaaagctct caatggcaga	1980
ctgatcacag ccaatccagt ggtgaccaag aaggaggagc ctgtcaacat tgaggtgaa	2040
cctccttttg gagaaagtaa catagtaatt ggaattggag acaaagcct gaaaatcaac	2100
tggtacaaga agggaagctc gattgggaag atgttcgagg ccactgccag aggtgcaagg	2160
cgcatggcca tcttgggaga cacagcctgg gactttggat cagtgggtgg tgttttgaat	2220
tcattaggga aaatggtcca ccaaatattt gggagtgtt acacagccct atttgggtga	2280
gtctcctgga tgatgaaaaa tggaataggt gtctcttaa cctggatagg gttgaactca	2340
aaaaatactt ctatgtcatt ttcatgcac gcggccggca ttgtgacact gtatttggga	2400
gtcatggtgc agcccatag tggttgcgtt gtgagctgga aaaacaaaga actgaaatgt	2460

ggcagtgga tttcatcac agacaacgtg cacacatgga cagaacaata caagttccaa	2520
ccagaatccc cttcaaaact agcttcagct atccagaaag cccatgaaga ggacatttgt	2580
ggaatccgct cagtaacaag actggagaat ctgatgtgga aacaataac accagaattg	2640
aatcacattc tatcagaaaa tgaggtgaag ttaactatta tgacaggaga catcaaagga	2700
atcatgcagg caggaaaacg atctctgcgg cctcagccca ctgagctgaa gtattcatgg	2760
aaaacatggg gcaaagcaaa aatgtctctc acagagtctc ataaccagac ctttctcatt	2820
gatggccccg aaacagcaga atgccccaac acaaatagag cttggaattc gttggaagtt	2880
gaagactatg gctttggagt attcaccacc aatatatggc taaaattgaa agaaaaacag	2940
gatgtattct gcgactcaaa actcatgtca gcggccataa aagacaacag agccgtccat	3000
gccgatatgg gttattggat agaaagtga ctcaatgaca catggaagat agagaaagcc	3060
tctttcattg aagttaaaaa ctgccactgg ccaaatcac acaccctctg gagcaatgga	3120
gtgctagaaa gtgagatgat aattccaaag aatctcgtg gaccagtgtc tcaacacaac	3180
tatagaccag gctaccatac acaataaca ggaccatggc atctaggtaa gcttgagatg	3240
gactttgatt tctgtgatgg aacaacagtg gtagtgactg aggactgcgg aaatagagga	3300
ccctctttga gaacaaccac tgcctctgga aaactcataa cagaatgggtg ctgccgatct	3360
tgcacattac caccgctaag atacagaggt gaggatgggt gctggtacgg gatggaaatc	3420
agaccattga aggagaaaga agagaatttg gtcaactcct tggtcacagc tggacatggg	3480
caggtcgaca acttttact aggagtcttg ggaatggcat tgttcctgga ggaaatgctt	3540
aggacccgag taggaacgaa acatgcaata ctactagtig cagtttcttt tgtgacattg	3600
atcacaggga acatgtcctt tagagacctg ggaagagtga tggttatggt aggcgccact	3660
atgacggatg acataggtat gggcgtgact tatcttcccc tactagcagc cttcaaagtc	3720
agaccaactt ttgcagctgg actactcttg agaaagctga cctccaagga attgatgatg	3780
actactatag gaattgtact cctctcccag agcaccatac cagagacat tcttgagttg	3840
actgatgcgt tagccttagg catgatggtc ctcaaatgg tgagaaatat ggaaaagtat	3900
caattggcag tgactatcat ggctatcttg tgcgtcccaa acgcagtgat attacaaaac	3960
gcatggaaag tgagttgcac aatattggca gtggtgtccg tttccccact gttcttaaca	4020
tcctcacagc aaaaaacaga ttggatacca ttagcattga cgatcaaagg tctcaatcca	4080
acagctatctt ttctaacaac cctctcaaga accagcaaga aaaggagctg gccattaaat	4140
gaggctatca tggcagtcgg gatggtgagc attttagcca gttctctcct aaaaaatgat	4200

attcccatga caggaccatt agtggctgga gggctcctca ctgtgtgcta cgtgctcact	4260
ggacgatcgg ccgatttga actggagaga gcagccgatg tcaaatggga agaccaggca	4320
gagatatcag gaagcagtc aatcctgtca ataacaatat cagaagatgg tagcatgtcg	4380
ataaaaaatg aagaggaaga acaaacactg accatactca ttagaacagg attgctgggtg	4440
atctcaggac tttttcctgt atcaatacca atcacggcag cagcatggta cctgtgggaa	4500
gtgaagaaac aacgggccgg agtatgttg gatgttcctt cccccacc catgggaaag	4560
gctgaactgg aagatggagc ctatagaatt aagcaaaaag ggattcttgg atattcccag	4620
atcggagccg gagtttaca agaaggaaca ttccatacaa tgtggcatgt cacacgtggc	4680
gctgttctaa tgcataaagg aaagaggatt gaaccatcat gggcggacgt caagaaagac	4740
ctaatatcat atggaggagg ctggaagtta gaaggagaat ggaaggaagg agaagaagtc	4800
caggtattgg cactggagcc tggaaaaaat ccaagagccg tccaaacgaa acctgtctt	4860
ttcaaaacca acgccggaac aatagggtgt gtatctctgg acttttctcc tggaacgtca	4920
ggatctccaa ttatcgacaa aaaaggaaaa gttgtgggtc tttatggtaa tgggtgtgtt	4980
acaaggagtg gagcatatgt gagtgtctata gccagactg aaaaaagcat tgaagacaac	5040
ccagagatcg aagatgacat tttccgaaag agaagactga ccatcatgga cctccacca	5100
ggagcgggaa agacgaagag ataccttcg gccatagtca gagaagctat aaacggggt	5160
ttgagaacat taatcttggc cccactaga gttgtggcag ctgaaatgga ggaagccctt	5220
agaggacttc caataagata ccagaccca gccatcagag ctgtgcacac cggcgaggag	5280
attgtggacc taatgtgtca tgccacattt accatgaggc tgctatcacc agttagagtg	5340
ccaaactaca acctgattat catggacgaa gccatttca cagaccagc aagtatagca	5400
gctagaggat acatctcaac tcgagtggag atgggtgagg cagctgggat ttttatgaca	5460
gccactcccc cggaagcag agaccattt cctcagagca atgcaccaat catagatgaa	5520
gaaagagaaa tccctgaacg ctcttggaat tccggacatg aatgggtcac ggattttaaa	5580
gggaagactg tttggttctg tccaagtata aaagcaggaa atgatatagc agcttgctg	5640
aggaaaaatg gaaagaaagt gatacaactc agtaggaaga cctttgattc tgagtatgtc	5700
aagactagaa ccaatgattg ggacttcgtg gttacaactg acatttcaga aatgggtgcc	5760
aatttcaagg ctgagagggt tatagacccc agacgtgca tgaaaccagt catactaaca	5820
gatggtgaag agcgggtgat tctggcagga cctatgccag tgaccactc tagtgcagca	5880
caaagaagag ggagaatagg aagaaatcca aaaaatgaga atgaccagta catatacatg	5940
ggggaacctc tggaatatga tgaagactgt gcacactgga aagaagctaa aatgctccta	6000
gataacatca acacgccaga aggaatcatt cctagcatgt tcgaaccaga gcgtgaaaag	6060

gtggatgcc a ttgatggcga ataccgcttg agaggagaag caaggaaaac cttttagtac	6120
ttaatgagaa gaggagacct accagtctgg ttggcctaca gaggggcagc tgaaggcatc	6180
aactacgcag acagaagggt gtgttttgat ggagtcaaga acaaccaa at cctagaagaa	6240
aacgtggaag ttgaaatctg gacaaaagaa ggggaaagga agaaattgaa acccagatgg	6300
ttggatgcta ggatctattc tgaccactg gcgctaaaag aatttaagga atttgcagcc	6360
ggaagaaagt ctctgacct gaacctaatc acagaaatgg gtaggctccc aaccttcacg	6420
actcagaagg caagagacgc actggacaac ttagcagtgc tgcacacggc tgaggcaggt	6480
ggaaggcgct acaacctgc tctcagtga ctgccggaga ccctggagac attgctttta	6540
ctgacacttc tggctacagt cacgggaggg atctttttat tcttgatgag cgcaaggggc	6600
atagggaaga tgacctggg aatgtgctgc ataatacagg ctagcatcct cctatggtag	6660
gcacaaatac agccacactg gatagcagct tcaataatac tggagttttt tctcatagtt	6720
ttgcttattc cagaacctga aaaacagaga acacccaag acaaccaact gacctacgtt	6780
gtcatagcca tctcacagt ggtggccgca accatggcaa acgagatggg tttcctagaa	6840
aaaacgaaga aagatctcgg attgggaagc attgcaaccc agcaacccga gagcaacatc	6900
ctggacatag atctacgtcc tgcacagca tggacgtgt atgccgtggc cacaacattt	6960
gttacacca tgttagaca tagcattgaa aattcctcag tgaatgtgtc cctaacagct	7020
atagccaacc aagccacagt gttaattgggt ctgggaaag gatggccatt gtcaaagatg	7080
gacatcggag ttccccctct cgccattgga tgctactcac aagtcaaccc cataactctc	7140
acagcagctc ttttcttatt ggtagcacat tatgccatca tagggccagg actccaagca	7200
aaagcaacca gagaagctca gaaaagagca gcggcgggca tcatgaaaaa cccaactgtc	7260
gatggaataa cagtattga cctagatcca atacctatg atccaaagt tgaaaagcag	7320
ttgggacaag taatgctcct agtctctgc gtgactcaag tattgatgat gaggactaca	7380
tgggctctgt gtgaggcttt aaccttagct accgggcca tctccacatt gtgggaagga	7440
aatccaggga ggttttgaa cactaccatt gcggtgtcaa tggctaacat ttttagaggg	7500
agttacttgg ccggagctgg acttctcttt tctattatga agaacacaac caacacaaga	7560
aggggaactg gcaacatagg agagacgctt ggagagaaat ggaagccg attgaacgcg	7620
ttgggaaaaa gtgaattcca gatctacaag aaaagtggaa tccaggaagt ggatagaacc	7680
ttagcaaaag aaggcattaa aagaggagaa acggaccatc acgctgtgtc gcgaggctca	7740
gcaaaactga gatggttcgt tgagagaaac atggtcacac cagaaggga agtagtgac	7800
ctcggttgtg gcagaggagg ctggtcatac tatttgggag gactaaagaa tgtaagagaa	7860
gtcaaaggcc taacaaaagg aggaccagga cacgaagaac ccatcccat gtcaacatat	7920

gggtggaatc tagtgcgtct tcaaagtga gttgacgttt tcttcacccc gccagaaaag	7980
tgtgacacat tattgtgtga cataggggag tcatcaccaa atcccacagt ggaagcagga	8040
cgaacactca gaggccttaa cttagtagaa aattgggtga acaacaacac tcaattttgc	8100
ataaagggtc tcaaccata tatgcctca gtcatagaaa aaatggaagc actacaaagg	8160
aaatatggag gaggccttagt gaggaatcca ctctcacgaa actccacaca tgagatgtac	8220
tgggtatcca atgcttccgg gaacatagtg tcatcagtga acatgatttc aaggatgttg	8280
atcaacagat ttacaatgag atacaagaaa gccacttacg agccggatgt tgacctcgga	8340
agcggaaacc gtaacatcgg gattgaaagt gagataccea acctagatat aattgggaaa	8400
agaatagaaa aaataaagca agagcatgaa acatcatggc actatgacca agaccaccca	8460
tacaaaacgt gggcatacca tggtagctat gaaacaaaac agactggatc agcatcatcc	8520
atggtcaacg gagggtcag gctgctgaca aaaccttggg acgtcgtccc catggtgaca	8580
cagatggcaa tgacagacac gactccattt ggacaacagc gcgtttttaa agagaaagtg	8640
gacacgagaa cccaagaacc gaaagaaggc acgaagaaac taatgaaaat aacagcagag	8700
tggctttgga aagaattagg gaagaaaaag acaccagga tgtgcaccag agaagaattc	8760
acaagaaagg tgagaagcaa tgcagccttg ggggccatat tcactgatga gaacaagtgg	8820
aagtcggcac gtgaggctgt tgaagatagt aggttttggg agctggttga caaggaaagg	8880
aatctccatc ttgaaggaaa gtgtgaaaca tgttgtaca acatgatggg aaaaagagag	8940
aagaagctag gggaattcgg caaggcaaaa ggcagcagag ccatatggtg catgtggctt	9000
ggagcacgct tcttagagtt tgaagcccta ggattcttaa atgaagatca ctggttctcc	9060
agagagaact ccctgagtgg agtggaaagga gaagggtgc acaagctagg ttacattcta	9120
agagacgtga gcaagaaaga gggaggagca atgtatgccg atgacaccgc aggatgggat	9180
acaagaatca cactagaaga cctaaaaaat gaagaaatgg taacaaacca catggaagga	9240
gaacacaaga aactagccga ggccattttc aaactaacgt accaaaacaa ggtggtgcgt	9300
gtgcaaagac caacaccaag aggcacagta atggacatca tatcgagaag agaccaaaga	9360
ggtagtggac aagttagcac ctatggactc aatactttca ccaatatgga agcccaacta	9420
atcagacaga tggagggaga aggagtcttt aaaagcattc agcacctaac aatcacagaa	9480
gaaatcgctg tgcaaaactg gttagcaaga gtggggcgcg aaaggttatc aagaatggcc	9540
atcagtggag atgatttgtt tgtgaaacct ttagatgaca gggttcgaag cgctttaaca	9600
gctctaatg acatgggaaa gattaggaac gacatacaac aatgggaacc ttcaagagga	9660

tggaatgatt ggacacaagt gcccttctgt tcacaccatt tccatgagtt aatcatgaaa	9720
gacggtcgcg tactcgttgt tccatgtaga aaccaagatg aactgattgg cagagcccga	9780
atctcccaag gagcagggtg gtctttgcgg gagacggcct gtttggggaa gtcttacgcc	9840
caaatgtgga gcttgatgta ctccacaga cgcgacctca ggctggcggc aaatgctatt	9900
tgctcgcgag taccatcaca ttgggttcca acaagtcgaa caacctggtc catacatgct	9960
aaacatgaat ggatgacaac ggaagacatg ctgacagtct ggaacagggt gtggattcaa	10020
gaaaacccat ggatggaaga caaaactcca gtggaatcat gggaggaaat cccatacttg	10080
gggaaaagag aagaccaatg gtgcggctca ttgattgggt taacaagcag ggccacctgg	10140
gcaaagaaca tccaagcagc aataaatcaa gttagatccc ttataggcaa tgaagaatac	10200
acagattaca tgccatccat gaaaagattc agaagagaag aggaagaagc aggagtcttg	10260
tggtagaaag caaaactaac atgaaacaag gctagaagtc aggtcggatt aagccatagt	10320
acggaaaaaa ctatgctacc tgtgagcccc gtccaaggac gttaaaagaa gtcaggccat	10380
cataaatgcc atagcttgag taaactatgc agcctgtagc tccacctgag aaggtgtaaa	10440
aatccggga ggccacaaac catggaagct gtacgcatgg cgtagtggac tagcggttag	10500
aggagacccc tcccttacia atcgcagcaa caatgggggc ccaaggcgag atgaagctgt	10560
agtctcgctg gaaggactag aggttagagg agaccccccc gaaacaaaaa acagcatatt	10620
gacgctggga aagaccagag atcctgctgt ctccctagca tcattccagg cacagaacgc	10680
cagaaaatgg aatggtgctg ttgaatcaac aggttct	10717
<210> 16	
<211> 10723	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Dengue virus serotype 4, MVS	
<220><221> misc_feature	
<222> (3773)	
<223> a or g	
<220><221>	
misc_feature	
<222> (7026)	
<223> t or c	
<400> 16	
agttgttagt ctacgtggac cgacaaagac agattctttg agggagctaa gctcaatgta	60
gttctaacag ttttttaatt agagagcaga tctctgatga ataaccaacg gaaaaaggcg	120

aaaaacacgc ctttcaatat gctgaaacgc gagagaaacc gcgtgtcgac tgtgcaacag	180
ctgacaaaga gattctcact tggaatgctg cagggacgag gacctttaa actgttcattg	240
gccctggtgg cggtccttcg tttcctaaca atcccaccaa cagcagggat attgaagaga	300
tggggaacaa ttaaaaaatc aaaagctatt aatgttttga gagggttcag gaaagagatt	360
ggaaggatgc tgaacatctt gaataggaga cgcagctctg caggcatgat cattatgctg	420
attccaacag tgatggcggt ccatttaacc acgcgtgatg gcgaaccct catgatagt	480
gcaaaacatg aaagggggag acctctcttg ttttaagaca cagaggggat caacaaatgc	540
actctcattg ccatggactt ggggtgaaatg tgtgaggaca ctgtcacgta taaatgcccc	600
ttactggtca ataccgaacc tgaagacatt gattgctggt gcaatctcac gtctacctgg	660
gtcatgtatg ggacatgcac ccagagcgga gaacggagac gagagaagcg ctcatgagct	720
ttaacaccac attcaggaat gggattggaa acaagagctg agacatggat gtcatcgga	780
ggggcttga agcatgctca gagagtagag agctggatac tcagaaacc aggattcgcg	840
ctcttggcag gatttatggc ttatatgatt gggcaaacag gaatccagcg aactgtcttc	900
tttgtcctaa tgatgctggt cgccccatcc tacggaatgc gatgcgtagg agtaggaaac	960
agagactttg tggaaggagt ctcagggtga gcatgggtcg atctggtgct agaacatgga	1020
ggatgctgca caaccatggc ccagggaata ccaaccttg attttgaact gactaagaca	1080
acagccaagg aagtggctct gttaagaacc tattgcattg aagcctcaat atcaaacata	1140
accacggcaa caagatgtcc aacgaagga gagccttacc taaaagagga acaagaccaa	1200
cagtacattt gccggagaga tgtggttagac agagggtggg gcaatggctg tggcttgttt	1260
ggaaaaggag gagtgtgac atgtgcgaag ttttcatgtt cggggaagat aacaggcaat	1320
ttggtccaaa ttgagaacct tgaatacaca gtggttga cagtcacaa tggagacacc	1380
catgcagtag gaaatgacac gtccaatcat ggagttacag ccacgataac tcccaggtea	1440
ccatcggtgg aagtcaaat gccggactat ggagaactaa cactcgattg tgaaccagg	1500
tctggaattg actttaatga gatgattctg atgaaaatga aaaagaaaac atggcttgtg	1560
cataagcaat ggtttttgga tctacctcta ccatggacag caggagcaga cacatcagag	1620
gttacttgga attacaaaga gagaatggtg acatttaagg ttcctcatgc caagagacag	1680
gatgtgacag tgcgtgggac tcaggaagga gccatgcatt ctgccctcgc tggagccaca	1740
gaagtggact ccggtgatgg aaatcacatg tttgcaggac atctcaagtg caaagtcgt	1800
atggagaaat tgagaatcaa gggaatgtca tacacgatgt gttcaggaaa gttctcaatt	1860
gacaaagaga tggcagaac acagcatggg acaacagtgg tgaaagtcaa gtatgaaggt	1920
gctggagctc cgtgtaaagt ccccatagag ataagagatg tgaacaagga aaaagtggtt	1980

gggcgtatca tctcatccac ccccttggct gagaatacca acagtgtaac caacatagag	2040
ttagaacccc cctttgggga cagctacata gtgatatgtg ttggaaacag tgcattaaca	2100
ctccattggt tcaggaaagg gagttccatt ggcaagatgt ttgagtcac atacagaggt	2160
gcaaaacgaa tggccattct aggtgaaaca gcttgggatt ttggttccgt tgggtgactg	2220
ttcacatcat tgggaaaggc tgtgcaccag gtttttggaa gtgtgtatac aaccctgttt	2280
ggaggagtct catggatgat tagaatccta attgggttcc tagtgtttg gattggcacg	2340
aactcaagga acatttcaat ggctatgacg tgcatactg cggcattgt gacactgtat	2400
ttgggagtca tgggtcaggc cgatagtgtg tgcgttgtga gctggaaaaa caaagaactg	2460
aaatgtggca gtgggatttt catcacagac aacgtgcaca catggacaga acaatacaag	2520
ttccaaccag aatccccttc aaaactagct tcagctatcc agaaagcca tgaagaggac	2580
atttgtggaa tccgctcagt aacaagactg gagaatctga tgtggaaaca aataacacca	2640
gaattgaatc acattctatc agaaaatgag gtgaagttaa ctattatgac aggagacatc	2700
aaaggaatca tgcaggcagg aaaacgatct ctgcggcctc agccactga gctgaagtat	2760
tcatggaaaa catggggcaa agcaaaaatg ctctctacag agtctcataa ccagaccttt	2820
ctcattgatg gccccgaac agcagaatgc cccaacacaa atagagcttg gaattcgttg	2880
gaagtgaag actatggctt tggagtattc accaccaata tatggctaaa attgaaagaa	2940
aaacaggatg tattctcgca ctcaaaactc atgtcagcgg ccataaaaaga caacagagcc	3000
gtccatgccg atatgggtta ttggatagaa agtgactca atgacacatg gaagatagag	3060
aaagcctctt tcattgaagt taaaaactgc cactggccaa aatcacacac cctctggagc	3120
aatggagtgc tagaaagtga gatgataatt ccaagaatc tcgctggacc agtgtctcaa	3180
cacaactata gaccaggcta ccatacacia ataacaggac catggcatct aggttaagctt	3240
gagatggact ttgatttctg tgatggaaca acagtgttag tgactgagga ctgcggaaat	3300
agaggaccct ctttgagaac aaccactgcc tctggaaaac tcataacaga atggtgctgc	3360
cgatcttgca cattaccacc gctaagatac agaggtgagg atgggtgctg gtacgggatg	3420
gaaatcagac cattgaagga gaaagaagag aatttggta actccttggc cacagctgga	3480
catgggcagg tcgacaactt ttcactagga gtcttgggaa tggcattgtt cctggaggaa	3540
atgcttagga cccgagtagg aacgaacat gcaatactac tagttgcagt ttcttttgtg	3600
acattgatca cagggaacat gtcctttaga gacctgggaa gagtgatggt tatggtaggc	3660
gccactatga cgggtgacat aggtatgggc gtgacttatac ttgccctact agcagccttc	3720

aaagtcagac caacttttgc agctggacta ctcttgagaa agctgacctc canggaattg	3780
atgatgacta ctataggaat tgtactcttc tcccagagca ccataccaga gaccattctt	3840
gagttgactg atgcgttagc cttagggcatg atggtcctca aaatggtgag aaatatggaa	3900
aagtatcaat tggcagtgac tatcatggct atcttgtgcg tcccaaacgc agtgatatta	3960
caaaacgcat ggaaagttag ttgcacaata ttggcagtggtgtccgtttc cccactgttc	4020
ttaacatcct cacagcaaaa aacagattgg ataccattag cattgacgat caaaggtctc	4080
aatccaacag ctatttttct aacaaccctc tcaagaacca gcaagaaaag gagctggcca	4140
ttaaagtagg ctatcatggc agtcgggatg gtgagcattt tagccagttc tctcctaaaa	4200
aatgatattc ccatgacagg accattatgt gctggagggc tctcactgt gtgctacgtg	4260
ctcactggac gatcggccga ttggaactg gagagagcag ccgatgtcaa atgggaagac	4320
caggcagaga tatcaggaag cagtccaatc ctgtcaataa caatatacaga agatggtagc	4380
atgtcgataa aaaaatgaaga ggaagaacaa acactgacca tactcattag aacaggattg	4440
ctggtgatct caggactttt tctgtatca ataccaatca cggcagcagc atggtacctg	4500
tgggaagtga agaaacaacg ggccggagta ttgtgggatg ttccttcacc cccacccatg	4560
ggaaaggctg aactggaaga tggagcctat agaattaagc aaaaagggat tcttgatat	4620
tcccagatcg gagccggagt ttacaaagaa ggaacattcc atacaatgtg gcatgtcaca	4680
cgtggcgctg ttctaataga taaaggaaag aggattgaac catcatgggc ggacgtcaag	4740
aaagacctaa tatcataatgg aggaggctgg aagttagaag gagaatggaa ggaaggagaa	4800
gaagtccagg tattggcact ggagcctgga aaaaatccaa gagccgtcca aacgaaacct	4860
ggtcttttca aaaccaacgc cggaacaata ggtgtgtat ctctggactt tctcctgga	4920
acgtcaggat ctccaattat cgacaaaaaa ggaaaagtgt tgggtcttta tggtaatggt	4980
gttgttaciaa ggagtggagc atatgtgagt gctatagccc agactgaaaa aagcattgaa	5040
gacaaccag agatcgaaga tgacattttc cgaaagagaa gactgacat catggacctc	5100
caccaggag cgggaaagac gaagagatac ctccggcca tagtcagaga agctataaaa	5160
cggggtttga gaacattaat ctggccccc actagatttg tggcagctga aatggaggaa	5220
gcccttagag gacttccaat aagataccag acccagcca tcagagctgt gcacaccggg	5280
cgggagattg tggacctaat gtgtcatgcc acatttacca tgaggctgct atcaccagtt	5340
agagtccaa actacaacct gattatcatg gacgaagccc atttcacaga tccagcaagt	5400
atagcagcta gaggatacat ctcaactcga gtggagatgg gtgaggcagc tgggattttt	5460
atgacagcca ctccccggg aagcagagac ccatttcttc agagcaatgc accaatcata	5520
gatgaagaaa gagaaatccc tgaacgctcg tggaattccg gacatgaatg ggtcacggat	5580

tttaaaggga agactgtttg gttcgttcca agtataaaag caggaaatga tatagcagct	5640
tgcttgagga aaaatggaaa gaaagtata caactcagta ggaagacctt tgattctgag	5700
tatgtcaaga ctagaaccaa tgattgggac ttcgtggtta caactgacat ttcagaaatg	5760
ggtgccaatt tcaaggctga gagggttata gaccccgagac gctgcatgaa accagtcata	5820
ctaacagatg gtgaagagcg ggtgattctg gcaggaccta tgccagtgc ccactctagt	5880
gcagcacaaa gaagaggag aataggaaga aatccaaaa atgagaatga ccagtacata	5940
tacatggggg aacctctgga aatgatgaa gactgtgcac actggaaaga agctaaaatg	6000
ctcctagata acatcaacac gccagaagga atcattccta gcatgttcga accagagcgt	6060
gaaaagggtg atgccattga tggcgaatac cgcttgagag gagaagcaag gaaaaccttt	6120
gtagacttaa tgagaagagg agacctacca gtctggttgg cctacagagt ggcagctgaa	6180
ggcatcaact acgcagacag aagggtgtgt ttgatggag tcaagaacaa ccaaatccta	6240
gaagaaaacg tggaagtga aatctggaca aaagaagggg aaaggaagaa attgaaaccc	6300
agatggttgg atgctaggat ctattctgac ccactggcgc taaaagaatt taaggaattt	6360
gcagccggaa gaaagtctct gacctgaac ctaatcacag aatgggtag gctccaacc	6420
ttcatgactc agaaggttaag agacgcactg gacaacttag cagtgtctga cacggctgag	6480
gcagggtgaa gggcgtaaca ccatgctctc agtgaactgc cggagaccct ggagacattg	6540
cttttactga cacttctggc tacagtcacg ggagggatct ttttattctt gatgagcgca	6600
aggggcatag ggaagatgac cctgggaatg tgctgcataa tcacggctag catcctccta	6660
tggtacgcac aaatacagcc aactggata gcagcttcaa taatactgga gttttttctc	6720
atagttttgc ttattccaga acctgaaaaa cagagaacac ccaagacaa ccaactgacc	6780
tacgttgtca tagccatctt cacagtgttg gccgcaacca tggcaaacga gatgggtttc	6840
ctagaaaaaa cgaagaaaga tctcggattg ggaagcattg caaccagca acccgagagc	6900
aacatcctgg acatagatct acgtcctgca tcagcatgga cgctgtatgc cgtggccaca	6960
acatttgta caccaatgtt gagacatagc attgaaaatt cctcagtga tgtgtcccta	7020
acagcnatag ccaaccaagc cacagtgtta atgggtctcg ggaaaggatg gccattgtca	7080
aagatggaca tcggagtcc cttctctgcc attggatgct actcacaagt caaccccata	7140
actctcacag cagctctttt cttatttgta gcacattatg ccatcatagg gccaggactc	7200
caagcaaaag caaccagaga agctcagaaa agagcagcgg cgggcatcat gaaaaacca	7260
actgtcgatg gaataacagt gattgacct gatccaatac cttatgatcc aaagtttgaa	7320
aagcatttgg gacaagtaat gctcctagtc ctctgcgtga ctcaagtatt gatgatgagg	7380
actacatggg ctctgtgtga ggctttaacc ttagctaccg ggcccatctc cacattgtgg	7440

gaaggaaatc caggagaggtt ttggaacact accattgcgg tgtcaatggc taacattttt	7500
agagggagtt acttggccgg agctggactt ctcttttcta ttatgaagaa cacaaccaac	7560
acaagaaggg gaactggcaa cataggagag acgcttggag agaaatggaa aagccgattg	7620
aacgcattgg gaaaaagtga attccagatc tacaagaaaa gtggaatcca ggaagtggat	7680
agaaccttag caaaagaagg cattaagaaga ggagaaacgg accatcacgc tgtgtcgca	7740
ggctcagcaa aactgagatg gtctgttgag agaacatgg tcacaccaga agggaaagta	7800
gtggacctcg gtgtggcag agggaggctgg tcatactatt gtggaggact aaagaatgta	7860
agagaagtca aaggcctaac aaaaggagga ccaggacacg aagaacccat ccccatgtca	7920
acatatgggt ggaatctagt gcgtcttcaa agtggagttg acgttttctt catcccgcca	7980
gaaaagtgtg acacattatt gtgtgacata ggggagtcac caccaaatcc cacagtggaa	8040
gcaggacgaa cactcagagt ccttaactta gtgaaaaatt ggttgaacaa caacactcaa	8100
ttttgcataa aggttctcaa cccatataatg ccctcagtca tagaaaaaat ggaagcacta	8160
caaaggaaat atggaggagc cttagttagg aatccactct cacgaaactc cacacatgag	8220
atgtactggg tatccaatgc ttccgggaac atagtgtcat cagtgaacat gatitcaagg	8280
atgttgatca acagatttac aatgagatac aagaaagcca cttacgagcc ggatgttgac	8340
ctcgggaagcg gaaccgtaa catcgggatt gaaagtgaga taccaaacct agatataatt	8400
gggaaaaagaa tagaaaaaat aaagcaagag catgaaacat catggcacta tgaccaagac	8460
caccataca aaacgtgggc ataccatggt agctatgaaa caaacagac tggatcagca	8520
tcatccatgg tcaacggagt ggtcaggctg ctgacaaaac cttgggacgt cgtcccatg	8580
gtgacacaga tggcaatgac agacacgact ccatttggac aacagcgcgt ttttaagag	8640
aaagtggaca cgagaaccca agaaccgaaa gaaggcacga agaaactaat gaaaataaca	8700
gcagagtggc tttgaaaga attaggggaag aaaaagacac ccaggatgtg caccagagaa	8760
gaattcaca gaaaggtgag aagcaatgca gccttggggg ccatattcac tgatgagaac	8820
aagtggaaat cggcacgtga ggctgttgaa gatagtaggt tttgggagct ggttgacaag	8880
gaaaggaatc tccatcttga aggaaagtgt gaaacatgtg tgtacaacat gatgggaaaa	8940
agagagaaga agctagggga attcggcaag gcaaaaggca gcagagccat atggtacatg	9000
tggcttggag cacgcttctt agagtittgaa gccttaggat tcttaaatga agatcactgg	9060
ttctccagag agaactccct gagtggagtg gaaggagaag ggctgcacaa gctaggttac	9120
attctaagag acgtgagcaa gaaagaggga ggagcaatgt atgccgatga caccgcagga	9180

tgggatacaa gaatcacact agaagacctt aaaaatgaag aaatggtaac aaaccacatg	9240
gaaggagaac acaagaaact agccgaggcc attttcaaac taactgacca aaacaaggtg	9300
gtgcgtgtgc aaagaccaac accaagaggc acagtaatgg acatcatac gagaagagac	9360
caaagaggta gtggacaagt tggcacctat ggactcaata ctttaccacaa tatggaagcc	9420
caactaatca gacagatgga gggagaagga gtctttaaaa gcattcagca cctaacaatc	9480
acagaagaaa tcgctgtgca aaactggtta gcaagagtgg ggcgcgaaag gttatcaaga	9540
atggccatca gtggagatga ttgtgtttgt aaaccttttag atgacaggtt cgcaagcgct	9600
ttaacagctc taaatgacat gggaaagatt aggaaagaca tacaacaatg ggaaccttca	9660
agaggatgga atgattggac acaagtgcc tttctgttcac accattttcca tgagttaatc	9720
atgaaagacg gtgcgctact cgtttgttccc tgtagaaacc aagatgaact gattggcaga	9780
gccccaatct cccaaggagc aggggtggtct ttgcgggaga cgccctgttt ggggaagtct	9840
tacgccccaa tgtggagctt gatgtacttc cacagacgcg acctcaggct ggcgggcaaat	9900
gctatttctc cggcagtacc atcacattgg gttccaacaa gtcgaacaac ctggtccata	9960
catgctaaac atgaatggat gacaacggaa gacatgctga cagtctggaa cagggtgtgg	10020
attcaagaaa acccatggat ggaagacaaa actccagtgg aatcatggga ggaaatccca	10080
tacttgggga aaagagaaga ccaatggtgc ggctcattga ttgggttaac aagcagggcc	10140
acctggggca agaacaatcca agcagcaata aatcaagtta gatcccttat aggcaatgaa	10200
gaatacacag attacatgcc atccatgaaa agattcagaa gagaagagga agaagcagga	10260
gttctgtggt agaaagcaaa actaacatga aacaaggcta gaagtcaggt cggattaagc	10320
catagtacgg aaaaaactat gctacctgtg agccccgtcc aaggacgtta aaagaagtca	10380
ggccatcata aatgccatag cttgagtaaa ctatgcagcc tgtagctcca cctgagaagg	10440
tgtaaaaaat ccgggaggcc acaaaccatg gaagctgtac gcatggcgta gtggactagc	10500
ggttagagga gacccctccc ttacaaatcg cagcaacaat gggggcccaa ggcgagatga	10560
agctgtagtc tcgctggaag gactagaggt tagaggagac cccccgaaa caaaaaacag	10620
catattgacg ctgggaaaga ccagagatcc tctgtctccc tcagcatcat tccaggcaca	10680
gaacgccaga aaatggaatg gtgctgttga atcaacaggt tct	10723