



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)  
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0045053

(51)<sup>2020.01</sup> A61K 39/12; C12N 15/00; A61P 31/14 (13) B

(21) 1-2021-02084

(22) 18/09/2019

(86) PCT/EP2019/074995 18/09/2019

(87) WO2020/058327 26/03/2020

(30) 18195774.7 20/09/2018 EP; 19165973.9 28/03/2019 EP

(45) 25/04/2025 445

(43) 26/07/2021 400A

(71) BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA GMBH (DE)

Binger Strasse 173, 55216 INGELHEIM AM RHEIN, Germany

(72) NIKOLIN, Veljko (DE); GALLEI, Andreas (DE).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) PHÂN TỬ AXIT NUCLEIC, PROTEIN GAI CẢI BIẾN CỦA VIRUT GÂY DỊCH BỆNH TIÊU CHẢY Ở LỢN (PEDV) ĐƯỢC MÃ HÓA BỞI PHÂN TỬ AXIT NUCLEIC NÀY, VÀ CHẾ PHẨM SINH MIỄN DỊCH CHỨA CHÚNG

(21) 1-2021-02084

(57) Sáng chế đề cập đến phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn (PEDV) và protein gai (S) cải biến của virus gây bệnh tiêu chảy ở lợn (PEDV) được mã hóa bởi phân tử axit nucleic này. Ngoài ra, sáng chế đề cập đến vectơ chứa phân tử axit nucleic này và chế phẩm sinh miễn dịch chứa phân tử axit nucleic và/hoặc protein gai cải biến của PEDV và/hoặc vectơ này.

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến protein gai (spike - S) được cải biến của virus gây dịch bệnh tiêu chảy ở lợn (porcine epidemic diarrhea virus - PEDV). Các cải biến tạo ra phương pháp sản xuất cải thiện cho vaccine PEDV. Hơn nữa, các vaccine chứa protein gai cải biến là vaccine hữu hiệu và tạo ra sự bảo vệ chống lại sự lây nhiễm hoặc thử thách PEDV. Do tỷ lệ tử vong cao (lên đến 100%) ở lợn con dưới 10 ngày tuổi, nên bệnh này là mối quan tâm về mặt kinh tế, chẳng hạn trong ngành công nghiệp chăn nuôi lợn của Mỹ.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Virus gây dịch tiêu chảy ở lợn là một virus ARN chuỗi đơn dương có vỏ bọc, virus này gây bệnh tiêu chảy cấp, nôn, và mất nước ở lợn. Ở lợn 3 tuần tuổi và nhỏ hơn, các dấu hiệu lâm sàng (bao gồm tiêu chảy nước cấp tính, nôn và mất nước) có thể quan sát thấy sớm ngay trong thời gian 24 giờ sau nhiễm PEDV dẫn tới tỷ lệ tử vong 100%. Ngoài ra, các thay đổi tổng thể và mô học trong ruột của động vật bị nhiễm PEDV có thể gây ra các thương tổn bệnh học tổng thể trong ruột non.

PEDV được nhận dạng lần đầu ở châu Âu, nhưng ngày càng trở thành vấn đề ở nhiều nước châu Á, bao gồm Hàn Quốc, Trung Quốc, Nhật Bản, Phi-lip-pin và Thái Lan. Kể từ năm 2013, PEDV nổi lên ở Mỹ và ảnh hưởng kinh tế của sự lây nhiễm PEDV đã rất đáng kể. Theo đó, liên tục có nhu cầu phát triển vaccine có khả năng bảo vệ lợn chống lại bệnh liên quan đến PEDV. Về khía cạnh này, cần có các vaccine cụ thể hữu hiệu để chống lại các chủng đang nổi lên của PEDV mà có thể được sử dụng qua đường niêm mạc (miệng hoặc trong mũi).

Mặc dù chỉ một typ huyết thanh của PEDV được báo cáo, các nghiên cứu phát sinh chủng loại trên gen S thể hiện rằng PEDV có thể được chia về mặt di truyền thành 2 nhóm: nhóm gen (genogroup) 1 (G1; cổ điển) và nhóm gen 2 (G2; dịch hoặc đại dịch đồng ruộng). Mỗi nhóm gen có thể được chia tiếp thành các phân nhóm (1a và 1b; 2a và 2b). G1a bao gồm chủng prototyp PEDV CV777, các chủng vaccine, và các chủng

được thích ứng với nuôi cấy tế bào khác, trong khi đó G1b bao gồm các biến thể mới lần đầu được nhận dạng ở Trung Quốc và sau đó ở Mỹ, Hàn Quốc và châu Âu. G2 bao gồm các thể phân lập đồng ruộng trên toàn cầu, nhóm này còn được chia tiếp vào các phân nhóm 2a và 2b (G2a và G2b) chịu trách nhiệm về các đợt bùng phát dịch tại địa phương trước đây ở châu Á và bùng phát đại dịch gần đây lần lượt ở Bắc Mỹ và châu Á.

PEDV là thành viên thuộc phân họ *Coronavirinae* thuộc chi *Alphacoronavirus*. PEDV là một virus có vỏ bọc sở hữu hệ gen ARN sợi đơn dương khoảng 28kb, với mũ đầu 5' và đuôi polyadenyl hóa đầu 3'. (Pensaert and De Bouck P. 1978). Hệ gen bao gồm vùng không dịch mã đầu 5' (UTR), 3' UTR và ít nhất 7 khung đọc mở (ORF) mã hóa 4 protein cấu trúc (gai (S), vỏ (E), màng (M) và capsit nhân (N)) và 3 protein không cấu trúc (các replicaza 1a và 1b và ORF3); các khung đọc này được sắp xếp trên hệ gen theo thứ tự 5' –replicaza (1a/1b)-S-ORF3-E-M-N-3' (Oldham J. 1972; and Bridgen et al. 1993).

Protein S của PEDV là một glycoprotein typ I, trong đó protein S (của PEDV G2b) gồm có 1383 axit amin (aa). Protein S có thể chia thành các vùng S1 (ví dụ, 1-789 aa) và S2 (ví dụ, 790-1383 aa) dựa trên tính tương đồng của nó với protein S của các virus corona khác. Protein S trong virus corona là một kháng nguyên bề mặt, ở đó nó đóng vai trò trong việc điều hòa các tương tác với các glycoprotein thụ thể của tế bào chủ để trung gian cho sự thâm nhập của virus và kích thích sự cảm ứng trung hòa kháng thể trong vật chủ tự nhiên. Như vậy, glycoprotein S là mục tiêu chính trong phát triển các vaccine hữu hiệu chống lại PEDV.

Madu et al 2009 (J. Virol.; 83 (15), p. 7411–7421) mô tả hai đột biến đơn (L803A hoặc L804A) trong protein gai của SARS (severe acute respiratory syndrome - hội chứng hô hấp cấp nghiêm trọng) và thể hiện rằng mỗi đột biến này có ảnh hưởng đến hoạt tính dung hợp màng. Hơn nữa, Ujike & Taguchi 2015 (Viruses; 7, 1700-1725) mô tả rằng đột biến tín hiệu YXXI phụ thuộc tyrosin thể hiện mức biểu hiện tăng cường trên bề mặt tế bào. Shirato et al 2011 (Virus Res.; 161 (2):188-93) mô tả rằng đột biến H1381R trong motif KxHxx của PEDV dẫn đến sự vận chuyển protein gai vào màng sinh chất. Tuy nhiên, không tài liệu nào mô tả rằng các cải biến bất kỳ đối với protein gai có thể cải thiện phương pháp sản xuất vaccine PEDV và các vaccine được sản xuất bằng các cải biến trong protein gai như vậy có thể vẫn thích hợp làm vaccine và tạo ra sự

bảo vệ chống lại sự lây nhiễm và thử thách PEDV.

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Giải pháp cho vấn đề kỹ thuật nêu trên đạt được nhờ phần mô tả và các phương án được mô tả đặc trưng trong phần yêu cầu bảo hộ.

Sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn (PEDV) được chọn từ nhóm gồm (a) và (b) sau đây:

(a) protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV có ít nhất một đột biến, trong đó

- gốc leuxin ở vị trí axit amin số 900 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin, và/hoặc
- gốc leuxin ở vị trí axit amin số 901 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin,

trong đó việc đánh số các vị trí axit amin chỉ trình tự axit amin protein S G2a của PEDV kiểu đại có SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:39;

(b) Protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV có ít nhất một đột biến, trong đó

- gốc leuxin ở vị trí axit amin số 897 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin, và/hoặc
- gốc leuxin ở vị trí axit amin số 898 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin,

trong đó việc đánh số các vị trí axit amin chỉ trình tự axit amin của protein S G2b của PEDV kiểu đại có SEQ ID NO:3.

Sáng chế cũng đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn (PEDV) chứa trình tự axit amin

$RSX_1IEDX_2X_3$  (SEQ ID NO:1),

trong đó R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV,  $X_1$  có thể là gốc axit amin bất kỳ, và trong đó

(I)  $X_2$  là gốc axit amin không phải là gốc leuxin và  $X_3$  là gốc leuxin, hoặc

(II)  $X_2$  là gốc leuxin và  $X_3$  là gốc axit amin không phải là gốc leuxin, hoặc

(III)  $X_2$  là gốc axit amin không phải là gốc leuxin và  $X_3$  là gốc axit amin không phải là gốc leuxin.

Sáng chế còn đề xuất protein gai (S) cải biến của virus gây dịch bệnh tiêu chảy ở lợn (PEDV) được mã hóa bởi phân tử axit nucleic này, vector chứa phân tử axit nucleic này và chế phẩm sinh miễn dịch chứa phân tử axit nucleic và/hoặc protein gai cải biến của PEDV và/hoặc vector này.

### Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1. Định vị trí trong tế bào của các protein đích (PEDV-S2b-wt và PEDV-S2b-mut) trong tế bào RK13. Ba hình trên chứng tỏ sự biểu hiện protein gai từ vector EHV1-PEDV-S2b-wt tái tổ hợp chủ yếu được định vị trong bào tương, trong khi như được thể hiện ở ba hình dưới, PEDV-S được biểu hiện từ EHV1-PEDV-S2b-mut chủ yếu được định vị trong màng tế bào.

Fig. 2. So sánh sự phát triển các vector được mô tả trong ví dụ 3 (CDV-PEDV-spike-MUT (= CDV-PEDV-spike mut) và CDV-PEDV-spike-WT (= CDV-PEDV-spike WT)) trong tế bào Vero, trong đó đường cong phía trên liên quan đến CDV-PEDV-spike mut, và đường cong phía dưới liên quan đến CDV-PEDV-spike WT.

### Mô tả chi tiết sáng chế

Trước khi các khía cạnh của sáng chế được mô tả, cần lưu ý rằng như được sử dụng trong bản mô tả và trong yêu cầu bảo hộ kèm theo, các dạng số ít "một", và dạng xác định bao gồm cả dạng số nhiều trừ khi ngữ cảnh chỉ rõ theo cách khác. Vì vậy, ví dụ, khi viện dẫn đến "kháng nguyên" bao gồm cả nhiều kháng nguyên, khi viện dẫn đến "virus" là viện dẫn đến một hoặc nhiều virus và các dạng tương đương của nó mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật đã biết, v.v. Trừ khi có quy định khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả có cùng nghĩa như thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực của sáng chế này. Mặc dù các phương pháp và vật liệu tương tự hoặc tương đương với các phương pháp và vật liệu được mô tả trong bản mô tả có thể được dùng để thực hành hoặc thử nghiệm sáng chế, các phương pháp, thiết bị và vật liệu được ưu tiên sẽ được mô tả. Tất cả các công bố đã nêu trong bản mô tả này được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn nhằm mục đích mô tả và bộc lộ các dòng tế bào, vector, và các hệ phương pháp như được báo

cáo trong các công bố có thể được sử dụng cùng với sáng chế. Không có phần nào ở đây được hiểu như là thừa nhận rằng sáng chế không được hưởng quyền đề ngày trước những bộc lộ bởi sáng chế trước đó.

Sáng chế dựa trên phát hiện bất ngờ rằng các đột biến về trình tự axit amin của protein gai của PEDV là đủ để làm tăng mức sản xuất của các vacxin PEDV dựa trên vectơ. Hơn nữa, các nghiên cứu trên động vật đã thể hiện rằng vacxin PEDV dựa trên vectơ có protein gai được cải biến như vậy là hữu hiệu và cung cấp hoặc cho phép bảo vệ chống lại sự lây nhiễm hoặc thử thách PEDV. Do đó, sáng chế giải quyết được các vấn đề cốt lõi của giải pháp đã biết và cung cấp ưu điểm rõ ràng trong lĩnh vực này.

Về mặt này, sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây dịch tiêu chảy ở lợn (porcine epidemic diarrhea virus - PEDV) chứa trình tự axit amin

RSX<sub>1</sub>IEDX<sub>2</sub>X<sub>3</sub> (SEQ ID NO:1), trong đó

- (I) X<sub>2</sub> là gốc axit amin không phải là gốc leuxin và X<sub>3</sub> là gốc leuxin, hoặc
- (II) X<sub>2</sub> là gốc leuxin và X<sub>3</sub> là gốc axit amin không phải là gốc leuxin, hoặc
- (III) X<sub>2</sub> là gốc axit amin không phải là gốc leuxin và X<sub>3</sub> là gốc axit amin không phải là gốc leuxin.

Cụ thể, R của trình tự RSX<sub>1</sub>IEDX<sub>2</sub>X<sub>3</sub> (SEQ ID NO:1, và cũng của trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 4, 5, 21-25 và 31-35, là là gốc arginin bảo toàn được định vị theo chiều đầu tận cùng C của vị trí phân cắt S1/S2. R này sau đây còn gọi là “là gốc arginin bảo toàn của vị trí phân cắt S1/S2 của protein A của PEDV”. Cụ thể hơn, R là gốc arginin kẹp sườn ở đầu tận cùng N peptit dung hợp của protein S của PEDV này. Trình tự của peptit dung hợp này thường bắt đầu bằng trình tự SXIED. Cụ thể, peptit dung hợp này nằm trong tiểu đơn vị S2 của protein S của PEDV.

Trình tự RSX<sub>1</sub>IEDX<sub>2</sub>X<sub>3</sub> (SEQ ID NO:1) do đó cũng được hiểu cụ thể là trình tự của vùng dung hợp của protein S của PEDV này.

Cụ thể hơn, trong ngữ cảnh về trình tự RSX<sub>1</sub>IEDX<sub>2</sub>X<sub>3</sub> (SEQ ID NO:1), và cũng về trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 4, 5, 21-25 và 31-35, R liên quan đến gốc arginin bảo toàn ở vị trí axit amin số 894 nếu protein S của PEDV là protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV, hoặc liên quan đến gốc arginin bảo toàn ở vị trí axit amin số 891 nếu protein

S của PEDV là protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV. Do đó, về vị trí axit amin, việc thể hiện “R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV” được hiểu là tương đương với “R là gốc arginin ở vị trí axit amin số 894 nếu protein S của PEDV là protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV, và trong đó cách đánh số vị trí axit amin chỉ trình tự axit amin của protein S G2a của PEDV kiểu đại, tốt hơn là SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:39, hoặc R là gốc arginin ở vị trí axit amin số 891 nếu protein S của PEDV là protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV và trong đó cách đánh số vị trí axit amin chỉ trình tự axit amin của protein S G2a của PEDV, tốt hơn là SEQ ID NO:3”.

Nói chung, sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây dịch tiêu chảy ở lợn (porcine epidemic diarrhea virus - PEDV) chứa trình tự axit amin

RSX<sub>1</sub>IEDX<sub>2</sub>X<sub>3</sub> (SEQ ID NO:1),

trong đó R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV, X<sub>1</sub> có thể là gốc axit amin bất kỳ, và trong đó

- (I) X<sub>2</sub> là gốc axit amin không phải là gốc leuxin và X<sub>3</sub> là gốc leuxin, hoặc
- (II) X<sub>2</sub> là gốc leuxin và X<sub>3</sub> là gốc axit amin không phải là gốc leuxin, hoặc
- (III) X<sub>2</sub> là gốc axit amin không phải là gốc leuxin và X<sub>3</sub> là gốc axit amin không phải là gốc leuxin.

Thuật ngữ “phân tử axit nucleic” chỉ polynucleotit bao gồm các phân tử ADN, phân tử ARN, phân tử cADN hoặc các dẫn xuất. Thuật ngữ này bao hàm các polynucleotit sợi đơn cũng như sợi kép. Tốt hơn nếu, thuật ngữ này chỉ ARN sợi đơn hoặc cADN sợi kép. Axit nucleic theo sáng chế bao hàm các polynucleotit được phân lập (nghĩa là được phân lập từ các nguồn tự nhiên của nó) và các dạng được cải biến di truyền. Hơn nữa, axit nucleic theo sáng chế cũng bao gồm các polynucleotit được cải biến hóa học bao gồm các polynucleotit được cải biến có trong tự nhiên như polynucleotit được glycosyl hóa hoặc metyl hóa hoặc các polynucleotit được cải biến nhân tạo như polynucleotit được biotiny hóa. Ngoài ra, cần hiểu rằng các protein gai như đã nêu ở trên có thể được mã hóa bởi một số lượng lớn các polynucleotit do mã di truyền bị thoái hóa. Ngoài ra, thuật ngữ “axit nucleic” và “polynucleotit” có thể dùng thay thế cho nhau và để chỉ axit nucleic bất kỳ. Thuật ngữ “axit nucleic” và

"polynucleotit" cũng đặc biệt bao gồm các axit nucleic gồm các bazơ không phải là năm bazơ xuất hiện trong sinh học (adenin, guanin, thymine, xytosin và uraxil).

Thuật ngữ "PEDV" đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rõ. PEDV viết tắt cho virus gây dịch bệnh tiêu chảy ở lợn và là thành viên thuộc phân họ *Coronavirinae* chi *Alphacoronavirus*.

Thuật ngữ "gai" chỉ protein cụ thể của PEDV mà đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rõ. Protein gai là yếu tố cảm ứng chính của các kháng thể và đáp ứng miễn dịch bảo vệ. Hơn nữa, protein gai đóng vai trò chính trong chương trình thâm nhập tế bào của PEDV bằng các thụ thể liên kết tế bào của tế bào chủ và cả bằng cách trung gian dung hợp virus-màng tế bào với tế bào chủ. Ngoài ra, cần hiểu rằng thuật ngữ "protein S của PEDV" là tương đương với thuật ngữ viết tắt "PEDV S", thường dùng trong ngữ cảnh về PEDV.

Thuật ngữ "protein", "axit amin" và "polypeptit" được sử dụng có thể thay thế cho nhau. Thuật ngữ "protein" chỉ trình tự axit amin (aa) gồm có các axit amin có trong tự nhiên cũng như các dẫn xuất của chúng. Các axit amin có trong tự nhiên hoặc các gốc axit amin được mã hóa di truyền là đã biết rõ trong lĩnh vực này và được mô tả trong các tài liệu hóa sinh tiêu chuẩn. Trong trình tự axit amin, các axit amin được kết nối bằng liên kết peptit. Hơn nữa, hai đầu của trình tự axit amin được gọi là đầu tận cùng carboxyl (đầu tận cùng C) và đầu tận cùng amino (đầu tận cùng N). Ngoài ra, thuật ngữ "protein" bao hàm các protein gần như tinh khiết hoặc chế phẩm protein chứa thêm các protein khác. Hơn nữa, thuật ngữ này còn đề cập đến các mảnh protein. Hơn nữa, thuật ngữ này còn bao gồm các protein được biến đổi hóa học. Các biến đổi như vậy có thể là các biến đổi nhân tạo hoặc các biến đổi có trong tự nhiên như phosphoryl hóa, glycosyl hóa, myristyl hóa và các dạng tương tự.

Trong ngữ cảnh của sáng chế, cách viết "R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV" được hiểu là tương đương với "R là gốc arginin bảo toàn nằm theo chiều tận cùng C của vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV" hoặc tương đương với "R là gốc arginin bảo toàn kẹp sườn đầu tận cùng N peptit dung hợp của protein S của PEDV". Cách viết "kẹp sườn ở đầu tận cùng N peptit dung hợp" được hiểu là tương đương với "kẹp sườn ở đầu tận cùng N trình tự peptit dung hợp".

Trình tự RSX<sub>1</sub>IEDX<sub>2</sub>X<sub>3</sub> (SEQ ID NO:1) cần được hiểu như sau:

- R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV,
- S là gốc axit amin serin,
- $X_1$  là axit amin bất kỳ trong số 20 gốc axit amin được mã hóa di truyền,
- I là gốc isoleuxin,
- E là gốc glutamat,
- D là gốc aspartat,
- $X_2$  là tham biến.  $X_2$  có hai điều kiện.  $X_2$  có thể là gốc axit amin mà không phải là leuxin (điều kiện 1) nghĩa là  $X_2$  có thể là gốc axit amin bất kỳ trong số các axit amin được mã hóa di truyền ngoài gốc leuxin. Theo cách khác,  $X_2$  có thể là gốc leuxin (điều kiện 2),
- $X_3$  là tham biến.  $X_3$  có hai điều kiện.  $X_3$  có thể là gốc axit amin mà không phải là leuxin (điều kiện 1) nghĩa là  $X_3$  có thể là gốc axit amin bất kỳ trong số các axit amin được mã hóa di truyền ngoài gốc leuxin. Theo cách khác,  $X_2$  có thể là gốc leuxin (điều kiện 2).

Do đó, sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn (PEDV) chứa:

a) trình tự axit amin  $RSX_1IEDLX_2$  (SEQ ID NO:21), và trong đó R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV,  $X_1$  có thể là gốc axit amin bất kỳ,  $X_2$  là gốc axit amin không phải là gốc leuxin, hoặc

b) trình tự axit amin  $RSX_1IEDX_2L$  (SEQ ID NO:22), và trong đó R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV,  $X_1$  có thể là gốc axit amin bất kỳ,  $X_2$  là gốc axit amin không phải là gốc leuxin, hoặc

c) trình tự axit amin  $RSX_1IEDX_2X_3$  (SEQ ID NO:1), và trong đó R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV,  $X_1$  có thể là gốc axit amin bất kỳ,  $X_2$  và  $X_3$  là các gốc axit amin không phải là các gốc leuxin.

Tốt hơn, sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn (PEDV) chứa:

a) trình tự axit amin  $RSXIEDLA$  (SEQ ID NO:23), và trong đó R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV và X có thể là gốc axit amin

bất kỳ, hoặc

b) trình tự axit amin RSXIEDAL (SEQ ID NO:24), và trong đó R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV và X có thể là gốc axit amin bất kỳ, hoặc

c) trình tự axit amin RSXIEDAA (SEQ ID NO:25), và trong đó R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV và X có thể là gốc axit amin bất kỳ.

Thuật ngữ “gốc axit amin được mã hóa di truyền”, như được mô tả trong ngữ cảnh của sáng chế, cụ thể chỉ gốc axit amin (mã chữ cái đơn trong ngoặc kép) được chọn từ nhóm gồm gốc alanin (A), gốc cystein (C), gốc aspartat (D), gốc glutamat (E), gốc phenylalanin (F), gốc glyxin (G), gốc histidin (H), gốc isoleuxin (I), gốc lysin (K), gốc leuxin (L), gốc methionin (M), gốc asparagin (N), gốc prolin (P), gốc glutamin (Q), gốc arginin (R), gốc serin (S), gốc threonin (T), gốc valin (V), gốc tryptophan (W) và gốc tyrosin (Y).

Hơn nữa, sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây dịch tiêu chảy ở lợn (PEDV) được chọn từ nhóm gồm (a) và (b) sau đây:

a) protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV có ít nhất một đột biến, trong đó

- gốc leuxin ở vị trí axit amin số 900 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin, và/hoặc

- gốc leuxin ở vị trí axit amin số 901 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin,

trong đó việc đánh số các vị trí axit amin chỉ trình tự axit amin protein S G2a của PEDV kiểu đại có SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:39.

b) protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV có ít nhất một đột biến, trong đó

- gốc leuxin ở vị trí axit amin số 897 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin, và/hoặc

- gốc leuxin ở vị trí axit amin số 898 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin,

trong đó việc đánh số các vị trí axit amin chỉ trình tự axit amin của protein S G2b của PEDV kiểu đại có SEQ ID NO:3.

Do đó, sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn (PEDV) được chọn từ nhóm gồm (a) và (b) sau đây:

a) protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV có ít nhất một đột biến, trong đó

- gốc leuxin ở vị trí axit amin số 900 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin và gốc ở vị trí axit amin số 901 là gốc leuxin, hoặc
- gốc ở vị trí axit amin số 900 là gốc leuxin và gốc ở vị trí axit amin số 901 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin, hoặc
- các gốc ở vị trí axit amin số 900 và 901 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin,

trong đó việc đánh số các vị trí axit amin chỉ trình tự axit amin protein S G2a của PEDV kiểu đại có SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:39;

b) protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV có ít nhất một đột biến, trong đó

- gốc leuxin ở vị trí axit amin số 897 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin và gốc ở vị trí axit amin số 898 là gốc leuxin, hoặc
- gốc ở vị trí axit amin số 897 là gốc leuxin và gốc leuxin ở vị trí axit amin số 898 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin, hoặc
- các gốc ở vị trí axit amin số 897 và 898 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin,

trong đó việc đánh số các vị trí axit amin chỉ trình tự axit amin của protein S G2b của PEDV kiểu đại có SEQ ID NO:3.

Như được mô tả ở đây, cách viết “các gốc ở vị trí axit amin số 900 và 901 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin” là tương đương với “các gốc ở vị trí axit amin số 900 và 901 từng gốc được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin”, và cách viết “các gốc ở vị trí axit amin số 897 và 898 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin” là tương đương với “các gốc ở vị trí axit amin số 897 và 898 từng gốc được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin”.

Hơn nữa, cần hiểu rằng thuật ngữ “nhóm gen” là tương đương với thuật ngữ “kiểu

gen” như thường dùng trong tài liệu trong ngữ cảnh về PEDV. Các thuật ngữ “kiểu gen 2a (G2a)” và “kiểu gen 2b (G2b)” đã được người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này biết rõ. Các nghiên cứu phát sinh loài về gen S của PEDV có thể được chia về mặt di truyền thành 2 nhóm: nhóm gen 1 (G1; cổ điển) và nhóm gen 2 (G2; dịch hoặc đại dịch đồng ruộng). Mỗi nhóm gen có thể được chia tiếp thành các phân nhóm (1a và 1b; 2a và 2b). G2 bao gồm các thể phân lập đồng ruộng trên toàn cầu, nhóm này còn được chia tiếp vào các phân nhóm 2a và 2b chịu trách nhiệm về các đợt bùng phát dịch tại địa phương trước đây ở châu Á và bùng phát đại dịch gần đây lần lượt ở Bắc Mỹ và châu Á.

Thuật ngữ “trong đó cách đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của protein S G2a của PEDV kiểu đại có SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:39” và “trong đó cách đánh số các vị trí axit amin chỉ trình tự axit amin của protein S G2b của PEDV kiểu đại có SEQ ID NO:3” cần được hiểu rằng cách đánh số các vị trí axit amin lần lượt chỉ trình tự axit amin của protein S G2a của PEDV kiểu đại (SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:39) và protein S G2b của PEDV kiểu đại (SEQ ID NO:3) có độ dài đầy đủ. Do đó, cách đánh số các vị trí axit amin như nêu ở đây là cho trình tự protein S G2a của PEDV kiểu đại và trình tự protein S G2b của PEDV kiểu đại lần lượt có 1388 hoặc 1386, hoặc 1383 gốc axit amin, bao gồm gốc methionin ở vị trí axit amin (đầu tận cùng N) số 1. Do đó, các đánh số như được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế, liên quan đến trình tự protein S G2a của PEDV có trong tự nhiên và protein S G2b của PEDV kiểu đại, như nêu trong lần lượt SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:39, và SEQ ID NO:3. Nói cách khác, ví dụ nếu tham chiếu đến axit amin hoặc gốc ở vị trí số 900, gốc axit amin này có ý nghĩa tương ứng với axit amin 900 của SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:39. Tuy nhiên, điều này không có nghĩa là các protein gai theo sáng chế có trình tự axit amin đồng nhất với SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:39. Việc này chỉ nói lên rằng các axit amin tương ứng của protein gai theo sáng chế mã hóa gốc axit amin như được đề cập rõ ràng.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phân tử axit nucleic theo sáng chế, gốc axit amin không phải là gốc leuxin được chọn từ nhóm gồm gốc alanin, gốc glyxin, gốc isoleuxin, gốc methionin và gốc valin.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phân tử axit nucleic theo sáng chế gốc axit amin này không phải là gốc leuxin được chọn từ nhóm gồm gốc alanin hoặc gốc glyxin.

Do đó, sáng chế đặc biệt đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn (PEDV) chứa:

- a) trình tự axit amin RSXIEDLA (SEQ ID NO:23), hoặc
- b) trình tự axit amin RSXIEDAL (SEQ ID NO:24), hoặc
- c) trình tự axit amin RSXIEDAA (SEQ ID NO:25), hoặc
- d) trình tự axit amin RSXIEDLG (SEQ ID NO:31), hoặc
- e) trình tự axit amin RSXIEDGL (SEQ ID NO:32), hoặc
- f) trình tự axit amin RSXIEDGG (SEQ ID NO:33), hoặc
- g) trình tự axit amin RSXIEDGA (SEQ ID NO:34), hoặc
- h) trình tự axit amin RSXIEDAG (SEQ ID NO:35),

và trong đó R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV và X có thể là gốc axit amin bất kỳ.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phân tử axit nucleic theo sáng chế gốc axit amin không phải là gốc leuxin là gốc alanin.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phân tử axit nucleic theo sáng chế, cách đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin RSXIEDLLF (SEQ ID NO:4) của protein S G của PEDV kiểu đại, trong đó R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 và LL là các vị trí axit amin 900 và 901 trong protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV hoặc LL là các vị trí axit amin 897 và 898 trong protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phân tử axit nucleic theo sáng chế, protein S của PEDV chứa trình tự axit amin RSXIEDAAF (SEQ ID NO:5), trong đó R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV và AA là các vị trí axit amin 900 và 901 trong protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV hoặc AA là các vị trí axit amin 897 và 898 trong protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phân tử axit nucleic theo sáng chế protein S của PEDV còn chứa trình tự axit amin

**X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>FX<sub>4</sub>KX<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>** (SEQ ID NO:6),

trong đó  $X_8$  là gốc axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV hoặc gốc axit amin ở vị trí số -2 so với vị trí axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV,

$X_2$  đến  $X_5$ ,  $X_7$  và  $X_8$  có thể là gốc axit amin bất kỳ,

và trong đó

(i)  $X_1$  là gốc axit amin không phải là gốc tyrosin và  $X_6$  là gốc histidin, hoặc

(ii)  $X_1$  là gốc tyrosin và  $X_6$  là gốc axit amin không phải là gốc histidin, hoặc

(iii)  $X_1$  là gốc axit amin không phải là gốc tyrosin và  $X_6$  là gốc axit amin không phải là gốc histidin.

Tốt hơn, trong ngữ cảnh của sáng chế,  $X_8$  là gốc axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV nếu protein S của PEDV này là protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV, hoặc  $X_8$  là gốc axit amin ở vị trí số -2 so với vị trí axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV nếu protein S của PEDV này là protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV. Thuật ngữ “gốc axit amin ở vị trí số -2 so với vị trí axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV” được hiểu cụ thể là tương đương với “gốc axit amin ở vị trí axit amin n-2, trong đó n là vị trí axit amin của gốc axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV này”. Do đó, chẳng hạn, nếu protein PEDV, như protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV, có trình tự axit amin có chiều dài 1388 gốc axit, thì gốc axit amin ở vị trí -2 so với vị trí axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV này là gốc axit amin ở vị trí axit amin 1386 của lần lượt protein PEDV, hoặc protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV. Hơn nữa, như được mô tả ở đây, cần hiểu cụ thể rằng cách viết “ $X_2$  đến  $X_5$ ,  $X_7$  và  $X_8$  có thể là gốc axit amin bất kỳ” là tương đương với “mỗi gốc trong số  $X_2$  đến  $X_5$ ,  $X_7$  và  $X_8$  có thể là gốc axit amin bất kỳ”. Tương tự, cần hiểu cụ thể rằng cách viết “ $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$ ,  $X_5$ ,  $X_6$ ,  $X_7$  có thể là gốc axit amin bất kỳ” là tương đương với “mỗi gốc trong số  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$ ,  $X_5$ ,  $X_6$  và  $X_7$  có thể là gốc axit amin bất kỳ”, “ $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$ ,  $X_6$ ,  $X_7$  có thể là gốc axit amin bất kỳ” là tương đương với “mỗi gốc trong số  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$ ,  $X_6$  và  $X_7$  có thể là gốc axit amin bất kỳ”, và “ $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$ ,  $X_5$ ,  $X_7$ ,  $X_8$  có thể là gốc axit amin bất kỳ” là tương đương với “mỗi gốc trong số  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$ ,  $X_5$ ,  $X_7$  và  $X_8$  có thể là gốc axit amin bất kỳ”.

Có lợi là cải biến trong tín hiệu lưu của của protein gai thành

$X_1X_2X_3FX_4KX_5X_6X_7X_8$  (SEQ ID NO:6) dẫn đến sự định vị protein gai trong màng sinh chất.

Hơn nữa, các cải biến này cải thiện phương pháp sản xuất vắc xin PEDV. Đặc biệt là độ ổn định của vector tái tổ hợp và ngoài ra có thể cho phép vector tái tổ hợp phát triển với hiệu giá cao hơn trong dòng tế bào sản xuất nhờ ngăn được hoạt tính sinh học của protein gai của PEDV thông qua các đột biến được mô tả.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn (PEDV) chứa trình tự axit amin

$X_1X_2X_3FX_4KX_5X_6X_7X_8$  (SEQ ID NO:6),

trong đó  $X_8$  là gốc axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV hoặc gốc axit amin ở vị trí số -2 so với vị trí axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV,

$X_2$  đến  $X_5$ ,  $X_7$  và  $X_8$  có thể là gốc axit amin bất kỳ, và trong đó

- (i)  $X_1$  là gốc axit amin không phải là gốc tyrosin và  $X_6$  là gốc histidin, hoặc
- (ii)  $X_1$  là gốc tyrosin và  $X_6$  là gốc axit amin không phải là gốc histidin, hoặc
- (iii)  $X_1$  là gốc axit amin không phải là gốc tyrosin và  $X_6$  là gốc axit amin không phải là gốc histidin,

và trong đó  $X_7$  tốt hơn là

- gốc axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV nếu protein S của PEDV này là protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV, hoặc

- gốc axit amin ở vị trí -2 so với vị trí axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV nếu protein S của PEDV này là protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phân tử axit nucleic theo sáng chế, protein S của PEDV này còn chứa:

- (a) trình tự axit amin  $X_1X_2X_3FX_4KX_5HX_6X_7$  (SEQ ID NO:26), trong đó  $X_7$  là gốc axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV hoặc gốc axit amin ở vị trí -2 so với vị trí axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV,  $X_1$  là gốc axit amin không phải là gốc tyrosin và  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$ ,  $X_5$ ,  $X_6$ ,  $X_7$  có thể là gốc axit amin bất kỳ,

và trong đó X<sub>7</sub> tốt hơn là

- gốc axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV nếu protein S của PEDV này là protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV, hoặc

- gốc axit amin ở vị trí -2 so với vị trí axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV nếu protein S của PEDV này là protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV;

hoặc

b) trình tự axit amin YX<sub>1</sub>X<sub>2</sub>FX<sub>3</sub>KX<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub> (SEQ ID NO:27), trong đó X<sub>7</sub> là gốc axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV hoặc gốc axit amin ở vị trí -2 so với vị trí axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV này, X<sub>5</sub> là gốc axit amin không phải là gốc histidin và X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub>, X<sub>4</sub>, X<sub>6</sub>, X<sub>7</sub> có thể là gốc axit amin bất kỳ,

và trong đó X<sub>7</sub> tốt hơn là

- gốc axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV nếu protein S của PEDV này là protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV, hoặc

- gốc axit amin ở vị trí -2 so với vị trí axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV nếu protein S của PEDV này là protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV;

hoặc

c) trình tự axit amin X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>FX<sub>4</sub>KX<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub> (SEQ ID NO:6), trong đó X<sub>8</sub> là gốc axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV hoặc gốc axit amin ở vị trí -2 so với vị trí axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV, X<sub>1</sub> là gốc axit amin không phải là gốc tyrosin và X<sub>6</sub> là gốc axit amin không phải là gốc histidin và X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub>, X<sub>4</sub>, X<sub>5</sub>, X<sub>7</sub>, X<sub>8</sub> có thể là gốc axit amin bất kỳ,

và trong đó X<sub>8</sub> tốt hơn là

- gốc axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV nếu protein S của PEDV này là protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV, hoặc

- gốc axit amin ở vị trí -2 so với vị trí axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV nếu protein S của PEDV này là protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phân tử axit nucleic theo sáng chế, protein S của PEDV này còn chứa:

- a) trình tự axit amin *AXXFXKXHXX-COOH* (SEQ ID NO:28), hoặc
- b) trình tự axit amin *YXXFXKXRXH-COOH* (SEQ ID NO:29), hoặc
- c) trình tự axit amin *AXXFXKXRXH-COOH* (SEQ ID NO:30),

trong đó *X-COOH* là gốc axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV hoặc gốc axit amin ở vị trí -2 so với vị trí axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV này, và X có thể là gốc axit amin bất kỳ,

và trong đó *X-COOH* tốt hơn là

- gốc axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV nếu protein S của PEDV này là protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV, hoặc
- gốc axit amin ở vị trí -2 so với vị trí axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV nếu protein S của PEDV này là protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phân tử axit nucleic theo sáng chế,

(a) trong protein S G2a của PEDV còn có

- gốc tyrosin ở vị trí axit amin số 1377 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc tyrosin, và/hoặc
  - gốc histidin ở vị trí axit amin số 1384 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc histidin,
- hoặc

(b) trong protein S G2b của PEDV còn có

- gốc tyrosin ở vị trí axit amin số 1374 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc tyrosin, và/hoặc
- gốc histidin ở vị trí axit amin số 1381 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc histidin.

Như được xác định trên đây, cách đánh số, như được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế, liên quan đến trình tự của protein S G2a của PEDV có trong tự nhiên và protein S G2b của PEDV kiểu đại, như nêu trong lần lượt SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:39, và SEQ ID NO:3.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phân tử axit nucleic theo sáng chế,

(a) trong protein S G2a của PEDV còn có

- gốc tyrosin ở vị trí axit amin số 1377 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc tyrosin và gốc ở vị trí axit amin số 1384 là gốc histidin, hoặc

- gốc axit amin ở vị trí axit amin số 1377 là gốc tyrosin và gốc histidin ở vị trí axit amin số 1384 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc histidin, hoặc

- gốc tyrosin ở vị trí axit amin số 1377 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc tyrosin và gốc histidin ở vị trí axit amin số 1384 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc histidin,

hoặc

(b) trong protein S G2b của PEDV còn có

- gốc tyrosin ở vị trí axit amin số 1374 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc tyrosin và gốc ở vị trí axit amin số 1381 là gốc histidin, hoặc

- gốc ở vị trí axit amin số 1374 là gốc tyrosin và gốc histidin ở vị trí axit amin số 1381 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc histidin, hoặc

- gốc tyrosin ở vị trí axit amin số 1374 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc tyrosin và gốc histidin ở vị trí axit amin số 1381 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc histidin.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phân tử axit nucleic theo sáng chế,

- gốc axit amin không phải là gốc tyrosin được chọn từ nhóm gồm gốc alanin, gốc glyxin, gốc leuxin, gốc isoleuxin, gốc methionin và gốc valin, và/hoặc

- gốc axit amin không phải là gốc histidin là gốc arginin.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phân tử axit nucleic theo sáng chế,

- gốc axit amin không phải là gốc tyrosin là gốc alanin, và/hoặc
- gốc axit amin không phải là gốc histidin là gốc arginin.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phân tử axit nucleic theo sáng chế cách đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin YXXFXKXH (SEQ ID NO:7) của protein S kiểu gen G của PEDV kiểu đại, trong đó Y và H là các vị trí axit amin 1377 và 1384 trong protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV hoặc Y và H là các vị trí axit amin 1374 và 1381 trong protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phân tử axit nucleic theo sáng chế, phân tử axit nucleic này chứa trình tự mã hóa trình tự axit amin AXXFXKXR (SEQ ID NO:8), trong đó A và R là các vị trí axit amin 1377 và 1384 trong protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV hoặc A và R là các vị trí axit amin 1374 và 1381 trong protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phân tử axit nucleic theo sáng chế protein S của PEDV này:

(i) (a) chứa hoặc bao gồm trình tự axit amin có ít nhất 90%, ít nhất 91%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,1%, ít nhất 99,2%, ít nhất 99,3%, ít nhất 99,4%, ít nhất 99,5%, ít nhất 99,6%, ít nhất 99,7%, ít nhất 99,8%, hoặc ít nhất 99,9% trình tự đồng nhất với trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 40, hoặc

(b) chứa hoặc bao gồm trình tự axit amin có ít nhất 90%, ít nhất 91%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,1%, ít nhất 99,2%, ít nhất 99,3%, ít nhất 99,4%, ít nhất 99,5%, ít nhất 99,6%, ít nhất 99,7%, ít nhất 99,8%, hoặc ít nhất 99,9% trình tự đồng nhất với trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13, 14; và/hoặc

(ii) (a) được mã hóa bởi trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin có ít nhất 90%, ít nhất 91%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,1%, ít nhất 99,2%, ít nhất 99,3%, ít nhất 99,4%, ít nhất 99,5%, ít nhất 99,6%, ít nhất 99,7%, ít nhất 99,8%, hoặc ít nhất 99,9% trình tự đồng nhất với trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 40, hoặc

(b) được mã hóa bởi trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin có ít nhất 90%, ít nhất 91%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,1%, ít nhất 99,2%, ít nhất 99,3%, ít nhất 99,4%, ít nhất 99,5%, ít nhất 99,6%, ít nhất 99,7%, ít nhất 99,8%, hoặc ít nhất 99,9% trình tự đồng nhất với trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13, 14.

Thuật ngữ “đồng nhất” hoặc “đồng nhất về trình tự” đã được biết rõ trong lĩnh vực này và chỉ mối liên quan giữa hai hoặc nhiều trình tự polypeptit hoặc hai hoặc nhiều trình tự polynucleotit, tức là trình tự tham chiếu và trình tự nhất định cần so sánh với trình tự tham chiếu. Mức đồng nhất về trình tự được xác định bằng cách so sánh trình tự nhất định với trình tự tham chiếu sau khi các trình tự này đã được sắp thẳng hàng một cách tối ưu để tạo ra mức độ tương tự cao nhất về trình tự, như được xác định bằng mức độ khớp nhau giữa các chuỗi của các trình tự như vậy. Khi sắp thẳng hàng như vậy, độ đồng nhất về trình tự được xác định ở từng vị trí, chẳng hạn, các trình tự là “đồng nhất” ở một vị trí cụ thể nếu ở vị trí đó, các nucleotit hoặc các gốc axit amin là giống nhau. Tiếp theo, tổng số vị trí đồng nhất như vậy được chia cho tổng số nucleotit hoặc gốc trong trình tự tham chiếu để thu được mức đồng nhất về trình tự tính theo %. Độ đồng nhất về trình tự có thể được tính toán một cách dễ dàng bằng các phương pháp đã biết, bao gồm nhưng không giới hạn ở, các phương pháp được mô tả trong tài liệu: Computational Molecular Biology, Lesk, A. N., ed., Oxford University Press, New York (1988), Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York (1993); Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey (1994); Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinge, G., Academic Press (1987); Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M. Stockton Press, New York (1991); and Carillo, H., and Lipman, D., SIAM J. Applied Math., 48: 1073 (1988), toàn bộ nội dung của các tài liệu này được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn. Các phương pháp được ưu tiên để xác định độ đồng nhất về trình tự được thiết kế để đưa ra mức độ khớp nhau lớn nhất giữa các trình tự được kiểm tra. Các phương pháp để xác định mức đồng nhất về trình tự được mã hóa trong các chương trình máy tính có sẵn, các chương trình này xác định mức đồng nhất trình tự giữa các trình tự nhất định. Các ví dụ về các chương trình như vậy bao gồm, nhưng không giới hạn ở, gói chương trình GCG (Devereux, J., et al.,

Nucleic Acids Research, 12(1): 387 (1984)), BLASTP, BLASTN and FASTA (Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215:403-410 (1990). Chương trình BLASTX có sẵn của NCBI và các nguồn khác (BLAST Manual, Altschul, S. et al., NCVI NLM NIH Bethesda, MD 20894, Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215:403-410 (1990), phần hướng dẫn của chúng được kết hợp vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn). Các chương trình này sắp thẳng hàng một cách tối ưu các trình tự bằng cách sử dụng trọng số khoảng trống mặc định để tạo ra mức độ đồng nhất cao nhất về trình tự giữa trình tự tham chiếu và trình tự định sẵn. Để minh họa, với polynucleotit có trình tự nucleotit có “mức đồng nhất về trình tự” ít nhất là, chẳng hạn, 85%, tốt hơn là 90%, còn tốt hơn nữa là 95% với trình tự nucleotit tham chiếu, dự định rằng trình tự nucleotit của polynucleotit đã định là giống với trình tự tham chiếu trừ việc trình tự polynucleotit đã định có thể bao gồm không quá 15, tốt hơn là không quá 10, thậm chí tốt hơn nữa là không quá 5 đột biến điểm trên 100 nucleotit của trình tự nucleotit tham chiếu. Nói cách khác, trong polynucleotit có trình tự nucleotit có mức đồng nhất về trình tự ít nhất là 85%, tốt hơn là 90%, còn tốt hơn nữa là 95% so với trình tự nucleotit tham chiếu, không quá 15%, tốt hơn là 10%, còn tốt hơn nữa là 5% số nucleotit trong trình tự tham chiếu có thể được xóa bỏ hoặc thay thế bằng nucleotit khác hoặc số nucleotit không quá 15%, tốt hơn là 10%, còn tốt hơn nữa là 5% tổng số nucleotit trong trình tự tham chiếu có thể được chèn vào trình tự tham chiếu. Các đột biến như vậy đối với trình tự tham chiếu có thể xảy ra ở các vị trí đầu tận cùng 5' hoặc 3' của trình tự nucleotit tham chiếu hoặc ở bất kỳ vị trí nào giữa các vị trí đầu tận cùng đó, được đặt rải rác vào theo cách riêng rẽ giữa các nucleotit trong trình tự tham chiếu hoặc trong một hoặc nhiều nhóm liên kế thuộc trình tự tham chiếu này. Tương tự, với polypeptit có trình tự axit amin định trước có mức đồng nhất về trình tự ít nhất là, ví dụ 85%, tốt hơn là 90%, còn tốt hơn nữa là 95% so với trình tự axit amin tham chiếu, dự định rằng trình tự axit amin đã định của polypeptit là giống với trình tự tham chiếu, trừ việc trình tự polypeptit định trước có thể bao gồm không quá 15, tốt hơn là không quá 10, còn tốt hơn nữa là không quá 5 thay đổi axit amin trên 100 axit amin của trình tự axit amin tham chiếu. Nói cách khác, để thu được trình tự polypeptit định trước có mức đồng nhất về trình tự ít nhất là 85%, tốt hơn là 90%, còn tốt hơn nữa là 95% so với trình tự axit amin tham chiếu, thì không quá 15%, tốt hơn là không quá 10%, còn tốt hơn nữa là không quá 5% gốc axit amin trong trình tự tham chiếu có thể được loại bỏ hoặc thay thế bằng một axit amin khác, hoặc số axit

amin không quá 15%, tốt hơn là không quá 10%, còn tốt hơn nữa là không quá 5% tổng số gốc axit amin trong trình tự tham chiếu có thể được chèn vào trình tự tham chiếu. Những thay đổi như vậy đối với trình tự tham chiếu có thể xảy ra ở các vị trí đầu tận cùng amino hoặc carboxy của trình tự axit amin tham chiếu hoặc ở vị trí bất kỳ giữa các vị trí đầu tận cùng đó, được đặt rải rác vào theo cách riêng rẽ giữa các gốc trong trình tự tham chiếu hoặc trong một hoặc nhiều nhóm liên kề thuộc trình tự tham chiếu này. Tốt hơn là, các vị trí gốc mà không giống nhau sẽ khác nhau bởi các phép thế axit amin bảo toàn. Tuy nhiên, các phép thế bảo toàn không được tính là khớp khi xác định mức độ đồng nhất về trình tự.

Các thuật ngữ “độ đồng nhất”, “mức độ đồng nhất về trình tự” và “tỷ lệ phần trăm đồng nhất” được sử dụng thay đổi cho nhau trong bản mô tả. Vì mục đích của sáng chế, đã xác định nghĩa rằng, để xác định tỷ lệ % đồng nhất của hai trình tự axit amin hoặc hai trình tự axit nucleic, các trình tự này được sắp thẳng hàng nhằm mục đích so sánh tối ưu (ví dụ, các khoảng trống có thể được đưa vào trong trình tự của axit amin hoặc axit nucleic thứ nhất để sắp thẳng hàng tối ưu với trình tự axit amin hoặc axit nucleic thứ hai). Tiếp theo, các gốc axit amin hoặc nucleotit tại các vị trí axit amin hoặc nucleotit tương ứng được so sánh. Nếu một vị trí trong trình tự thứ nhất được chiếm chỗ bởi cùng gốc axit amin hoặc nucleotit so với vị trí tương ứng trong trình tự thứ hai, thì các phân tử này là giống nhau tại vị trí đó. Tỷ lệ phần trăm đồng nhất giữa hai trình tự là hàm của số vị trí giống nhau giữa các trình tự (tức là, % đồng nhất = số vị trí giống nhau/tổng số vị trí (tức là các vị trí gộp nhau) x 100). Tốt hơn, nếu hai trình tự có cùng độ dài.

Việc so sánh trình tự có thể được thực hiện trên toàn bộ chiều dài của hai trình tự được so sánh hoặc trên đoạn của hai trình tự này. Thông thường, việc so sánh được thực hiện trên toàn bộ chiều dài của hai trình tự được so sánh. Tuy nhiên, độ đồng nhất về trình tự có thể được thực hiện trên một vùng gồm, ví dụ, 20, 50, 100 hoặc nhiều gốc axit amin liên kề nhau hơn.

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ hiểu rõ thực tế là có các chương trình máy tính khác nhau để xác định mức độ đồng nhất giữa hai trình tự. Ví dụ, việc so sánh các trình tự và xác định tỷ lệ % đồng nhất giữa hai trình tự có thể được thực hiện bằng cách sử dụng thuật toán toán học. Theo một phương án ưu tiên, tỷ lệ % đồng nhất giữa hai trình tự axit amin hoặc axit nucleic được xác định bằng cách sử dụng thuật toán của tác giả Needleman và Wunsch (J. Mol. Biol. (48): 444-453 (1970)), thuật toán này

đã được kết hợp vào chương trình GAP trong gói phần mềm Accelrys GCG (có sẵn tại địa chỉ <http://www.accelrys.com/products/gcg/>), sử dụng ma trận Blosum 62 hoặc ma trận PAM250 và trọng số khoảng trống là 16, 14, 12, 10, 8, 6, hoặc 4 và trọng số chiều dài là 1, 2, 3, 4, 5, hoặc 6. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ thấy được rằng tất cả những thông số khác nhau này sẽ tạo ra kết quả khác nhau chút ít nhưng tỷ lệ % đồng nhất chung của hai trình tự không thay đổi đáng kể khi sử dụng các thuật toán khác nhau.

Các trình tự protein hoặc các trình tự axit nucleic theo sáng chế còn có thể được sử dụng làm "trình tự truy vấn" để thực hiện tra cứu đối với các cơ sở dữ liệu công khai, ví dụ, để nhận diện các thành viên khác của họ hoặc các trình tự liên quan. Việc tra cứu như vậy có thể được thực hiện nhờ sử dụng các chương trình BLASTN và BLASTP (version 2,0) của tác giả Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10. Việc tra cứu protein qua BLAST có thể được thực hiện bằng chương trình BLASTP, điểm ghi = 50, độ dài từ = 3 để thu được các trình tự axit amin đồng nhất với các phân tử protein theo sáng chế. Để thu được sự sắp xếp thẳng hàng có khoảng trống nhằm mục đích so sánh, chương trình Gapped BLAST có thể được sử dụng như được mô tả trong tài liệu của tác giả Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25(17): 3389-3402. Khi sử dụng các chương trình BLAST và Gapped BLAST, các thông số mặc định của các chương trình tương ứng (ví dụ, BLASTP và BLASTN) có thể được sử dụng. Xem trang chủ của Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia tại trang web <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, cần hiểu cụ thể rằng thuật ngữ "đồng nhất với trình tự SEQ ID NO:Y" là tương đương với thuật ngữ "đồng nhất với trình tự SEQ ID NO:Y trên chiều dài của SEQ ID NO:Y" hoặc thuật ngữ "đồng nhất với trình tự SEQ ID NO:Y trên toàn bộ chiều dài của SEQ ID NO:Y". Trong ngữ cảnh này, "Y" trong cảnh này là số nguyên bất kỳ được chọn từ 1 đến 40 sao cho "SEQ ID NO:Y" là trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO được đề cập ở đây.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phân tử axit nucleic theo sáng chế, protein S của PEDV

- (a) chứa trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 40, hoặc

(b) chứa trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13, 14.

Theo một ví dụ minh họa và không giới hạn, phân tử axit nucleic theo sáng chế chứa trình tự nucleotit được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37 và SEQ ID NO:38.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất protein (S) của PEDV được mã hóa bởi phân tử axit nucleic như được mô tả ở đây.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phân tử axit nucleic hoặc protein S của PEDV theo sáng chế, phân tử axit nucleic mã hóa protein S của PEDV hoặc protein S của PEDV là tái tổ hợp.

Thuật ngữ “tái tổ hợp” như được sử dụng trong bản mô tả đề cập đến polynucleotit (bao gồm phân tử ADN, phân tử ARN, phân tử cADN hoặc các dẫn xuất) hoặc polypeptit (hoặc protein) có các cải biến bất kỳ mà không xảy ra trong tự nhiên ở polynucleotit hoặc polypeptit tương ứng. Chẳng hạn, polynucleotit hoặc polypeptit được xem là “tái tổ hợp” nếu nó chứa đoạn chèn, loại bỏ, đảo ngược, chuyển vị hoặc đột biến điểm được đưa vào theo cách nhân tạo, ví dụ bằng sự can thiệp của con người. Do đó, polynucleotit hoặc polypeptit này không kết hợp với toàn bộ hoặc một phần trình tự (polynucleotit hoặc polypeptit) mà nó kết hợp trong tự nhiên. Thuật ngữ “tái tổ hợp” khi được sử dụng liên quan đến virus, có nghĩa là virus được tạo ra bằng thao tác nhân tạo trên hệ gen virus. Thuật ngữ "virus tái tổ hợp" bao hàm các virus biến đổi gen.

Tốt hơn, protein theo sáng chế là protein không có trong tự nhiên.

Tốt hơn, protein này là polypeptit phân lập.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất polynucleotit chứa phân tử axit nucleic như được mô tả ở đây.

Việc sản xuất phân tử axit nucleic và polynucleotit được mô tả ở đây là trong khả năng của người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này và có thể được thực hiện bằng các kỹ thuật tái tổ hợp được mô tả trong tài liệu Sam brook et al., 2001, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Amusable, et al., 2003, Current Protocols In Molecular Biology, Greene Publishing Associates & Wiley Interscience, NY; Innis et al. (eds), 1995, PCR

Strategies, Academic Press, Inc., San Diego; và Erlich (ed), 1994, PCR Technology, Oxford University Press, New York, ngoài những tài liệu khác, tất cả các tài liệu này được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất vectơ chứa phân tử axit nucleic như được mô tả ở đây hoặc polynucleotit như được mô tả ở đây.

Thuật ngữ “vectơ” như được biết đến trong lĩnh vực này chỉ cấu trúc polynucleotit, thường là plasmit hoặc nhiễm sắc thể nhân tạo của vi khuẩn, được sử dụng để truyền vật liệu di truyền vào tế bào chủ. Vectơ có thể là, ví dụ, vi khuẩn, virus, thể thực khuẩn, nhiễm sắc thể nhân tạo của vi khuẩn, cosmit, hoặc plasmit. Vectơ như được sử dụng trong bản mô tả này có thể bao gồm hoặc chứa ADN hoặc ARN. Theo một số phương án, vectơ bao gồm ADN. Theo một số phương án vectơ là virus gây nhiễm. Vectơ virus như vậy chứa hệ gen virus mà được thao tác theo cách nó mang gen ngoại lai mà không có chức năng trong quá trình sao chép của vectơ virus trong tế bào nuôi cấy cũng như trong động vật chủ. Theo các khía cạnh cụ thể của phần mô tả vectơ có thể được sử dụng cho các khía cạnh khác nhau như đơn thuần chuyển vật liệu di truyền, để chuyển nhiễm tế bào hoặc sinh vật chủ, để sử dụng làm vaccin, ví dụ vaccin ADN hoặc nhằm mục đích biểu hiện gen. Biểu hiện gen là thuật ngữ mô tả quá trình sinh tổng hợp protein trong tế bào khi được điều khiển bằng trình tự polynucleotit đặc thù được gọi là gen. Theo một khía cạnh cụ thể vectơ có thể là “vectơ biểu hiện”, là vectơ có khả năng điều khiển sự biểu hiện của protein được mã hóa bởi một hoặc nhiều gen được mang bởi vectơ khi nó có mặt trong môi trường thích hợp.

Vectơ và phương pháp để tạo ra và/hoặc sử dụng vectơ (hoặc thể tái tổ hợp) để biểu hiện có thể là hoặc tương tự như các phương pháp được bộc lộ trong: Patent Mỹ số 4,603,112, 4,769,330, 5,174,993, 5,505,941, 5,338,683, 5,494,807, 4,722,848, 5,942,235, 5,364,773, 5,762,938, 5,770,212, 5,942,235, 382,425, công bố đơn quốc tế PCT số WO 94/16716, WO 96/39491, WO 95/30018; Paoletti, "Applications of pox virus vectors to vaccination: An update," PNAS USA 93: 11349-11353, October 1996; Moss, "Genetically engineered poxviruses for recombinant gene expression, vaccination, and safety," PNAS USA 93: 11341-11348, October 1996; Smith et al., patent Mỹ số 4,745,051 (baculovirus tái tổ hợp); Richardson, C. D. (Editor), Methods in Molecular Biology 39, "Baculovirus Expression Protocols" (1995 Humana Press Inc.); Smith et al., "Production of Human Beta Interferon in Insect Cells Infected with a

Baculovirus Expression Vector", *Molecular and Cellular Biology*, December, 1983, Vol. 3, No. 12, p. 2156-2165; Pennock et al., "Strong và Regulated Expression of Escherichia coli B-Galactosidase in Infect Cells with a Baculovirus vector, " *Molecular và Cellular Biology* March 1984, Vol. 4, No. 3, p. 406; EPA0 370 573; U.S. application No. 920,197, filed Oct. 16, 1986; EP Patent publication No. 265785; patent Mỹ số 4,769,331 (herpesvirut tái tổ hợp); Roizman, "The function of herpes simplex virus genes: A primer for genetic engineering of novel vectors," *PNAS USA* 93:11307-11312, October 1996; Andreansky et al., "The application of genetically engineered herpes simplex viruses to the treatment of experimental brain tumors," *PNAS USA* 93: 11313-11318, October 1996; Robertson et al., "Epstein-Barr virus vectors for gene delivery to B lymphocytes", *PNAS USA* 93: 11334-11340, October 1996; Frolov et al., "Alphavirus-based expression vectors: Strategies and applications," *PNAS USA* 93: 11371-11377, October 1996; Kitson et al., *J. Virol.* 65, 3068-3075, 1991; patent Mỹ số 5,591,439, 5,552,143; WO 98/00166; loạt đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 08/675,556, và 08/675,566 cả hai nộp ngày 03/07/1996 (adenovirut tái tổ hợp); Grunhaus et al., 1992, "Adenovirus as cloning vectors," *Seminars in Virology* (Vol. 3) p. 237-52, 1993; Ballay et al. *EMBO Journal*, vol. 4, p. 3861-65, Graham, *Tibtech* 8, 85-87, April, 1990; Prevec et al., *J. Gen Virol.* 70, 42434; PCT WO 91/11525; Felgner et al. (1994), *J. Biol. Chem.* 269, 2550-2561, *Science*, 259: 1745-49, 1993; và McClements et al., "Immunization with DNA vaccines encoding glycoprotein D or glycoprotein B, alone or in combination, induces protective immunity in animal models of herpes simplex virus-2 disease", *PNAS USA* 93: 11414-11420, October 1996; và patent Mỹ số 5,591,639, 5,589,466, và 5,580,859, cũng như WO 90/11092, WO93/19183, WO94/21797, WO95/11307, WO95/20660; Tang et al., *Nature*, và Furth et al., *Analytical Biochemistry*, liên quan đến các vector biểu hiện ADN, trong số các tài liệu khác. Cũng xem trong tài liệu WO 98/33510; Ju et al., *Diabetologia*, 41: 736-739, 1998 (hệ biểu hiện lentivirut); Sanford et al., patent Mỹ số 4,945,050; Fischbach et al. (Intracel); WO 90/01543; Robinson et al., *Seminars in Immunology* vol. 9, pp. 271-283 (1997), (hệ vector ADN); Szoka et al., patent Mỹ số 4,394,448 (phương pháp chèn ADN vào tế bào sống); McCormick et al., patent Mỹ số 5,677,178 (sử dụng các virut gây bệnh tế bào); và patent Mỹ số 5,928,913 (vector để phân phối gen); cũng như các tài liệu khác viện dẫn ở đây.

Tốt hơn, vector là vector virus.

Thuật ngữ “vector virus” mô tả virus biến đổi gen mà được thao tác bằng kỹ thuật ADN tái tổ hợp theo cách sao cho sự xâm nhập của nó vào tế bào chủ dẫn đến các hoạt tính sinh học cụ thể, ví dụ sự biểu hiện gen chuyển được mang bởi vector này. Theo một khía cạnh cụ thể gen chuyển là kháng nguyên. Vector virus có thể có khả năng sao chép trong tế bào, mô hoặc sinh vật đích hoặc không. Cần hiểu cụ thể rằng thuật ngữ “vector dạng virus”, như được sử dụng trong bản mô tả này, tương đương với thuật ngữ “vector virus”.

Việc tạo ra vector virus có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các kỹ thuật công nghệ di truyền thích hợp bất kỳ đã biết rõ trong lĩnh vực này, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các kỹ thuật chuẩn về phân giải endonucleaza giới hạn, lai ghép, biến nạp, tinh chế plasmit, giải trình tự ADN, chuyển nhiễm tế bào nuôi cấy, ví dụ như được mô tả trong Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y. (1989)) hoặc K. Maramorosch and H. Koprowski (Methods in Virology Volume VIII, Academic Press Inc. London, UK (2014)).

Vector virus có thể kết hợp các trình tự từ hệ gen của sinh vật đã biết bất kỳ. Các trình tự này có thể được kết hợp ở dạng tự nhiên của chúng hoặc có thể được cải biến theo cách bất kỳ để thu được hoạt tính mong muốn. Ví dụ, các trình tự này có thể bao gồm các đoạn chèn, xóa bỏ hoặc thay thế.

Theo khía cạnh cụ thể về vector theo sáng chế, vector này là virus CDV (Canine Distemper Virus - virus gây bệnh sởi sốt ở chó), EHV (Equine Herpes Virus - virus Herpes ở ngựa) hoặc ORF (virus gây bệnh hồng ban đa dạng), PRV (virus gây bệnh giả dại), CAV (adenovirus ở chó), PCMV (cytomegalovirus ở lợn) hoặc BoHV-4 (herpesvirus-4 ở bò).

Theo khía cạnh cụ thể về vector theo sáng chế, vector này là CDV hoặc EHV.

Ngoài ra, sáng chế cũng đề xuất chế phẩm sinh miễn dịch chứa phân tử axit nucleic mã hóa protein S của PEDV như được mô tả ở đây và/hoặc protein S của PEDV như được mô tả ở đây và/hoặc vector như được mô tả ở đây.

Thuật ngữ "chế phẩm sinh miễn dịch" dùng để chỉ chế phẩm chứa ít nhất là một kháng nguyên, mà gây ra đáp ứng miễn dịch ở vật chủ mà được cho dùng chế phẩm sinh

miễn dịch này. Đáp ứng miễn dịch như vậy có thể là đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào và/hoặc kháng thể đối với chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế. Tốt hơn là, chế phẩm sinh miễn dịch gây ra đáp ứng miễn dịch và, tốt hơn nữa là, cung cấp khả năng miễn dịch bảo vệ chống lại một hoặc nhiều triệu chứng lâm sàng của bệnh nhiễm PEDV. Vật chủ còn được mô tả là “đối tượng”. Tốt hơn là, bất kỳ vật chủ hoặc đối tượng nào được mô tả hoặc đề cập đến ở đây là lợn con, lợn hoặc lợn nái.

Thông thường, “đáp ứng miễn dịch” bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở một hoặc nhiều tác dụng sau đây: sản sinh hoặc hoạt hóa kháng thể, tế bào B, tế bào T hỗ trợ, tế bào T ức chế, và/hoặc tế bào T độc tế bào và/hoặc tế bào T gama-delta, cụ thể được định hướng đến một kháng nguyên hoặc các kháng nguyên được chứa trong chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế. Tốt hơn là, vật chủ sẽ thể hiện đáp ứng miễn dịch bảo vệ hoặc đáp ứng trị liệu.

“Đáp ứng miễn dịch bảo vệ” hoặc “miễn dịch bảo vệ” sẽ được chứng tỏ bởi sự giảm hoặc không có triệu chứng lâm sàng thường được biểu hiện bởi vật chủ bị nhiễm, thời gian hồi phục nhanh hơn và/hoặc khoảng thời gian lây nhiễm giảm hoặc chuẩn độ mầm bệnh giảm trong các mô hoặc dịch thể hoặc chất bài tiết của vật chủ bị nhiễm.

Trong trường hợp mà vật chủ biểu hiện đáp ứng miễn dịch bảo vệ sao cho tính kháng đối với sự nhiễm mới được tăng cường và/hoặc mức độ nghiêm trọng về mặt lâm sàng của bệnh giảm, chế phẩm sinh miễn dịch được mô tả như là “vacxin”.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch còn chứa chất mang được dụng.

Thuật ngữ "chất mang được dụng" bao gồm bất kỳ và toàn bộ các dung môi, môi trường phân tán, chất bao, chất làm ổn định, chất pha loãng, chất bảo quản, chất kháng khuẩn và chất kháng nấm, chất đẳng trương, chất làm chậm quá trình hấp phụ, tá dược, chất kích thích miễn dịch, và tổ hợp của chúng.

“Chất pha loãng” có thể bao gồm nước, nước muối, dextroza, etanol, glyxerol và các chất tương tự. Chất đẳng trương có thể bao gồm natri clorua, dextroza, manitol, sorbitol và lactoza, trong số các chất khác. Chất làm ổn định bao gồm albumin và các muối kiềm của axit etylendiamintetraxetic, trong số các chất khác.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chất mang được dụng là dung dịch muối đậm

phosphat.

Tốt hơn là, chế phẩm sinh miễn dịch còn chứa chất ổn định sucroza gelatin.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chất mang được dụng là chitosan.

Chitosan là polysacarit đã được khử axetyl tự nhiên từ chitin của loài giáp xác (chẳng hạn tôm, cua), côn trùng, và các động vật không xương sống khác. Gần đây, Rauw et al. 2009 (Vet Immunol Immunop 134:249–258) đã chứng minh rằng chitosan làm gia tăng đáp ứng miễn dịch tế bào của vacxin sống phòng bệnh Newcastle và thúc đẩy tác dụng bảo vệ của nó. Ngoài ra, Wang et al., 2012 (Arch Virol (2012) 157:1451–1461) đã đưa ra các kết quả cho thấy tiềm năng của chitosan để làm tá được để dùng trong vacxin cúm sống được giảm độc.

Tốt hơn là, chế phẩm sinh miễn dịch này có thể còn bao gồm một hoặc nhiều chất điều biến miễn dịch khác như, chẳng hạn interleukin, interferon, hoặc các xytokin khác. Lượng và nồng độ của tá chất và các chất phụ trợ hữu dụng trong ngữ cảnh của sáng chế có thể dễ dàng được xác định bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Theo một số khía cạnh, chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế chứa tá được. “Tá được” như được sử dụng ở đây, có thể bao gồm nhôm hydroxit và nhôm phosphat, saponin, chẳng hạn Quil A, QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge MA), GPI-0100 (Galenica Pharmaceuticals, Inc., Birmingham, AL), nhũ tương nước trong dầu, nhũ tương dầu trong nước, nhũ tương nước trong dầu trong nước. Nhũ tương cụ thể có thể dựa trên dầu parafin lỏng nhẹ (loại được điển châu Âu); dầu isoprenoit như squalan hoặc squalen; dầu thu được bằng cách oligome hóa các alken, cụ thể là của isobuten hoặc dexten; các este của axit hoặc của rượu chứa nhóm alkyl mạch thẳng, cụ thể hơn là dầu thực vật, etyl oleat, propylen glycol di-(caprylat/caprat), glyxeryl tri-(caprylat/caprat) hoặc propylen glycol dioleat; các este của axit béo hoặc rượu mạch nhánh, cụ thể là các este của axit isostearic. Dầu được sử dụng kết hợp với các chất nhũ hóa để tạo ra nhũ tương. Chất nhũ hóa tốt hơn là chất hoạt động bề mặt không ion, cụ thể là este của sorbitan, este của manit (chẳng hạn anhydromanitol oleat), este của glycol, este của polyglyxerol, este của propylen glycol và este của axit oleic, axit isostearic, axit rixinoleic hoặc axit hydroxystearic, tùy ý được etoxy hóa, và các copolyme khối polyoxypropylen-polyoxyetylen, cụ thể là các sản phẩm Pluronic, đặc biệt là L121. Xem Hunter et al., The Theory and Practical Application of Adjuvants (Ed. Stewart-Tull, D.

E. S.), John Wiley and Sons, NY, pp51-94 (1995) và Todd et al., Vaccine 15:564-570 (1997). Tá được nêu làm ví dụ là nhũ tương SPT được mô tả ở trang 147 trong tài liệu "Vaccine Design, The Subunit and Adjuvant Approach" được biên tập bởi M. Powell và M. Newman, Plenum Press, 1995, và nhũ tương MF59 được mô tả ở trang 183 của cùng tài liệu này.

Một ví dụ nữa về tá chất là hợp chất được chọn từ các polyme của axit acrylic hoặc axit metacrylic và các copolyme của anhydrit maleic và dẫn xuất alkenyl. Các hợp chất tá được có lợi là các polyme của axit acrylic hoặc axit metacrylic mà được liên kết ngang, đặc biệt là với các polyalkenyl ete của đường hoặc rượu đa chức. Các hợp chất này được biết đến bằng thuật ngữ carbome (Pharmeuropa Vol. 8, No. 2, June 1996). Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này cũng có thể tham khảo patent Mỹ số 2,909,462 mô tả các polyme acrylic như vậy được liên kết ngang với hợp chất được polyhydroxyl hóa có ít nhất là 3 nhóm hydroxyl, tốt hơn là không nhiều hơn 8, các nguyên tử hydro của ít nhất ba nhóm hydroxyl được thay bằng các gốc béo không bão hòa có ít nhất là 2 nguyên tử cacbon. Các gốc được ưu tiên là các gốc chứa từ 2 đến 4 nguyên tử cacbon, ví dụ vinyl, alyl và các nhóm không bão hòa về mặt etylen khác. Bản thân các gốc chưa bão hòa có thể chứa các phần tử thể khác, ví dụ như metyl. Các sản phẩm được bán dưới tên Carbopol; (BF Goodrich, Ohio, USA) là đặc biệt thích hợp. Chúng được liên kết ngang với alyl sucroza hoặc với alyl pentaerythritol. Trong số chúng, có thể kể đến Carbopol 974P, 934P và 971P. Việc sử dụng Carbopol 971P được ưu tiên nhất. Trong số các copolyme của anhydrit maleic và dẫn xuất alkenyl có các copolyme EMA (Monsanto), là copolyme của anhydrit maleic và etylen. Việc hòa tan các polyme này trong nước tạo ra dung dịch axit mà sẽ được trung hòa, tốt hơn là đến độ pH sinh lý, để tạo ra dung dịch tá được mà bản thân chế phẩm sinh miễn dịch, chế phẩm miễn dịch hoặc chế phẩm vaccin sẽ được kết hợp vào trong đó.

Các tá được thích hợp khác bao gồm, nhưng không giới hạn ở, hệ tá được RIBI (Ribi Inc.), co-polyme khối (CytRx, Atlanta GA), SAF-M (Chiron, Emeryville CA), monophosphoryl lipit A, tá được Avridine lipit-amin, độc tố đường ruột từ E. coli dễ bị phân hủy bởi nhiệt (dạng tái tổ hợp hoặc dạng khác), độc tố gây bệnh tả, IMS 1314, hoặc muramyl dipeptit, hoặc các xytokin có trong tự nhiên hoặc tái tổ hợp hoặc các chất tương tự của chúng hoặc các chất kích thích giải phóng xytokin nội sinh, trong số nhiều tá được khác.

Dự tính là tá dược có thể được bổ sung với lượng từ khoảng từ 100 $\mu$ g đến khoảng 10mg mỗi liều, tốt hơn là với lượng từ khoảng 100 $\mu$ g đến khoảng 10mg mỗi liều, tốt hơn nữa là với lượng từ khoảng 500 $\mu$ g đến khoảng 5mg mỗi liều, còn tốt hơn nữa là với lượng từ khoảng 750 $\mu$ g đến khoảng 2,5mg mỗi liều và tốt nhất là với lượng khoảng 1mg mỗi liều. Theo cách khác, tá dược có thể có mặt ở nồng độ khoảng 0,01 đến 50%, tốt hơn ở nồng độ khoảng 2% đến 30%, tốt hơn nữa ở nồng độ khoảng 5% đến 25%, còn tốt hơn nữa là ở nồng độ khoảng 7% đến 22% và tốt nhất là ở nồng độ khoảng 10% đến 20% theo thể tích của sản phẩm cuối.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch này là vaccin. Thuật ngữ “vaccin” đã được mô tả trên đây. Tuy nhiên, trong trường hợp mà vật chủ biểu hiện đáp ứng miễn dịch bảo vệ sao cho tính kháng đối với sự nhiễm mới được gia tăng và/hoặc mức độ nghiêm trọng về mặt lâm sàng của bệnh giảm, chế phẩm sinh miễn dịch này được mô tả như là vaccin.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất tế bào chứa phân tử axit nucleic như được mô tả ở đây, polynucleotit như được mô tả ở đây hoặc vector như được mô tả ở đây.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất phân tử axit nucleic mã hóa protein S của PEDV như được mô tả ở đây và/hoặc protein S của PEDV như được mô tả ở đây, bao gồm bước chuyển nhiễm tế bào bằng vector như được mô tả ở đây.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế chế phẩm sinh miễn dịch để điều trị và/hoặc điều trị dự phòng nhiễm PEDV cho đối tượng bao gồm bước:

- a.) nhiễm tế bào bằng vector như được mô tả ở đây;
- b.) thu vector này; và
- c.) bổ sung chất mang dược dụng.

Thuật ngữ “thu được” bao gồm thu hoạch, phân lập, tinh chế và/hoặc bào chế (tức là hoàn thiện, bất hoạt và/hoặc trộn) kháng nguyên.

Thuật ngữ “thu hoạch” chỉ việc thu gom hoặc thu hồi vector từ tế bào hoặc dòng tế bào đã chuyển nhiễm. Phương pháp thông thường bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này có thể được sử dụng để thu hồi vector, ví dụ phương pháp tách bất kỳ. Các phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực này bao gồm ly tâm hoặc lọc, như sử dụng màng bán thấm có cỡ lỗ nhất định.

Thuật ngữ “phân lập” bao gồm bước phân lập vector. Phương pháp phân lập vector từ tế bào hoặc dòng tế bào đã nhiễm là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này. Các phương pháp đó bao gồm phương pháp vật lý và/hoặc hóa học, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở các chu kỳ lạnh đông-rã đông, xử lý bằng siêu âm và tương tự.

Các phương pháp “tinh chế” vector từ thể phân lập đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này, ví dụ bằng các phương pháp được mô tả trong tài liệu *Protein purification methods - a practical approach* (E.L.V. Harris and S. Angel, eds., IRL Press at Oxford University Press). Các phương pháp đó bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tách bằng ly tâm và/hoặc lọc, kết tủa, sắc ký loại trừ theo kích thước (lọc gel), sắc ký ái lực, sắc ký chelat kim loại, sắc ký trao đổi ion, sắc ký cộng hóa trị, sắc ký tương tác kỵ nước, và các phương pháp tương tự. Vector có thể thu được ở dạng tinh khiết đã tinh chế, hoặc không chứa hoặc gần như không chứa các vật liệu tế bào khác hoặc môi trường nuôi cấy v.v.. Sau khi phân lập và/hoặc tinh chế, kháng nguyên thể hiện độ tinh khiết ít nhất 80%, tốt hơn là 80%-90%, tốt hơn nữa là 90%-97%, tốt nhất là trên 97% đến tới dạng hoàn toàn tinh khiết không chứa chất tạp nhiễm.

Theo khía cạnh khác, “thu được” như được sử dụng trong bản mô tả cũng có thể bao gồm các bước hoàn thiện tiếp như một phần của quy trình bào chế cuối, như các bước bổ sung đệm, bất hoạt, trung hòa và các bước tương tự.

Tốt hơn, tế bào là từ dòng tế bào sinh vật nhân điển hình.

Theo một khía cạnh cụ thể về phương pháp theo sáng chế, tế bào là tế bào Vero, tế bào ST hoặc tế bào BHK-21, tế bào Ma104, tế bào MDBK, tế bào RK13, tế bào MDCK hoặc tế bào PK15.

Tất cả các dòng tế bào đã nêu đã được người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này biết rõ và có bán trên thị trường. Các tế bào Vero chẳng hạn được lưu trữ tại American Tissue Culture Collection với số truy cập ATCC CCL-81. Các tế bào ST chẳng hạn được lưu trữ tại American Tissue Culture Collection với số truy cập CRL-1746. Các tế bào BHK-21 chẳng hạn được lưu trữ tại American Tissue Culture Collection với số truy cập ATCC CCL-10. Các tế bào MDCK chẳng hạn được lưu trữ tại American Tissue Culture Collection với số truy cập ATCC CCL-34 hoặc ATCC CRL-2285.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về chế phẩm sinh miễn dịch hoặc phương pháp theo sáng chế, chất mang được dụng được chọn từ nhóm bao gồm dung môi, môi trường phân tán, lớp phủ, chất làm ổn định, chất pha loãng, chất bảo quản, chất kháng vi khuẩn và kháng nấm, chất làm đẳng trương, chất làm chậm sự hấp thu, tá dược, chất kích thích miễn dịch, và tổ hợp của chúng.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất phương pháp gây miễn dịch cho đối tượng bao gồm việc cho đối tượng này dùng chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây.

Có lợi là, chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế đã chứng tỏ là an toàn và hiệu quả.

Thuật ngữ "gây miễn dịch" đề cập đến việc gây miễn dịch chủ động bằng cách sử dụng chế phẩm sinh miễn dịch cho đối tượng cần được gây miễn dịch, bằng cách đó gây ra đáp ứng miễn dịch chống lại kháng nguyên có trong chế phẩm sinh miễn dịch này.

Tốt hơn, việc gây miễn dịch dẫn đến làm giảm tỷ lệ nhiễm PEDV cụ thể trong đàn hoặc dẫn đến làm giảm mức độ nghiêm trọng của các dấu hiệu lâm sàng gây ra bởi hoặc có liên quan đến nhiễm PEDV cụ thể.

Ngoài ra, việc gây miễn dịch cho đối tượng có nhu cầu bằng chế phẩm sinh miễn dịch đề cập ở đây, dẫn đến việc ngăn ngừa được sự nhiễm PEDV ở đối tượng. Còn tốt hơn nữa nếu việc gây miễn dịch dẫn đến đáp ứng miễn dịch hiệu quả, kéo dài, chống lại sự nhiễm PEDV. Cần hiểu rằng, khoảng thời gian này sẽ kéo dài trên 1 tháng, tốt hơn là trên 2 tháng, tốt hơn nữa là trên 3 tháng, tốt hơn nữa là trên 4 tháng, tốt hơn nữa là trên 5 tháng, tốt hơn nữa là trên 6 tháng. Cần hiểu rằng, việc gây miễn dịch có thể không hữu hiệu trên tất cả các đối tượng được gây miễn dịch. Tuy nhiên, thuật ngữ này đòi hỏi rằng một phần đáng kể đối tượng của nhóm được gây miễn dịch một cách hữu hiệu.

Tốt hơn, nhóm đối tượng dự định trong bối cảnh này thông thường, tức là nếu không được gây miễn dịch, sẽ phát triển các dấu hiệu lâm sàng thường được gây ra bởi hoặc có liên quan đến nhiễm PEDV. Nhóm đối tượng có được gây miễn dịch một cách hiệu quả hay không có thể được xác định dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này. Tốt hơn, việc gây miễn dịch sẽ có hiệu quả nếu như các dấu hiệu lâm sàng ở ít nhất 33%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 80%, ít nhất 90%, thậm chí tốt hơn nữa ở ít nhất 95% và tốt nhất ở 100% đối tượng của nhóm đã nêu được giảm đi về tỷ lệ mắc phải hoặc mức độ nghiêm trọng ít nhất là 10%, tốt hơn nữa ít nhất là 20%,

thậm chí tốt hơn nữa ít nhất là 30%, thậm chí tốt hơn nữa ít nhất là 40%, thậm chí tốt hơn nữa ít nhất là 50%, thậm chí tốt hơn nữa ít nhất là 60%, thậm chí tốt hơn nữa ít nhất là 70%, thậm chí tốt hơn nữa ít nhất là 80%, thậm chí tốt hơn nữa ít nhất là 90%, thậm chí tốt hơn nữa ít nhất là 95% và tốt nhất là 100% so với đối tượng không được gây miễn dịch hoặc được gây miễn dịch bằng chế phẩm sinh miễn dịch đã có sẵn trước sáng chế nhưng sau đó bị nhiễm PEDV cụ thể.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị và/hoặc ngăn ngừa các dấu hiệu lâm sàng gây ra bởi sự nhiễm PEDV ở đối tượng có nhu cầu, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu trong điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây.

Có lợi là, chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế đã chứng tỏ là làm giảm các triệu chứng lâm sàng do sự nhiễm PEDV gây ra.

Thuật ngữ “điều trị và/hoặc ngăn ngừa” dùng để chỉ sự giảm tỷ lệ mắc phải sự nhiễm PEDV cụ thể trong nhóm hoặc sự giảm mức độ nghiêm trọng của triệu chứng lâm sàng gây ra bởi hoặc có liên quan đến sự nhiễm PEDV cụ thể. Vì vậy, thuật ngữ “điều trị và/hoặc ngăn ngừa” cũng dùng để chỉ sự giảm số đối tượng trong nhóm bị nhiễm PEDV cụ thể (= giảm tỷ lệ mắc phải sự nhiễm PEDV cụ thể) hoặc chỉ sự giảm mức độ nghiêm trọng của các triệu chứng lâm sàng thường có liên quan đến hoặc gây ra bởi sự nhiễm PEDV ở hoặc sự giảm phát tán virus sau khi nhiễm PEDV cụ thể hoặc ngăn ngừa hoặc giảm tiêu chảy sau khi nhiễm PEDV cụ thể trong đối tượng vật mà các đối tượng này đã nhận một lượng hữu hiệu chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả trong bản mô tả này so với nhóm đối tượng mà các đối tượng không nhận chế phẩm sinh miễn dịch này.

“Điều trị và/hoặc ngăn ngừa” thường bao gồm việc sử dụng lượng hữu hiệu chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế cho đối tượng hoặc nhóm gồm các đối tượng cần điều trị hoặc có thể có lợi từ việc điều trị/phòng ngừa này. Thuật ngữ “điều trị” chỉ việc cấp lượng hữu hiệu chế phẩm sinh miễn dịch một lần cho đối tượng hoặc ít nhất một số đối tượng trong nhóm đã bị nhiễm PEDV như vậy và trong đó các đối tượng này đã thể hiện một số triệu chứng lâm sàng gây ra bởi hoặc có liên quan đến sự nhiễm PEDV như vậy. Thuật ngữ “ngăn ngừa” dùng để chỉ việc cấp cho đối tượng trước khi đối tượng này bị nhiễm PEDV hoặc ít nhất khi đối tượng như vậy này hoặc không đối tượng nào trong

nhóm các đối tượng không thể hiện triệu chứng lâm sàng bất kỳ được gây ra bởi hoặc có liên quan đến sự nhiễm PEDV như vậy. Thuật ngữ “phòng ngừa” và “ngăn ngừa” được sử dụng thay đổi cho nhau trong đơn sáng chế này.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu" như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa, nhưng không giới hạn ở lượng kháng nguyên, mà gây ra hoặc có khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch ở đối tượng. Lượng hữu hiệu như vậy có khả năng làm giảm tỷ lệ nhiễm PEDV cụ thể trong nhóm hoặc làm giảm mức độ nghiêm trọng của triệu chứng lâm sàng của việc nhiễm PEDV cụ thể.

Tốt hơn là, triệu chứng lâm sàng được giảm về tỷ lệ mắc phải hoặc mức độ nghiêm trọng ít nhất 10%, tốt hơn nữa là giảm ít nhất 20%, cũng tốt hơn nữa là giảm ít nhất 30%, thậm chí tốt hơn nữa là giảm ít nhất 40%, cũng tốt hơn nữa là ít nhất 50%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 60%, cũng tốt hơn nữa là ít nhất 70%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 80%, cũng tốt hơn nữa là ít nhất 90%, cũng tốt hơn nữa là ít nhất 95% và tốt nhất là giảm 100% so với đối tượng không được điều trị hoặc được điều trị bằng chế phẩm sinh miễn dịch có trước sáng chế nhưng sau đó bị nhiễm bởi PEDV cụ thể.

Thuật ngữ “triệu chứng lâm sàng” như được sử dụng ở đây dùng để chỉ các dấu hiệu nhiễm PEDV của đối tượng. Ví dụ về các triệu chứng lâm sàng như vậy bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở tải lượng virus, tiêu chảy, sự phát tán, tăng nhiệt độ cơ thể, tỷ lệ tử vong, thương tổn bệnh lý chung ở ruột, trầm cảm, sụt cân, giảm tốc độ sinh trưởng và giảm ngon miệng. Tuy nhiên, triệu chứng lâm sàng cũng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các triệu chứng lâm sàng mà có thể quan sát trực tiếp từ động vật sống. Ví dụ về các triệu chứng lâm sàng mà có thể quan sát trực tiếp từ động vật sống bao gồm sụt cân, giảm tốc độ sinh trưởng, giảm ngon miệng, mất nước, tiêu chảy, nôn, khập khiễng, hôn mê, hao mòn và giảm chất lượng và tương tự.

Tốt hơn là, các triệu chứng lâm sàng mà được giảm về tỷ lệ mắc phải hoặc mức độ nghiêm trọng ở đối tượng được điều trị so với đối tượng không được điều trị hoặc được điều trị bằng chế phẩm sinh miễn dịch mà có trước sáng chế nhưng sau đó bị nhiễm PEDV cụ thể, dùng để chỉ sự giảm sụt cân, tải lượng virus thấp hơn, giảm tiêu chảy, giảm phát tán, giảm nhiệt độ trực tràng, giảm tỷ lệ tử vong, giảm thương tổn bệnh lý chung ở ruột hoặc tổ hợp của chúng.

Thuật ngữ “cần” hoặc “cần đến”, như được sử dụng ở đây có nghĩa là việc sử

dụng/điều trị có liên quan đến việc tăng cường hoặc cải thiện sức khỏe hoặc các triệu chứng lâm sàng hoặc tác dụng y tế tích cực khác lên sức khỏe của đối tượng mà nhận chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế.

Hơn nữa, sáng chế còn đề xuất phương pháp giảm tiêu chảy ở đối tượng, so với đối tượng thuộc nhóm đối chứng cùng loài không được gây miễn dịch, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu trong điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất phương pháp giảm tỷ lệ tử vong ở đối tượng, so với đối tượng thuộc nhóm đối chứng cùng loài không được gây miễn dịch, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu trong điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây.

Thuật ngữ “giảm tỷ lệ tử vong” có nghĩa là tỷ lệ tử vong giảm đi ít nhất 10%, tốt hơn nữa là giảm ít nhất 20%, còn tốt hơn nữa là ít nhất 30%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 40%, còn tốt hơn nữa là ít nhất 50%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 60%, còn tốt hơn nữa là ít nhất 70%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 80%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 90%, còn tốt hơn nữa là ít nhất 95%, tốt nhất là giảm 100% so với đối tượng không được điều trị (không được gây miễn dịch) nhưng sau đó bị nhiễm PEDV cụ thể.

Do đó, cần hiểu rằng đối tượng có thể được chủng ngừa bằng chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế để làm giảm hoặc ngăn ngừa các triệu chứng lâm sàng như tiêu chảy hoặc tỷ lệ tử vong ở đối tượng này. Tốt hơn nếu đối tượng này là lợn con, lợn hoặc lợn nái.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất phương pháp cảm ứng việc sản sinh kháng thể đặc hiệu PEDV ở đối tượng, trong đó phương pháp này bao gồm cho đối tượng sử dụng chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây. Tốt hơn nếu đối tượng này là lợn con, lợn hoặc lợn nái.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất phương pháp cảm ứng việc sản sinh kháng thể đặc hiệu PEDV ở lợn nái, trong đó phương pháp này bao gồm cho lợn này sử dụng chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây.

Thuật ngữ “kháng thể đặc hiệu PEDV” chỉ các kháng thể kháng PEDV phát hiện được. Hơn nữa, các kháng thể kháng PEDV ở lợn nái đã được phát triển trong đáp ứng

với việc chủng ngừa bằng vacxin PEDV theo sáng chế. Thuật ngữ “kháng thể đặc hiệu PEDV” hoặc “kháng thể đặc hiệu PEDV ở lợn nái” còn có nghĩa, nhưng không giới hạn ở, lợn nái có hiệu giá kháng thể kháng PEDV phát hiện được, tốt hơn là ít nhất 1:10, tốt hơn nữa là trên 1:20, còn tốt hơn nữa là trên 1:40, còn tốt hơn nữa là trên 1:80, còn tốt hơn nữa là 1:160, còn tốt hơn nữa là trên 1:320, và tốt nhất là trên 1:640. Tốt hơn là, hiệu giá kháng thể kháng PEDV có thể phát hiện được và có thể định lượng được trong thử nghiệm miễn dịch kháng PEDV đặc hiệu.

Có lợi là, chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế đã chứng tỏ là cảm ứng được sự sản sinh kháng thể đặc hiệu PEDV ở lợn nái.

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này đã biết rõ việc làm thế nào để phát hiện sự sản sinh kháng thể đặc hiệu PEDV như bằng thử nghiệm ELISA (ELISA có cung cấp trên thị trường).

Hơn nữa, sáng chế còn đề xuất phương pháp giảm tiêu chảy ở lợn con, so với lợn con thuộc nhóm đối chứng không được gây miễn dịch, phương pháp này bao gồm bước cho lợn nái mẹ của lợn con dùng lượng hữu hiệu trong điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây, trong đó lợn con này bú mẹ. Thuật ngữ “lợn nái mẹ của lợn con”, như được sử dụng trong bản mô tả, được hiểu cụ thể là tương đương với lần lượt “lợn mẹ của lợn con” hoặc “lợn nái nuôi dưỡng lợn con”.

Hơn nữa, sáng chế còn đề xuất phương pháp giảm tỷ lệ tử vong ở lợn con, so với lợn con thuộc nhóm đối chứng không được gây miễn dịch, phương pháp này bao gồm bước cho lợn nái mẹ của lợn con dùng lượng hữu hiệu trong điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây, trong đó lợn con này bú mẹ.

Hơn nữa, sáng chế còn đề xuất phương pháp giảm hoặc ngăn ngừa các dấu hiệu lâm sàng hoặc bệnh do nhiễm PEDV gây ra ở lợn con, trong đó lợn con được cho bú bởi lợn nái mà đã được cho dùng chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây.

Tốt hơn nếu dấu hiệu lâm sàng được làm giảm là tỷ lệ tử vong. Do đó, sáng chế còn đề xuất phương pháp giảm tỷ lệ tử vong do nhiễm PEDV gây ra ở lợn con, trong đó lợn con được cho bú bởi lợn nái mà đã được cho dùng chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm hoặc ngăn ngừa các dấu hiệu

lâm sàng hoặc bệnh do nhiễm PEDV gây ra ở lợn con, trong đó phương pháp này bao gồm:

- cho lợn nái sử dụng chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây, và
- để cho lợn nái cho lợn con bú hoặc, tương ứng, để cho lợn con bú lợn nái này.

Có lợi là, chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế đã thể hiện là làm giảm các dấu hiệu lâm sàng ở lợn khi cho lợn nái sử dụng trong thai kỳ.

Trong trường hợp lợn con được chủng ngừa bằng chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế, cần hiểu rằng, cần có thời gian để sản sinh kháng thể ở lợn con này. Do đó, theo một khía cạnh khác về phương pháp theo sáng chế, lợn nái mang thai được chủng ngừa bằng chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế. Việc chủng ngừa này dẫn đến sự sản sinh kháng thể đặc hiệu PEDV ở lợn nái này. Các kháng thể thu được từ lợn nái này sau đó được truyền thụ động cho lợn con mới sinh qua sữa non và/hoặc sữa.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, lợn nái mà đã được cho dùng chế phẩm sinh miễn dịch là lợn nái đang mang thai, cụ thể là mang thai lợn con đã nêu. Tuy nhiên, cần hiểu rằng lợn con có thể được cho bú bởi lợn nái bất kỳ cho sữa non hoặc sữa, trong đó lợn nái này là lợn nái đã được cho dùng chế phẩm sinh miễn dịch.

Theo một khía cạnh cụ thể khác, phương pháp theo sáng chế bao gồm các bước:

- cho lợn nái đang mang thai lợn con sử dụng chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây,
- cho phép lợn nái đẻ lợn con này, và
- cho lợn con này được cho bú bởi lợn nái này.

Theo khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, phương pháp này dẫn đến sự cải thiện về dấu hiệu lâm sàng hoặc thông số hiệu lực được chọn từ nhóm gồm: sự giảm sút cân, giảm tải lượng virus, giảm tiêu chảy, giảm phát tán, giảm nhiệt độ trực tràng, giảm tỷ lệ tử vong, giảm thương tổn chung ở ruột hoặc tổ hợp của chúng, so với đối tượng thuộc nhóm đối chứng cùng loài không được gây miễn dịch.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, đối tượng đã nêu là lợn con, lợn hoặc lợn nái.

Tốt hơn, chế phẩm sinh miễn dịch được sử dụng cho đối tượng trong hai tháng tuổi đầu tiên, tốt hơn nữa là trong tháng tuổi đầu tiên.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch được sử dụng cho đối tượng trong tháng tuổi đầu tiên.

Do đó, cần hiểu rằng chế phẩm sinh miễn dịch có thể được sử dụng cho đối tượng chẳng hạn trong ba tuần tuổi đầu tiên hoặc trong hai tuần tuổi đầu tiên.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch được sử dụng cho lợn nái trong thai kỳ và khi nuôi con bú.

Có lợi là, chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế đã chứng tỏ là an toàn khi cho lợn nái sử dụng trong thai kỳ.

Vì vậy, sáng chế đề xuất phương pháp chủng ngừa cho lợn chống lại PEDV bằng cách sử dụng vacxin PEDV theo sáng chế cho lợn nái đang mang thai ít nhất hai lần trước khi đẻ một lứa, tốt hơn là ba lần trước khi đẻ một lứa và tốt hơn nữa là hai lần trước đẻ một lứa ("liều nhắc lại"). Tốt hơn, lợn nái đang mang thai được chủng ngừa bằng vacxin PEDV theo sáng chế hai lần với liều đơn của vacxin đã nêu trước khi đẻ một lứa. Tuy nhiên, khi vacxin được dùng cho lợn nái hai lần, lần dùng thứ nhất cần thực hiện trong khoảng từ 12 đến 14 tuần trước khi đẻ một lứa, tốt hơn là trong khoảng từ 9 đến 5 tuần trước khi đẻ một lứa. Lần dùng thứ hai cần thực hiện trong khoảng từ 8 đến 1 tuần trước khi đẻ một lứa, tốt hơn là trong khoảng từ 6 đến 1 ngày trước khi đẻ một lứa.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch được sử dụng ở hai hoặc nhiều liều.

Có lợi là, chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế đã thể hiện là cảm ứng được sự sản sinh kháng thể đặc hiệu PEDV sau hai liều.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch được sử dụng cho lợn nái hai lần, lần dùng thứ nhất là từ 9 đến 5 tuần trước khi đẻ một lứa và lần dùng thứ hai là từ 6 đến 1 tuần trước khi đẻ một lứa.

Tốt hơn là, chế phẩm sinh miễn dịch được dùng khu trú hoặc toàn thân. Đường

dùng thích hợp thường được sử dụng là dùng qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa, như dùng trong mũi, trong tĩnh mạch, trong cơ, trong màng bụng, dưới da, cũng như xông hít. Tuy nhiên, tùy thuộc vào bản chất và phương thức tác động của hợp chất, chế phẩm sinh miễn dịch cũng có thể được sử dụng qua các đường dùng khác. Tuy nhiên, tốt nhất là chế phẩm sinh miễn dịch được dùng trong mũi hoặc đường miệng.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch được sử dụng trong mũi, đường niêm mạc, đường miệng, qua da hoặc trong cơ.

Có lợi là, chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế đã chứng tỏ là an toàn khi được sử dụng trong mũi.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch được sử dụng trong mũi hoặc đường miệng.

Tốt hơn, chế phẩm sinh miễn dịch chứa từ  $1 \times 10^2$  đến  $1 \times 10^9$  TCID<sub>50</sub>/ml, tốt hơn nữa là từ  $1 \times 10^3$  đến  $1 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub>/ml và tốt nhất là từ  $1 \times 10^4$  đến  $1 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch chứa từ  $1 \times 10^3$  đến  $1 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub>/ml.

Thuật ngữ "**TCID<sub>50</sub>/ml**" chỉ số đo hiệu giá virus gây nhiễm. Cụ thể, liều gây nhiễm nuôi cấy mô 50 cho mỗi mililit (TCID<sub>50</sub>/ml) là độ pha loãng của chế phẩm virus mà tại đó 50% số giống nuôi cấy tế bào được chủng song song với độ pha loãng đó bị nhiễm.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, phương pháp này dẫn đến sự giảm phát tán từ ngày thứ 2 sau khi thử thách hoặc nhiễm.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, phương pháp này dẫn đến sự giảm phát tán từ ngày thứ 3 sau khi thử thách hoặc nhiễm.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, phương pháp này dẫn đến sự giảm phát tán từ ngày thứ 4 sau khi thử thách hoặc nhiễm.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, phương pháp này dẫn đến sự giảm phát tán từ ngày thứ 5 sau khi thử thách hoặc nhiễm.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, phương pháp này dẫn đến sự giảm phát tán từ ngày thứ 7 sau khi thử thách hoặc nhiễm.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, phương pháp này dẫn đến sự giảm phát tán từ ngày thứ 10 sau khi thử thách hoặc nhiễm.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, phương pháp này dẫn đến sự giảm phát tán từ ngày thứ 5, 7 hoặc 10 sau khi thử thách hoặc nhiễm.

Có lợi là, chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế đã chứng tỏ là làm giảm phát tán sau khi thử thách hoặc nhiễm.

Thuật ngữ “giảm phát tán” có nghĩa là sự phát tán giảm đi ít nhất 10%, tốt hơn nữa là giảm ít nhất 20%, còn tốt hơn nữa là ít nhất 30%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 40%, còn tốt hơn nữa là ít nhất 50%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 60%, còn tốt hơn nữa là ít nhất 70%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 80%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 90%, còn tốt hơn nữa là ít nhất 95%, tốt nhất là giảm 100% so với đối tượng không được điều trị (không được gây miễn dịch) nhưng sau đó bị nhiễm PEDV cụ thể. Cách xác định mức độ phát tán virus nằm trong kiến thức thông thường của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Thuật ngữ “**phát tán**” chỉ sự tiết PEDV trong phân hoặc chất thải từ phân. Do đó, mức phát tán có thể được xác định bằng cách kiểm tra hiệu giá virus trong phân, chất thải từ phân hoặc mẫu phết trực tràng. Thuật ngữ “phát tán” còn bao hàm việc truyền virus cho động vật dễ bị mắc (nghĩa là mẫn cảm). Cách xác định mức phát tán virus, chẳng hạn như bằng PCR, qPCR hoặc ELISA là nằm trong kiến thức thông thường của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Theo một khía cạnh cụ thể khác về phương pháp theo sáng chế, phương pháp này làm tăng khả năng bảo vệ chống lại thử thách tương đồng.

Có lợi là, chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế đã chứng tỏ là có hiệu quả bảo vệ sau khi thử thách.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây dịch bệnh tiêu chảy ở lợn (PEDV), protein (S) của PEDV hoặc chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây để sản xuất thuốc.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây dịch bệnh tiêu chảy ở lợn (PEDV), protein (S) của PEDV hoặc chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây để điều trị và/hoặc ngăn ngừa các dấu hiệu lâm sàng do

nhễm PEDV gây ra ở đối tượng hoặc để làm giảm tiêu chảy cho đối tượng.

Tổng quan về trình tự:

Các trình tự sau đây được mô tả chi tiết và được bộc lộ trong sáng chế:

SEQ ID NO:1: RSXIEDXX,

SEQ ID NO:2: trình tự axit amin S G2a của PEDV US kiểu đại,

SEQ ID NO:3: trình tự axit amin S G2b của PEDV EU kiểu đại,

SEQ ID NO:4: RSXIEDLLF,

SEQ ID NO:5: RSXIEDAAF,

SEQ ID NO:6: XXXFXKXXXX,

SEQ ID NO:7: YXXFXKXH,

SEQ ID NO:8: AXXFXKXR,

SEQ ID NO:9: Trình tự S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV chủng châu Âu với đột biến 897A,

SEQ ID NO:10: Trình tự S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV chủng châu Âu với đột biến ở vị trí axit amin số 898 thành A,

SEQ ID NO:11: Trình tự S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV chủng châu Âu với đột biến 897A và 898A,

SEQ ID NO:12: Trình tự S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV chủng châu Âu với đột biến 897A và 1374A và 1381R,

SEQ ID NO:13: Trình tự S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV chủng châu Âu với đột biến 898A và 1374A và 1381R,

SEQ ID NO:14: Trình tự S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV chủng châu Âu với đột biến 897A, 898A và 1374A và 1381R,

SEQ ID NO:15: Trình tự S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV chủng US với đột biến 900A,

SEQ ID NO:16: Trình tự S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV chủng US với đột biến ở vị trí axit amin số 901 thành A,

SEQ ID NO:17: Trình tự S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV chủng US với đột biến 900A và 901A,

SEQ ID NO:18: Trình tự S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV chủng US với đột biến 900A và 1377A và 1384R,

SEQ ID NO:19: Trình tự S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV chủng US với đột biến 901A và 1377A và 1384R,

SEQ ID NO:20: Trình tự S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV chủng US với đột biến 900A, 901A và 1377A và 1384R,

SEQ ID NO:21: RSXIEDLX,

SEQ ID NO:22: RSXIEDXL,

SEQ ID NO:23: RSXIEDLA,

SEQ ID NO:24: RSXIEDAL,

SEQ ID NO:25: RSXIEDAA,

SEQ ID NO:26: XXXFXKXHXX,

SEQ ID NO:27: YXXFXKXXXX,

SEQ ID NO:28: AXXFXKXHXX,

SEQ ID NO:29: YXXFXKXRX,

SEQ ID NO:30: AXXFXKXRX,

SEQ ID NO:31: RSXIEDLG,

SEQ ID NO:32: RSXIEDGL,

SEQ ID NO:33: RSXIEDGG,

SEQ ID NO:34: RSXIEDGA,

SEQ ID NO:35: RSXIEDAG,

SEQ ID NO:36 chứa catxet tách dòng của protein gai của PEDV – bao gồm đoạn nhân đôi của vùng UTR cho gen được chèn,

SEQ ID NO:37 (ARN) tương ứng với trình tự mã hóa protein S nêu trong SEQ ID NO:14,

SEQ ID NO:38 (ARN) tương ứng với trình tự chứa SEQ ID NO:37,

SEQ ID NO:39: trình tự axit amin S G2a của PEDV CN kiểu đại,

SEQ ID NO:40: Trình tự S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV chủng CN với đột biến 900A, 901A và 1377A và 1384R,

Các SEQ ID NO: 41-44: mẫu dò, đoạn mồi, và các trình tự ultrame (bảng 2).

Như trong danh mục trình tự, các trình tự axit amin được trình bày theo kiểu mã ba chữ cái sử dụng ký hiệu “Xaa” như tương đương đối với “X” thay đổi, cần hiểu cụ thể rằng cách viết “X ở gốc” trong danh mục trình tự là tương đương với “Xaa ở gốc”.

Các phương án

Các phương án sau đây được mô tả trong bản mô tả này:

Sáng chế đề xuất các phương án sau đây:

1. Phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây dịch bệnh tiêu chảy ở lợn (PEDV) chứa trình tự axit amin

RSX<sub>1</sub>IEDX<sub>2</sub>X<sub>3</sub> (SEQ ID NO:1), trong đó

(I) X<sub>2</sub> là gốc axit amin không phải là gốc leuxin và X<sub>3</sub> là gốc leuxin, hoặc

(II) X<sub>2</sub> là gốc leuxin và X<sub>3</sub> là gốc axit amin không phải là gốc leuxin, hoặc

(III) X<sub>2</sub> là gốc axit amin không phải là gốc leuxin và X<sub>3</sub> là gốc axit amin không phải là gốc leuxin.

2. Phân tử axit nucleic theo phương án 1 chứa trình tự axit amin

RSX<sub>1</sub>IEDX<sub>2</sub>X<sub>3</sub> (SEQ ID NO:1), trong đó

- R là gốc arginin ở vị trí axit amin số 894 nếu protein S của PEDV là protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV và trong đó cách đánh số vị trí axit amin chỉ trình tự axit amin của protein S G2a của PEDV kiểu đại, hoặc

- R là gốc arginin ở vị trí axit amin số 891 nếu protein PEDV là protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV và trong đó cách đánh số vị trí axit amin chỉ trình tự axit amin của protein S G2b của PEDV kiểu đại.

3. Phân tử axit nucleic theo phương án 2, trong đó

- trình tự axit amin của protein S G2a của PEDV kiểu đại là trình tự axit amin của protein S G2a của PEDV kiểu đại nêu trong SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:39, và/hoặc

- trình tự axit amin của protein S G2b của PEDV kiểu đại là trình tự axit amin của protein S G2b của PEDV kiểu đại nêu trong SEQ ID NO:3.

4. Phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây dịch bệnh tiêu chảy ở lợn (PEDV) chứa trình tự axit amin

$RSX_1IEDX_2X_3$  (SEQ ID NO:1),

trong đó R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV,  $X_1$  có thể là gốc axit amin bất kỳ và trong đó

(I)  $X_2$  là gốc axit amin không phải là gốc leuxin và  $X_3$  là gốc leuxin, hoặc

(II)  $X_2$  là gốc leuxin và  $X_3$  là gốc axit amin không phải là gốc leuxin, hoặc

(III)  $X_2$  là gốc axit amin không phải là gốc leuxin và  $X_3$  là gốc axit amin không phải là gốc leuxin.

5. Phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây dịch bệnh tiêu chảy ở lợn (PEDV) được chọn từ nhóm gồm (a) và (b) sau đây:

(a) protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV có ít nhất một đột biến, trong đó

- gốc leuxin ở vị trí axit amin số 900 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin, và/hoặc

- gốc leuxin ở vị trí axit amin số 901 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin,

trong đó cách đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của protein S G2a của PEDV kiểu đại nêu trong SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:39,

(b) protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV có ít nhất một đột biến, trong đó

- gốc leuxin ở vị trí axit amin số 897 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin, và/hoặc

- gốc leuxin ở vị trí axit amin số 898 được thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin,

trong đó việc đánh số các vị trí axit amin chỉ trình tự axit amin của protein S G2b của PEDV kiểu đại có SEQ ID NO:3.

6. Phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 5, trong đó gốc axit amin không phải là gốc leuxin được chọn từ nhóm gồm gốc alanin, gốc glyxin, gốc isoleuxin, gốc methionin và gốc valin.

7. Phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 6, trong đó gốc axit amin không phải là gốc leuxin là gốc alanin.

8. Phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 5 đến 7, trong đó cách đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin RSXIEDLLF (SEQ ID NO:4) của protein S G của PEDV kiểu đại, trong đó R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV và LL là các vị trí axit amin 900 và 901 trong protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV hoặc LL là các vị trí axit amin 897 và 898 trong protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV.

9. Phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 5 đến 8, trong đó cách đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin RSXIEDLLF (SEQ ID NO:4) của protein S G của PEDV kiểu đại, trong đó R là gốc arginin ở vị trí axit amin số 894 và LL là các vị trí axit amin 900 và 901 trong protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV, hoặc R là gốc arginin ở vị trí axit amin số 891 và LL là các vị trí axit amin 897 và 898 trong protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV.

10. Phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 9, trong đó protein S của PEDV chứa trình tự axit amin RSXIEDAAF (SEQ ID NO:5), trong đó R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV và AA là các vị trí axit amin 900 và 901 trong protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV hoặc AA là các vị trí axit amin 897 và 898 trong protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV.

11. Phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 10, trong đó protein S của PEDV chứa trình tự axit amin RSXIEDAAF (SEQ ID NO:5), trong đó R là gốc arginin ở vị trí axit amin số 894 và AA là các vị trí axit amin 900 và 901 trong

protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV, hoặc R là gốc arginin ở vị trí axit amin số 891 và AA là các vị trí axit amin 897 và 898 trong protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV.

12. Phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 11, trong đó protein S của PEDV còn chứa trình tự axit amin

$X_1X_2X_3FX_4KX_5X_6X_7X_8$  (SEQ ID NO:6),

trong đó  $X_8$  là gốc axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV hoặc gốc axit amin ở vị trí số -2 so với vị trí axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV,

$X_2$  đến  $X_5$ ,  $X_7$  và  $X_8$  có thể là gốc axit amin bất kỳ, và trong đó

(i)  $X_1$  là gốc axit amin không phải là gốc tyrosin và  $X_6$  là gốc histidin, hoặc

(ii)  $X_1$  là gốc tyrosin và  $X_6$  là gốc axit amin không phải là gốc histidin, hoặc

(iii)  $X_1$  là gốc axit amin không phải là gốc tyrosin và  $X_6$  là gốc axit amin không phải là gốc histidin.

13. Phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 5 đến 13, trong đó

(a) trong protein S G2a của PEDV còn có

- gốc tyrosin ở vị trí axit amin số 1377 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc tyrosin, và/hoặc

- gốc histidin ở vị trí axit amin số 1384 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc histidin,

hoặc

(b) trong protein S G2b của PEDV còn có

- gốc tyrosin ở vị trí axit amin số 1374 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc tyrosin, và/hoặc

- gốc histidin ở vị trí axit amin số 1381 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc histidin.

14. Phân tử axit nucleic theo phương án 12 đến 13, trong đó

- gốc axit amin không phải là gốc tyrosin được chọn từ nhóm gồm gốc alanin, gốc glyxin, gốc leuxin, gốc isoleuxin, gốc methionin và gốc valin, và/hoặc

- gốc axit amin không phải là gốc histidin là gốc arginin.

15. Phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 12 đến 14, trong đó

- gốc axit amin không phải là gốc tyrosin là gốc alanin, và/hoặc

- gốc axit amin không phải là gốc histidin là gốc arginin.

16. Phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 15, trong đó cách đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin YXXFXKXH (SEQ ID NO:7) của protein S G của PEDV kiểu đại, trong đó Y và H là các vị trí axit amin 1377 và 1384 trong protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV hoặc Y và H là các vị trí axit amin 1374 và 1381 trong protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV.

17. Phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 12 đến 16, trong đó phân tử axit nucleic chứa trình tự mã hóa trình tự axit amin AXXFXKXR (SEQ ID NO:8), trong đó A và R là các vị trí axit amin 1377 và 1384 trong protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV hoặc A và R là các vị trí axit amin 1374 và 1381 trong protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV.

18. Phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 17, trong đó protein S của PEDV:

(i) (a) chứa hoặc bao gồm trình tự axit amin có ít nhất 90%, ít nhất 91%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,1%, ít nhất 99,2%, ít nhất 99,3%, ít nhất 99,4%, ít nhất 99,5%, ít nhất 99,6%, ít nhất 99,7%, ít nhất 99,8%, hoặc ít nhất 99,9% trình tự đồng nhất với trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 40, hoặc

(b) chứa hoặc bao gồm trình tự axit amin có ít nhất 90%, ít nhất 91%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,1%, ít nhất 99,2%, ít nhất 99,3%, ít nhất 99,4%, ít nhất 99,5%, ít nhất 99,6%, ít nhất 99,7%, ít nhất 99,8%, hoặc ít nhất 99,9% trình tự đồng nhất với trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13, 14; và/hoặc

(ii) (a) được mã hóa bởi trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin có ít nhất 90%, ít nhất 91%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,1%, ít nhất 99,2%, ít nhất 99,3%, ít nhất 99,4%, ít

nhất 99,5%, ít nhất 99,6%, ít nhất 99,7%, ít nhất 99,8%, hoặc ít nhất 99,9% trình tự đồng nhất với trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 40, hoặc

(b) được mã hóa bởi trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin có ít nhất 90%, ít nhất 91%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,1%, ít nhất 99,2%, ít nhất 99,3%, ít nhất 99,4%, ít nhất 99,5%, ít nhất 99,6%, ít nhất 99,7%, ít nhất 99,8%, hoặc ít nhất 99,9% trình tự đồng nhất với trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13, 14.

19. Phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 18, trong đó protein S của PEDV

(a) chứa trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 40, hoặc

(b) chứa trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13, 14.

20. Protein (S) của PEDV được mã hóa bởi phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 9.

21. Phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 19 hoặc protein S của PEDV theo phương án 20, trong đó phân tử axit nucleic này mã hóa protein S của PEDV hoặc protein S của PEDV là tái tổ hợp.

22. Polynucleotit chứa phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 19.

23. Vector chứa phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 19 hoặc polynucleotit theo phương án 22.

24. Vector theo phương án 23, trong đó vector này là CDV, EHV, virus ORF, PRV, CAV, PCMV hoặc BoHV-4.

25. Vector theo phương án 23, trong đó vector này là CDV hoặc EHV.

26. Chế phẩm sinh miễn dịch chứa phân tử axit nucleic mã hóa protein S của PEDV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 19 và/hoặc protein S của PEDV

theo phương án 20 và/hoặc vector theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 23 đến 25.

27. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án 26, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này còn chứa chất mang được dụng.

28. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án 26 hoặc 27, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này là vaccin.

29. Tế bào chứa phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 19, polynucleotit theo phương án 22 hoặc vector theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 23 đến 25.

30. Phương pháp sản xuất phân tử axit nucleic mã hóa protein S của PEDV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 19 và/hoặc protein S của PEDV theo phương án 20, bao gồm bước chuyển nhiễm tế bào bằng vector theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 23 đến 25.

31. Phương pháp bào chế chế phẩm sinh miễn dịch để điều trị và/hoặc phòng ngừa nhiễm PEDV ở đối tượng, bao gồm bước:

- a.) nhiễm tế bào bằng vector theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 23 đến 25;
- b.) thu vector này; và
- c.) bổ sung chất mang được dụng.

32. Tế bào theo phương án 29 hoặc phương pháp theo phương án 30 hoặc 31, trong đó tế bào này là tế bào Vero, tế bào ST, tế bào BHK-21, tế bào Ma104, tế bào MDBK, tế bào RK13, tế bào MDCK hoặc tế bào PK15.

33. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án 27 hoặc phương pháp theo phương án 31, trong đó chất mang được dụng được chọn từ nhóm gồm dung môi, môi trường phân tán, chất bọc, chất làm ổn định, chất pha loãng, chất bảo quản, chất kháng vi khuẩn và chất kháng nấm, chất đẳng trương, chất làm chậm sự hấp thu, tá dược, chất kích thích miễn dịch, và tổ hợp của chúng.

34. Phương pháp gây miễn dịch cho đối tượng bao gồm việc cho đối tượng này sử dụng chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 đến 28.

35. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 đến 28 để sử dụng trong phương pháp gây miễn dịch cho đối tượng, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch.

36. Phương pháp điều trị và/hoặc ngăn ngừa các dấu hiệu lâm sàng do nhiễm PEDV gây ra ở đối tượng cần điều trị, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 đến 28.

37. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 đến 28 để dùng trong phương pháp điều trị và/hoặc ngăn ngừa các dấu hiệu lâm sàng do nhiễm PEDV gây ra ở đối tượng cần điều trị, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch đã nêu.

38. Phương pháp làm giảm tỷ lệ tử vong ở đối tượng, so với đối tượng ở nhóm đối chứng cùng loài không được gây miễn dịch, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 đến 28.

39. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 đến 28 để sử dụng trong phương pháp làm giảm tỷ lệ tử vong ở đối tượng, so với đối tượng thuộc nhóm đối chứng cùng loài không được gây miễn dịch, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch đã nêu.

40. Phương pháp cảm ứng sự sản xuất kháng thể đặc hiệu PEDV ở lợn nái, trong đó phương pháp này bao gồm việc sử dụng chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 đến 28 cho lợn nái này.

41. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 đến 28 để dùng trong phương pháp cả ứng sự sản sinh kháng thể đặc hiệu PEDV ở lợn nái, phương pháp này bao gồm bước cho lợn nái này sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch đã nêu.

42. Phương pháp giảm tỷ lệ tử vong ở lợn con, so với lợn con thuộc nhóm đối chứng không được gây miễn dịch, phương pháp này bao gồm bước cho lợn nái mẹ của lợn con dùng lượng hữu hiệu điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 đến 28, trong đó lợn con này được cho bú bởi lợn nái đã nêu.

43. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 đến 28 để sử dụng trong phương pháp giảm tỷ lệ tử vong ở lợn con, so với lợn con thuộc nhóm đối chứng không được gây miễn dịch, phương pháp này bao gồm bước cho lợn nái mẹ của lợn con dùng lượng hữu hiệu điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch đã nêu, trong đó lợn con này được cho bú bởi lợn nái đã nêu.

44. Phương pháp giảm hoặc ngăn ngừa các dấu hiệu lâm sàng hoặc bệnh do nhiễm PEDV gây ra ở lợn con, trong đó lợn con này được cho bú bởi lợn nái mà đã được cho dùng chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 đến 28.

45. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 thành 28 để sử dụng trong phương pháp làm giảm hoặc ngăn ngừa các dấu hiệu lâm sàng hoặc bệnh do nhiễm PEDV gây ra ở lợn con, trong đó lợn con này được cho bú bởi lợn nái đã được dùng chế phẩm sinh miễn dịch.

46. Phương pháp làm giảm hoặc ngăn ngừa dấu hiệu lâm sàng hoặc bệnh do nhiễm PEDV gây ra ở lợn con, trong đó phương pháp này bao gồm

- cho lợn nái sử dụng chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 đến 28, và
- cho lợn con được bú lợn nái này.

47. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 đến 28 để sử dụng trong phương pháp làm giảm hoặc ngăn ngừa các dấu hiệu lâm sàng hoặc bệnh do nhiễm PEDV gây ra ở lợn con, trong đó phương pháp này bao gồm

- cho lợn nái sử dụng chế phẩm sinh miễn dịch, và
- cho lợn con được bú lợn nái này.

48. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 34 đến 47, trong đó lợn nái đã được cho sử dụng chế phẩm sinh miễn dịch là lợn nái đang mang thai, cụ thể là mang thai lợn con.

49. Phương pháp phương án bất kỳ trong số các phương án 34, và 46 đến 48, bao gồm các bước

- cho lợn nái đang mang thai lợn con sử dụng chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 đến 28,
- cho phép lợn nái đẻ lợn con này, và
- cho lợn con này được cho bú bởi lợn nái này.

50. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án 36, 37, 40, 44, 45, 46, 47, 48 hoặc 49, trong đó phương pháp này dẫn đến sự cải thiện về dấu hiệu lâm sàng hoặc thông số hiệu lực được chọn từ nhóm gồm: sự giảm sút cân, giảm tải lượng virus, giảm tiêu chảy, giảm phát tán, giảm nhiệt độ trực tràng, giảm tỷ lệ tử vong, giảm thương tổn chung ở ruột hoặc tổ hợp của chúng, so với đối tượng thuộc nhóm đối chứng cùng loài không được gây miễn dịch.

51. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 34 đến 39, trong đó đối tượng đã nêu là lợn con, lợn, hoặc lợn nái.

52. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 34 đến 39 hoặc 51, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch được dùng cho đối tượng trong tháng tuổi đầu tiên.

53. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 34 đến 52, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch đã nêu được dùng cho lợn nái trong thai kỳ và nuôi con bú.

54. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 34 đến 53, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch được dùng ở mức hai hoặc nhiều liều.

55. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 34 đến 44, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch được sử dụng cho lợn nái hai lần, lần dùng thứ nhất là từ 9 đến 5 tuần trước khi đẻ một lứa và lần dùng thứ hai là từ 6 đến 1 tuần trước khi đẻ một lứa.

56. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 34 đến 55, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch đã nêu được dùng trong mũi, đường niêm mạc, đường miệng, trong da hoặc trong cơ.

57. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 34 đến 56, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch được dùng trong mũi hoặc đường miệng.

58. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 34 đến 57, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch chứa từ  $1 \times 10^3$  đến  $1 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub>/ml, cụ thể là của vector theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 23 đến 25.

59. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 34 đến 58, trong đó phương pháp này dẫn đến giảm phát tán từ ngày thứ 5, 7 hoặc 10 sau khi thử thách hoặc nhiễm.

60. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 34 đến 59, trong đó phương pháp làm tăng khả năng bảo vệ chống lại thử thách tương đồng.

### **Ví dụ thực hiện sáng chế**

Các ví dụ sau đây đưa ra các vật liệu và quy trình được ưu tiên theo sáng chế. Mặc dù các phương pháp và vật liệu tương tự hoặc tương đương với các phương pháp và vật liệu được mô tả trong bản mô tả có thể được dùng để thực hành hoặc thử nghiệm sáng chế, các phương pháp, thiết bị và vật liệu được ưu tiên sẽ được mô tả. Tuy nhiên, cần phải hiểu rằng các ví dụ này được đưa ra chỉ nhằm mục đích minh họa và không có ví dụ nào trong số chúng được hiểu là nhằm giới hạn phạm vi tổng thể của sáng chế.

#### **Ví dụ 1**

Chuẩn bị các thay đổi về gai

#### **A) Biểu hiện PEDV-S bằng vector tái tổ hợp CDV**

Trong thử nghiệm in vitro, plasmid đầy đủ (pBR322) mã hóa hệ gen CDV đầy đủ thu được từ chủng vacxin Lederle (Lederle; ATCC VR-128) được phân giải bằng SacII endonucleaza tiếp theo là tách dòng catxet mã hóa protein (S) của giữa gen P và gen M (tạo ra trình tự chứa SEQ ID NO:36). Khi tách dòng và thu hồi CDV-PEDV-S tái tổ hợp, có thể biểu hiện protein gai của virus gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn kiểu gen 2b trong CDV kết hợp các tiêu điểm huỳnh quang. Kết quả tương ứng cũng được thu nhận cho vector CDV tương ứng (tức là chỉ khác biệt về trình tự mã hóa protein gai của virus gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn kiểu gen 2a SEQ ID NO:20). Kết quả thu được cho cả hai vector bằng miễn dịch huỳnh quang cho thấy sự biểu hiện mạnh protein gai của PEDV trong tất cả các hợp bào bị nhiễm CDV (kết quả không được thể hiện).

#### **B) Chuẩn bị EHV biểu hiện protein gai của PEDV**

Để tạo ra các EHV1 tái tổ hợp biểu hiện các protein gai PEDV-S2b-wt và PEDV-S2b-mut, trình tự tổng hợp SEQ ID NO:3 và SEQ ID NO:14 được sử dụng. Trình tự này được tổng hợp và tách dòng phụ vào lần lượt vector chuyển pUC19-ORF1/3 - PEDV-S2b-wt và pUC19-ORF1/3 - PEDV-S2b-mut.

Bằng cách gây đột biến en-passant bằng cách sử dụng hệ thống tái tổ hợp RED (Tischer et al. 2006) catxet biểu hiện của PEDV-S2b-wt hoặc PEDV-S2b-mut được chèn trong vùng orf1/3 của pRacH-SE để tạo ra ADN BAC pRacH-SE- PEDV-S2b-wt và pRacH-SE- PEDV-S2b-mut.

Các tế bào RK13 được chuyển nhiễm ADN BAC tạo thành, các virus tái tổ hợp rEHV-1 được thu hồi và tinh chế vết tan. Việc chèn chính xác catxet biểu hiện được xác nhận bằng cách giải trình tự sản phẩm PCR độ trung thực cao của vùng chèn. Sự biểu hiện gen chuyển trong các tế bào đã nhiễm được phân tích và xác nhận bằng thử nghiệm miễn dịch huỳnh quang gián tiếp (IFA) (dữ liệu không được thể hiện). Hơn nữa, virus được cấy chuyển qua 20 lần cấy chuyển tế bào trong tế bào RK-13 để khẳng định độ ổn định in vitro của cấu trúc.

## Ví dụ 2

### Định khu gai trong màng sinh chất

Vectơ tái tổ hợp EHV-1 mã hóa protein S kiểu gen 2b của PEDV kiểu dại (có trong tự nhiên) (EHV1-PEDV-S2b-wt) được so sánh với vectơ tái tổ hợp EHV-1 mã hóa protein gai đột biến (ở các vị trí axit amin 897/ 898 / 1374 / 1381 (SEQ ID NO:14) – được thiết kế dưới dạng EHV1-PEDV-S2b-mut).

Tóm lại, các tế bào RK13 được cấy đĩa trong các đĩa nuôi cấy tế bào 6 giếng với mật độ  $2 \times 10^5$  tế bào mỗi giếng của đĩa sáu giếng. Vào ngày tiếp theo (24 giờ sau khi gieo), các tế bào được nhiễm EHV1-PEDV-S2b-wt hoặc EHV1-PEDV-S2b-mut với MOI là 0,01. Hai ngày sau khi nhiễm (48 giờ) các tế bào được cố định bằng cách sử dụng dung dịch paraformaldehyt 3% trong một giờ. Các lớp tế bào đơn đã cố định sau đó được thấm thấu bằng Tween20 0,1% và sau đó nhuộm trong 1 giờ bằng kháng thể đơn dòng kháng PEDV dòng 7D7\_G1 (Abpro-Labs 2.4.16) sử dụng thể pha loãng 1:200 trong PBS. Sau một giờ, các tế bào được rửa hai lần bằng PBS ở nhiệt độ trong phòng (1000  $\mu$ l mỗi giếng). Bổ sung 750 $\mu$ l dung dịch 1:500 của kháng thể thứ cấp thương mại (FITC dê kháng chuột (Life Technology cat:A11029 lot:1705900) mỗi giếng và ủ trong 60 phút trong tối (bảo vệ khỏi ánh sáng). Sau khi ủ, dung dịch kháng thể thứ cấp được hút bằng chân không, tiếp theo là rửa hai lần bằng PBS ở nhiệt độ trong phòng (1000  $\mu$ l mỗi giếng). Kết quả thu được bằng cách sử dụng kính hiển vi huỳnh quang đảo ngược Olympus (mod.IX81), sử dụng bộ lọc FITC để phát hiện huỳnh quang đặc hiệu protein

gai của PEDV trong tế bào (Fig. 1). Protein gai được biểu hiện từ vector tái tổ hợp EHV1-PEDV-S2b-wt chủ yếu được định khu tại tế bào chất, trong khi protein gai được biểu hiện từ EHV1-PEDV-S2b-mut chủ yếu được định khu trong màng tế bào.

### Ví dụ 3

#### Động học phát triển trong tế bào Vero

Giới thiệu: Sự phát triển hiệu quả của vector virus tái tổ hợp là một trong số các đặc điểm thiết yếu về việc sản xuất vắc xin hiệu quả. Vắc xin chống virus gây bệnh sốt ho ở chó (Canine distemper virus - CDV) được sản xuất trong các tế bào Vero (ATCC® CCL-81™) và rất thường sử dụng trong hệ thống sản xuất bằng chai lăn. Các tác giả sáng chế đã so sánh động học phát triển của hai CDV tái tổ hợp, tức là:

(i) Khung CDV thu được từ chủng vắc xin Lederle (xem ví dụ 1) với đoạn chèn trình tự SEQ ID NO:39 (mã hóa protein gai của PEDV nêu trong SEQ ID NO:20) giữa gen P và gen M, ở đây gọi là “CDV-PEDV-spike-MUT” hoặc “CDV-PEDV-spike mut”, và (ii) vector mã hóa tương ứng của protein kiểu dại tương ứng (protein gai của PEDV nêu trong SEQ ID NO:2), ở đây gọi là “CDV-PEDV-spike-WT” hoặc “CDV-PEDV-spike wt”.

Thiết lập thử nghiệm: Các chai lăn (490 cm<sup>3</sup>) được gieo 2x10<sup>7</sup> tế bào Vero. Vào ngày tiếp theo, virus gốc CDV-PEDV-spike-MUT hoặc CDV-PEDV-spike-WT được sử dụng để nhiễm vào tế bào Vero trong chai lăn với MOI 0,01. Trong 7 ngày tiếp theo, phần phân ước 1 ml được lấy mẫu từ mỗi chai lăn theo bộ ba. Tất cả các mẫu được bảo quản trong tủ đông -80°C đến khi phân tích. Vào ngày phân tích, các mẫu được rã đông trên nước đá và thực hiện việc các định hiệu giá virus theo quy trình sau:

#### Quy trình xác định hiệu giá CDV

##### Nguyên liệu:

- Tế bào: VeroDogSLAM BI được gieo 24 giờ trước trong các đĩa 96 giếng, 6x10<sup>3</sup> tế bào/giếng
- Môi trường: MEM (SAFC, SLBX3503)
- Đĩa 48 giếng để pha loãng

##### Quy trình:

- Sử dụng đĩa 48 giếng để pha loãng
- Nạp vào giếng 1080 $\mu$ l MEM
- Bổ sung bằng pipet 120 $\mu$ l mỗi mẫu vào hàng đầu tiên
- Chương trình trộn, pha loãng 10 lần mỗi mẫu từ  $10^{-1}$  đến  $10^{-8}$ .
- Đối với từng thể pha loãng, sử dụng một đĩa tế bào 96 giếng.
- Chuyển thể pha loãng lên các tế bào được gieo trước (100 $\mu$ l/giếng)
- Mỗi mẫu có 8x lặp
- Ủ trong 3 ngày trong thiết bị ủ tế bào ở 37°C
- Đọc bằng kính hiển vi bằng cách phát hiện sự hình thành hợp bào CDV điển hình trên các tế bào

Kết quả và bàn luận:

CDV-PEDV-spike-MUT tái tổ hợp thể hiện hiệu giá virus gây nhiễm cao hơn vào ngày 1, 2, 3, 4, 5 và 6 sau khi nhiễm vào tế bào Vero. Hơn nữa, cả hai thể tái tổ hợp đạt hiệu giá dịch nổi đỉnh vào ngày thứ 4 sau khi gây nhiễm, nhưng CDV-PEDV-spike-MUT đạt hiệu giá gây nhiễm cao hơn 2 lần so với CDV-PEDV-spike-WT tái tổ hợp (xem Fig. 2), cho thấy lợi ích của đột biến gai đối với sự phù hợp của vector CDV.

Tất cả các hiệu giá virus đó được đo trong dịch nổi không có tế bào. Dựa trên dữ liệu thử nghiệm (dữ liệu không được thể hiện) dự đoán rằng hiệu giá trong các phân đoạn tế bào cao hơn ít nhất 100 lần, và do đó trong thiết lập sản xuất (vì các chai lần có thể được thu hoạch bao gồm phân đoạn tế bào trong thiết lập sản xuất), sự khác biệt về hiệu giá giữa hai thể tái tổ hợp thậm chí còn cao hơn về tỷ lệ.

Ví dụ 4

Dữ liệu vaccin trên động vật

Nghiên cứu hiệu lực vaccin

Dịch tiêu chảy ở lợn (Porcine epidemic diarrhea - PED) là bệnh ở lợn rất dễ lây lan có thể gây tác động lớn đến kinh tế. Trong khi tất cả các nhóm tuổi của lợn đều dễ bị lây nhiễm, thì các dấu hiệu lâm sàng nghiêm trọng và tỷ lệ tử vong chủ yếu quan sát được thấy ở lợn con đang trong giai đoạn bú mẹ. Tác nhân gây bệnh là virus PED (PEDV), một loại virus ARN mạch đơn dương, có vỏ, thuộc chi *Alphacoronavirus* trong họ virus *Coronaviridae*. Ở châu Âu, PEDV lần đầu tiên xuất hiện vào cuối những năm

1970 ở Anh. Sau đó, nó lan rộng khắp châu Âu gây ra những đợt bùng phát dịch rải rác. Vào cuối những năm 1990, PEDV đã biến mất khỏi các trang trại lợn ở châu Âu với bằng chứng báo cáo rằng tỷ lệ dương tính huyết thanh học rất thấp và bệnh không tồn tại. Sự bùng phát và lây nhiễm đặc hữu vẫn được báo cáo từ châu Á nơi mà bệnh có ảnh hưởng lớn đến năng suất của các trang trại lợn công nghiệp. Bắt đầu từ năm 2005, các trường hợp PED lại được báo cáo từ châu Âu, tức là Italia. Sau khi PEDV độc lực cao thâm nhập vào Mỹ năm 2013, các trường hợp khác cũng được báo cáo từ Trung Âu, bao gồm Đức và các nước láng giềng. Các trường hợp sau được gây ra bởi các chủng PEDV liên quan nhưng khác biệt (còn được gọi là các chủng S-INDEL). Ở Đức, các trường hợp được báo cáo bắt đầu từ tháng 5 năm 2014 với tỷ lệ mắc bệnh cao và tỷ lệ tử vong thay đổi ở lợn đang trong giai đoạn bú mẹ.

Thử nghiệm này, trong đó khung CDV thu được từ chủng vacxin Lederle (xem ví dụ 1) với đoạn chèn trình tự SEQ ID NO:37 (mã hóa protein gai của PEDV) giữa gen P và gen M (vectơ này chứa trình tự SEQ ID NO:38) được thử nghiệm làm vacxin vectơ (sau đây gọi là vacxin “CDV\_PEDV-Spike” hoặc “vacxin vectơ CDV PEDV-Spike”, tương ứng), bao gồm sáu lợn nái và các con của chúng.

Tất cả các động vật được kiểm tra PEDV bằng RT-qPCR hướng đích gen S, và kháng thể đặc hiệu PEDV. Chỉ các động vật âm tính mới được cho tham gia nghiên cứu.

Ba nhóm điều trị (xem dưới đây) gồm các động vật được phân chia ngẫu nhiên:

Nhóm 1 (đối chứng âm): Hai lợn nái (gọi là #1 và #2), không được chủng ngừa;

Nhóm 2 (đối chứng dương): Hai lợn nái (gọi là #3 và #4), không được chủng ngừa;

Nhóm 3 (CDV\_PEDV-Spike): Hai lợn nái (gọi là #5 và #6), được chủng ngừa bằng vectơ vacxin CDV\_PEDV-Spike.

Việc chủng ngừa hai lợn nái nhóm 3 được thực hiện theo lịch trình sau đây, trong đó hiệu giá gốc của vacxin CDV\_PEDV-Spike, được xác định bằng cách xác định hiệu giá điểm cuối, là  $7,94 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/ml:

9 tuần trước ngày dự sinh: mỗi lợn trong số hai lợn nái này được nhận 4 ml vacxin trong mũi (2 ml trong mỗi lỗ mũi);

6 tuần trước ngày dự sinh: mỗi lợn trong số hai lợn nái này được nhận 4 ml vacxin trong mũi (2 ml trong mỗi lỗ mũi);

3 tuần trước ngày dự sinh: mỗi lợn trong số hai lợn nái này được nhận 4 ml vacxin tương ứng trong mũi (2 ml trong mỗi lỗ mũi) và 2 ml bổ sung trong cơ.

Lợn con được sinh ra từ lợn nái nhóm 1 (13 lợn con từ lợn nái #1 và 12 lợn con từ lợn nái #2) được chủng giả được qua đường miệng. Lợn con được sinh ra từ lợn nái nhóm 2 (12 lợn con từ lợn nái #3 và 14 lợn con của lợn nái #4), và nhóm 3 (5 lợn con của lợn nái #5 và 15 lợn con của lợn nái #6) được thử thách qua đường miệng bằng chủng thực địa PEDV (sau đây gọi là “PEDV EU”) lúc 4 ngày tuổi.

Để chủng cho lợn con các nhóm 2 và 3, PEDV EU đã làm thích ứng với giống nuôi cấy tế bào được sử dụng. Hiệu giá là  $2,15 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/ml. Lợn con thuộc các nhóm 2 và 3 được chủng qua đường miệng. Trong trường hợp này, mỗi lợn con được nhận 1 ml virut gốc được pha loãng với tỷ lệ 1:10 (hiệu giá  $2,15 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>) bằng cách sử dụng các xy lanh 2 ml.

Lợn con nhóm 1 được chủng giả được qua đường miệng bằng cách sử dụng 1 ml môi trường nuôi cấy tế bào trong các xy lanh 2 ml.

Trong toàn bộ quá trình thử nghiệm, các mẫu phết trực tràng (các mẫu phết tron COPAN không chứa môi trường) được lấy vào ngày chủng và vào ngày 1 đến 10 sau khi chủng (pi) cũng như vào ngày 14, 17 và 20/21 sau khi chủng của tất cả các động vật để phân tích RT-qPCR. Các mẫu phết trực tràng bổ sung được lấy từ 4 lợn con của mỗi lợn nái trước khi chủng và hai ngày sau khi thử thách để xét nghiệm vi khuẩn học. Ngoài ra, các dấu hiệu lâm sàng chỉ thị PED được ghi lại hàng ngày bằng cách sử dụng hệ chấm điểm tích lũy chuẩn hóa đã thiết lập (xem dưới đây). Các mẫu máu được lấy vào ngày chủng và vào ngày 14 và 20/21 pi (kết thúc thử nghiệm) hoặc vào ngày bị giết một cách nhẹ nhàng hoặc ngày chết của động vật tương ứng.

Theo dõi lâm sàng

Điểm lâm sàng tích lũy đã thiết lập được sử dụng để theo dõi hàng ngày đối với các dấu hiệu lâm sàng chỉ thị PED (xem bảng dưới đây).

| Điểm số | Động thái chung                        | Hấp thu thức ăn/bú sữa                                   | Triệu chứng dạ dày ruột |
|---------|----------------------------------------|----------------------------------------------------------|-------------------------|
| 0       | Nhanh nhẹn, chú ý, không có bất thường | Bú khỏe, dạ dày đầy thức ăn, hấp thu thức ăn cho lợn con | Phân sinh lý            |

|   |                                                                           |                                                                                       |                                                            |
|---|---------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| 1 | Suy yếu nhẹ                                                               | Bú chậm, ít hứng thú với thức ăn cho lợn con                                          | Phân nhão, nôn                                             |
| 2 | Suy yếu, tách khỏi nhóm, phát ra tiếng (kêu rên)                          | Hấp thu thức ăn miễn cưỡng, ít hứng thú với việc bú sữa/thức ăn cho lợn con, sườn hõm | Phân lỏng, vùng hậu môn đỏ, nôn                            |
| 3 | Nằm nghiêng một bên, dấu hiệu mất nước nghiêm trọng, nhiệt độ cơ thể thấp | Chán ăn tổng thể, giảm sản lượng sữa của lợn nái                                      | Phân lỏng có máu hoặc fibrin, vùng hậu môn đỏ ửng, nôn mửa |

Bảng 1: Điểm số lâm sàng tích lũy về các dấu hiệu lâm sàng chỉ thị PED

#### Chuẩn bị mẫu và chiết axit nucleic

Các mẫu phết trực tràng được ngâm trong 1 ml môi trường Eagle được cải biến của Dulbecco và được ủ trong 1 giờ nhiệt độ trong phòng. ARN virus được chiết bằng kit QIAmp ViralRNA Mini (Qiagen) hoặc NucleoMagVet kết hợp với nền chiết KingFisher. ARN được lưu giữ ở -20°C cho đến khi sử dụng tiếp.

Các mẫu máu được ly tâm ở 2031 x g trong 20 phút ở nhiệt độ trong phòng để thu được huyết thanh. Huyết thanh thu được được chia thành các phần phân ước và được bảo quản ở -20°C.

#### Phát hiện virus

Để phát hiện sự phát tán PEDV, hệ RT-qPCR hướng đích gen S của PEDV được sử dụng như đã mô tả trước đây (Stadler et al., BMC Vet Res. 11:142 (2015)). Các mẫu được lấy vào ngày từ 0 đến 7 dpi và vào ngày 10 và 20/21 dpi được kiểm tra hệ gen PEDV. Lượng bản sao hệ gen/μl được tính toán bằng cách sử dụng tiêu chuẩn nội bộ.

#### Phát hiện kháng thể

ELISA gián tiếp thương mại (INgezim PEDV, INGENASA, Madrid, Spain) được thực hiện với tất cả các huyết thanh theo hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất.

#### Vi khuẩn học

Mẫu phết phân của bốn lợn con cho mỗi lứa đẻ được lấy vào ngày 0 và ngày 2 dpi để dùng cho vi khuẩn học phân biệt.

#### Thống kê

Kiểm định Shapiro-Wilk được sử dụng để kiểm định tính chuẩn tắc và kiểm định phi tham số tổng sắp hạng Mann-Whitney được thực hiện khi được cài đặt trong gói phần mềm. Ý nghĩa thống kê được kiểm tra bằng phần mềm SigmaPlot.

Kết quả

Phát hiện kháng thể trong huyết thanh:

Tất cả các lợn con thuộc nhóm CDV thể hiện kết quả dương tính trong thử nghiệm ELISA (phát hiện kháng thể kháng protein gai của PEDV) trước khi chủng thử thách do hấp thu sữa non chứa kháng thể, trong khi tất cả các động vật thuộc nhóm đối chứng dương và đối chứng âm đã thể hiện kết quả âm tính rõ ràng.

Vào ngày 14 dpi toàn bộ lợn con trừ ba lợn con trong nhóm đối chứng dương đã chuyển đảo huyết thanh, trong khi toàn bộ động vật trong nhóm vaccin vẫn thể hiện lượng IgG đặc hiệu PEDV cao trong các mẫu huyết thanh.

Tại thời điểm kết thúc thử nghiệm toàn bộ lợn con thuộc nhóm CDV và nhóm đối chứng dương đã thể hiện kết quả dương tính mạnh trong xét nghiệm ELISA. Không có động vật nào trong nhóm đối chứng âm chuyển đổi huyết thanh trong toàn bộ quá trình thử nghiệm.

Trong một nghiên cứu khác, cũng thấy rằng các kết quả kháng thể tương ứng đạt được tương tự như vậy khi các lợn nái mẹ chỉ được chủng ngừa hai lần qua đường trong mũi.

Vi khuẩn học

Mẫu phết phân được lấy vào các ngày 0 và 2 dpi không thể hiện vi khuẩn gây bệnh bất kỳ. Hệ vi khuẩn không trải qua sự thay đổi đáng kể khi gây nhiễm.

#### Các dấu hiệu lâm sàng

Lợn con thuộc nhóm đối chứng dương (nhóm 2) thể hiện rõ ràng các dấu hiệu lâm sàng chỉ thị PEDV trong vòng 7 ngày bắt đầu bằng việc nôn 24 giờ pi sau đó là tiêu chảy. 8 trong số 26 lợn con phải được trợ tử do mất nước nghiêm trọng và các giá trị điểm số lâm sàng trên 6 (điểm cuối nhân đạo). Các dấu hiệu lâm sàng đầu tiên chỉ thị PEDV là phát hiện được lúc 36 giờ sau khi chủng.

Tổng cộng, các dấu hiệu lâm sàng của lợn con được chủng ngừa vector CDV và được thử thách PEDV (nhóm 3) tốt hơn về động thái chung và chỉ 2 trong số 20 (10%) lợn thuộc nhóm 3 phải được trợ tử do mất nước nghiêm trọng và các giá trị điểm số lâm sàng trên 6 (so với 31% lợn con thuộc nhóm 2).

Các động vật trong nhóm đối chứng âm vẫn khỏe mạnh trong toàn bộ thử nghiệm.

#### Sự phát tán virus

Sự khác biệt rõ ràng về phát tán virus có thể được phát hiện giữa các nhóm được thử thách. Vào ngày 1 sau khi chủng tất cả các lợn con được thử thách dương tính với hệ gen virus trong mẫu phết trực tràng, nhưng các động vật trong nhóm được chủng ngừa CDV-PEDV đã thể hiện số lượng bản sao hệ gen PEDV thấp hơn đáng kể (giá trị CT trung bình là 32,79), so với nhóm thử thách (giá trị CT trung bình là 26,65).

Tương tự, trong khi năm ngày tiếp theo sau khi chủng, tải lượng hệ gen trong mẫu phết trực tràng của nhóm CDV khá tương đồng với nhóm đối chứng dương, bắt đầu từ ngày 7 sau khi chủng lượng hệ gen virus có thể phát hiện được đã giảm xuống dưới mức ngưỡng ở lợn con được bảo vệ bởi các lợn nái đã được chủng ngừa, trong khi tất cả các động vật trong nhóm đối chứng dương vẫn phát tán PEDV.

Hệ gen PEDV không thể được phát hiện trong mẫu phết của nhóm đối chứng âm.

Tóm lại, kết quả nghiên cứu là lợn con được sinh ra từ lợn nái đã chủng ngừa bằng vaccin tái tổ hợp CDV PEDV-Spike thể hiện sự giảm các dấu hiệu lâm sàng, so với nhóm đối chứng dương, và cụ thể là, đã thấy được sự cải thiện lớn về tỷ lệ tử vong/khả năng chết của lợn con. Hơn nữa, sự phát tán virus sau khi thử thách PEDV được giảm đáng kể.

Bên cạnh đó, nghiên cứu trên động vật tương ứng với nghiên cứu hiệu lực vaccin mô tả trên đây được thực hiện, trong đó khung CDV thu được từ chủng vaccin Lederle (xem ví dụ 1) với đoạn chèn mã hóa protein gai của PEDV nêu trong SEQ ID NO:40 giữa gen P và gen M được cho dùng 2 lần (5 tuần trước khi đẻ một lứa và 2 tuần trước khi đẻ một lứa), và trong đó chủng thực địa PEDV kiểu gen 2a có độc tính cao được sử dụng để thử thách. Các lợn con sinh bởi lợn nái đã chủng ngừa bằng vaccin tái tổ hợp thể hiện tỷ lệ tử vong giảm hoặc giảm dấu hiệu lâm sàng, so với đối chứng thử thách.

### Ví dụ 5

Nghiên cứu trên động vật này, trong đó khung CDV thu được từ chủng vaccin Lederle (xem các ví dụ 1 và 4) với đoạn chèn mã hóa protein gai của PEDV nêu trong SEQ ID NO:20 giữa gen P và gen M được thử nghiệm dưới dạng vaccin vectơ (sau đây gọi là “vaccin CDV\_PEDV-G2a” hoặc vaccin vectơ “CDV PEDV-G2a Spike”, tương ứng), bao gồm hai mươi (20) lợn nái và con của chúng.

Chỉ các động vật được xem là âm tính PEDV theo qRT-PCR và ELISA được đưa vào nghiên cứu.

Ba nhóm điều trị (xem dưới đây) gồm các động vật được phân chia ngẫu nhiên:

Nhóm 1 (đối chứng âm nghiêm ngặt): Bốn lợn nái (gọi là 1-4), không được chủng ngừa;

Nhóm 2 (đối chứng thử thách): Tám lợn nái (gọi là 5-12), không được chủng ngừa;

Nhóm 3 (CDV\_PEDV-G2a-Spike): Tám lợn nái (gọi là 13-20), được chủng ngừa bằng vaccin vectơ CDV PEDV-G2a-Spike.

Việc chủng ngừa 8 lợn nái thuộc nhóm 3 được thực hiện ở 5 tuần trước khi đẻ một lứa (DO) và 2 tuần trước khi đẻ một lứa (D21) trong nghiên cứu, trong đó hiệu giá gốc vaccin CDV\_PEDV-G2a Spike, được xác định bằng cách xác định hiệu giá điểm cuối, là  $2,57 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/ml. Ở mỗi lần chủng ngừa, các lợn nái được nhận 4mL of vaccin trong mũi (2mL mỗi bên lỗ mũi).

Các lợn con được sinh ra bởi lợn nái thuộc nhóm 1 (tổng số 41 lợn con) không được thử thách (đối chứng nghiêm ngặt). Các lợn con được sinh ra bởi lợn nái thuộc nhóm 2 (tổng số 81 lợn con), và nhóm 3 (tổng số 83 lợn con) được thử thách qua đường miệng bằng chủng thực địa PEDV độc lực cao thuộc G2a kiểu gen với liều  $2,0 \times 10^3$  TCID<sub>50</sub>/2mL liều (1mL trong mũi + 1mL qua đường miệng) ở 3-7 ngày tuổi.

Trong toàn bộ quá trình thử nghiệm, mẫu phết trực tràng được lấy vào ngày trước khi chủng và vào ngày 1, 3, 7 và 14 sau khi chủng (sau khi chủng virus thử thách).

Chuẩn bị mẫu và chiết axit nucleic

Các mẫu phết trực tràng được ngâm trong 2 ml môi trường thiết yếu tối thiểu (MEM) khi được thu gom và bảo quản ở  $-70^{\circ}\text{C}$  trước khi xử lý. Mẫu được xử lý bằng cách rung lắc trong 10 giây tiếp theo là ly tâm trong 10 phút ở  $1,500 \times g$  ở  $4^{\circ}\text{C}$ . Sau khi xử lý,  $100\mu\text{l}$ /mẫu được sử dụng để chiết ARN virus bằng hệ chiết BS96 Vet 100 BioSprint với kit BioSprint One-For-All Vet (Qiagen). ARN này được bảo quản ở  $-20^{\circ}\text{C}$  đến khi sử dụng tiếp.

Các mẫu máu được ly tâm ở  $1960 \times g$  trong 20 phút ở nhiệt độ trong phòng để thu huyết thanh. Huyết thanh thu được được chia thành các phần phân ước và được bảo quản ở  $-70^{\circ}\text{C}$ .

#### Phát hiện virus

Để phát hiện sự phát tán PEDV, hệ RT-qPCR nội bộ hướng đích gen S- của PEDV được sử dụng: Kit RT-PCR định lượng một bước (kit iTaq Universal One-Step RT-PCR; BioRad, cat no. 1725140) được sử dụng trong thử nghiệm. RT-PCR thời gian thực được thực hiện trong  $25\mu\text{l}$  hỗn hợp phản ứng chứa  $2\mu\text{l}$  axit nucleic toàn phần chiết xuất,  $0,75\mu\text{l}$  mẫu dò ( $4\mu\text{M}$ ),  $0,5\mu\text{l}$  của mỗi đoạn mồi ( $10\mu\text{M}$ ),  $12,5\mu\text{l}$  hỗn hợp 2X RT-PCR,  $0,5\mu\text{l}$  iScript™ transcriptaza ngược và  $8,25\mu\text{l}$  nước xử lý DEPC. Xem bảng 2 sau đây cho đoạn mồi, mẫu dò và các trình tự ultrame. Phản ứng diễn ra bằng hệ thống phát hiện PCR thời gian thực CFX96 (BioRad) trong các điều kiện sau: phiên mã ngược ban đầu ở  $50^{\circ}\text{C}$  trong 30 phút, sau đó biến tính ban đầu ở  $95^{\circ}\text{C}$  trong 5 phút, 40 chu kỳ biến tính ở  $95^{\circ}\text{C}$  trong 15 giây và ủ và kéo dài mạch ở  $57^{\circ}\text{C}$  trong 30 giây. Để tạo ra dữ liệu định lượng, ultrame PEDV được đưa vào mỗi lần chạy (Integrated DNA Technologies). Ultrame đông khô ( $4\text{nmol}$ ) được tạo huyền phù lại trong nước vô trùng được xử lý DEPC không chứa nucleaza để tạo ra nồng độ gốc là  $1,0\text{E}+10$  bản sao hệ gen trong một  $\mu\text{l}$  ( $\text{gc}/\mu\text{l}$ ). Từ ultrame gốc, các thể pha loãng hàng loạt 10 lần từ  $1,0\text{E}+08$  đến  $1,0\text{E}+01$  được tạo ra trong nước được xử lý DEPC. Nồng độ được xác nhận bằng thử nghiệm qubit dsDNA HS trước khi sử dụng. Dữ liệu quang học được phân tích bằng phần mềm CFX Manager. Đối với mỗi một lần xác định, các đường ngưỡng được tính toán một cách tự động sử dụng thiết lập hồi quy cho phương thức xác định ngưỡng chu kỳ ( $\text{Ct}$ ). Phép trừ tại mốc cơ sở được thực hiện một cách tự động sử dụng phương thức trừ tại mốc cơ sở. Đường cong với các giá trị tận cùng mốc cơ sở nhỏ hơn 10 được hiệu chỉnh theo cách thủ công.

| Mẫu dò/đoạn<br>mỗi | Trình tự                                                                                                                                                                                                        |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 0086-001-1 Pr      | 56-FAM/ACAGAGCCTGTGTTGGTGTATAGTAACAT/3BHQ_1<br>(SEQ ID NO:41)                                                                                                                                                   |
| 0089-065-1 F       | TATAGTGGGTGTTATTTCTAGTT (SEQ ID NO:42)                                                                                                                                                                          |
| 0086-001-2 R       | GCCAATACTGCCAGATTACA (SEQ ID NO:43)                                                                                                                                                                             |
| PEDV-ultrame       | 5'/TGATGATATAGTGGGTGTTATTTCTAGTTTGTCTAGCTCC<br>ACTTTTAACAGTACTAGGGAGTTGCCTGGTTTCTTCTACCAT<br>TCTAATGATGGCTCTAATTGTACAGAGCCTGTGTTGGTGTAT<br>AGTAACATAGGTGTTTGTAAATCTGGCAGTATTGGCTATGT<br>CCCAT/3' (SEQ ID NO:44) |

Bảng 2: Mẫu dò (Pr), đoạn mỗi (F/R), và các trình tự ultrame được sử dụng cho hệ RT-qPCR nội bộ.

#### Phát hiện kháng thể

Thử nghiệm CCIF được phát triển nội bộ được sử dụng để thử nghiệm mẫu huyết thanh và sữa từ nghiên cứu này: Thử nghiệm phân lập PEDV kiểu đại (nhóm gen 2a) được pha loãng 1:100 vào môi trường sinh trưởng PEDV (MEM + 2,5% HEPES + 0,3% canh thang Tryptoza phosphat + 0,02% nấm men + 10µg/mL trypsin). Virus được pha loãng (100µL/giếng) được cấy vào đĩa 96 giếng với tế bào VERO hai ngày tuổi. Trước khi gây nhiễm, môi trường sinh trưởng tế bào được loại bỏ khỏi các đĩa và chúng được rửa hai lần bằng 100µL môi trường sinh trưởng PEDV. Các đĩa được ủ trong 24 giờ ở 37±2°C +CO<sub>2</sub> (4-6%). Sau khi ủ, dịch nổi được gạn ra và các đĩa được rửa hai lần bằng 200µL/giếng 1X PBS. Để cố định, 200µL/giếng etanol được bổ sung vào. Các đĩa được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút, làm khô bằng không khí, sau đó bảo quản ở -20°C đến khi sử dụng. Trước khi sử dụng trong thử nghiệm, các đĩa được loại nước với 200µl/giếng 1X PBS (Gibco) trong 10 phút ở nhiệt độ trong phòng và phong bế bằng 100µl/giếng dung dịch đệm (1X PBS + 1% huyết thanh dê bình thường + 0,1% triton X) trong 15 phút ở 37°C. Các thể pha loãng hàng loạt hai lần của mẫu huyết thanh được chuẩn bị trong đệm pha loãng (1X PBS + 5%BSA + 1% huyết thanh dê bình thường + 0,1% titron-X 100) chứa thể pha loãng 1:1000 của kháng thể Mab kháng PEDV (Median diagnostics). Các mẫu được pha loãng (50µl/giếng) được bổ sung vào các đĩa đã chuẩn bị và ủ ở 37°C trong 1 giờ. Sau khi ủ, các đĩa được rửa ba lần bằng 200µl/giếng 1X PBS. Tổng số 50µl/giếng của kháng thể thứ cấp đã pha loãng [IgG dê kháng chuột Alexa594 (Fisher, thể pha loãng 1:500); IgG dê kháng lợn được đánh dấu FITC (BioRad, thể pha

loãng 1:500); Hoechst 33342 (Fisher, thể pha loãng 1:1000)] sau đó được bổ sung vào từng đĩa và ủ ở 37°C trong 1 giờ. Sau khi ủ, các đĩa được rửa ba lần bằng 200 $\mu$ l/giếng 1X PBS. Huỳnh quang được quan sát trong đó các tế bào nhiễm PEDV liên kết Mab3F12 thể hiện huỳnh quang đỏ đặc hiệu. Sự đồng định khu của huỳnh quang xanh cho thấy liên kết của IgG lợn. Độ pha loãng cao nhất trong đó huỳnh quang xanh đặc hiệu được phát hiện là tương đương với hiệu giá IgG.

### Kết quả

#### Tỷ lệ tử vong

Trong nhóm 1 (đối chứng nghiêm ngặt) 40 lợn sống sót, trong nhóm 2 (đối chứng thử thách) 16 lợn sống sót, và trong nhóm 3 (được chủng ngừa protein gai CDV-PEDV-G2a) 34 lợn sống sót, dẫn đến tỷ lệ tử vong trung bình lần lượt là 2% (nhóm 1), 80% (nhóm 2), và 59% (nhóm 3).

#### Đáp ứng kháng thể

Đáp ứng kháng thể đặc hiệu PEDV sau khi thử thách cho thấy rằng mức hiệu giá kháng thể CCIF trung bình trong huyết thanh và sữa lợn nái là cao hơn ở nhóm được chủng ngừa protein gai CDV-PEDV-G2a so với nhóm nhóm 2 (đối chứng thử thách). Điều này cho thấy rằng các lợn nái được chủng ngừa đáp ứng mạnh bằng cách tăng cường mức IgG trong sữa và huyết thanh sau khi tiếp xúc với virus từ lợn con bị nhiễm sau khi thử thách. So với mức này, hiệu giá kháng thể của lợn nái nhóm đối chứng thử thách, chỉ nhiễm PEDV qua tiếp xúc với lợn con được thử thách (và phân của chúng), là thấp hơn đáng kể.

#### Sự phát tán virus

Vào ngày 3 sau khi chủng virus thử thách, tải lượng ARN tương đối giống được phát hiện trong nhóm được chủng ngừa và không được chủng ngừa, đạt 9,2 và 9,8 log<sub>10</sub> số bản sao hệ gen PEDV trung bình nhóm lần lượt đối với nhóm được chủng ngừa protein gai CDV-PEDV-G2a và nhóm đối chứng thử thách. Vào D48 (7 ngày sau khi chủng) và D55 (14 ngày sau khi chủng), log<sub>10</sub> số bản sao hệ gen PEDV trung bình của nhóm được chủng protein gai CDV-PEDV-G2a lần lượt là 3,2 và 2,0 log<sub>10</sub>, trong khi nhóm đối chứng thử thách lần lượt là 5,5 và 3,9 log<sub>10</sub>, cho thấy sự giảm lần lượt 2,3 và 1,9 log vào các ngày 7 và 14 sau khi chủng. Mặc dù không thực hiện theo dõi sự phát

tán trong thời gian dài, xu hướng động lực học của sự phát tán được theo dõi vào ngày 7 và ngày 14 sau khi chủng virus thử thách rõ ràng cho thấy thời gian phát tán được rút ngắn ở các động vật được chủng ngừa theo kết quả được mô tả trên đây trong ví dụ 4.

Không thể phát hiện được hệ gen PEDV trong mẫu phết của nhóm đối chứng âm nghiêm ngặt.

Kết luận, kết quả của nghiên cứu là lợn con được sinh ra bởi hoặc được cho bú bởi lợn nái được chủng ngừa vắc xin tái tổ hợp gai PEDV-G2a CDV thể hiện sự giảm đáng kể tỷ lệ tử vong, so với lợn con của nhóm đối chứng, khi được thử thách bằng chủng PEDV độc lực cao. Tương tự, các lợn con này nhận kháng thể IgG bảo vệ khỏi PEDV từ sữa, thông qua sự truyền kháng thể của mẹ trong những ngày đầu sau khi sinh, điều này cho thấy sự giảm đáng kể sự phát tán virus sau khi thử thách, là thông số dịch tễ học quan trọng, vào các ngày 7 và 14 sau khi nhiễm.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn (PEDV) được chọn từ nhóm gồm (a) và (b) sau đây:

(a) protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV có ít nhất một đột biến, trong đó

gốc leuxin ở vị trí axit amin số 900 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin, và/hoặc

gốc leuxin ở vị trí axit amin số 901 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin,

và trong đó

gốc tyrosin ở vị trí axit amin số 1377 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc tyrosin, và/hoặc

gốc histidin ở vị trí axit amin số 1384 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc histidin,

trong đó việc đánh số các vị trí axit amin chỉ trình tự axit amin protein S G2a của PEDV kiểu đại có SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:39,

(b) Protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV có ít nhất một đột biến, trong đó

gốc leuxin ở vị trí axit amin số 897 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin, và/hoặc

gốc leuxin ở vị trí axit amin số 898 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc leuxin,

và trong đó

gốc tyrosin ở vị trí axit amin số 1374 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc tyrosin, và/hoặc

gốc histidin ở vị trí axit amin số 1381 được thay thế bằng gốc axit amin không phải là gốc histidin,

trong đó việc đánh số các vị trí axit amin chỉ trình tự axit amin của protein S G2b của PEDV kiểu đại có SEQ ID NO:3.

2. Phân tử axit nucleic theo điểm 1, trong đó gốc axit amin không phải là gốc leuxin được chọn từ nhóm gồm gốc alanin, gốc glyxin, gốc isoleuxin, gốc methionin và gốc valin.
3. Phân tử axit nucleic theo điểm 1, trong đó cách đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin RSXI<sub>1</sub>EDLLF (SEQ ID NO:4) của protein S G của PEDV kiểu đại, trong đó R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 và LL là các vị trí axit amin 900 và 901 trong protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV hoặc LL là các vị trí axit amin 897 và 898 trong protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV.
4. Phân tử axit nucleic mã hóa protein gai (S) của virus gây dịch bệnh tiêu chảy ở lợn (PEDV) chứa trình tự axit amin  
 RSX<sub>1</sub>IEDX<sub>2</sub>X<sub>3</sub> (SEQ ID NO:1),  
 trong đó R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV, X<sub>1</sub> có thể là gốc axit amin bất kỳ, và trong đó  
 X<sub>2</sub> là gốc axit amin không phải là gốc leuxin và X<sub>3</sub> là gốc axit amin không phải là gốc leuxin;  
 trong đó protein S của PEDV còn chứa trình tự axit amin  
 X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>FX<sub>4</sub>KX<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub> (SEQ ID NO:6),  
 trong đó X<sub>8</sub> là gốc axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV hoặc gốc axit amin ở vị trí số -2 so với vị trí axit amin đầu tận cùng C của protein S của PEDV,  
 X<sub>2</sub> đến X<sub>5</sub>, X<sub>7</sub> và X<sub>8</sub> có thể là gốc axit amin bất kỳ, và trong đó  
 X<sub>1</sub> là gốc axit amin không phải là gốc tyrosin và X<sub>6</sub> là gốc histidin.
5. Phân tử axit nucleic theo điểm 1 hoặc 4, trong đó protein S của PEDV chứa trình tự axit amin RSXI<sub>1</sub>EDAAF (SEQ ID NO:5), trong đó R là gốc arginin bảo toàn ở vị trí phân cắt S1/S2 của protein S của PEDV và AA là các vị trí axit amin 900 và 901 trong protein S kiểu gen 2a (G2a) của PEDV hoặc AA là các vị trí axit amin 897 và 898 trong protein S kiểu gen 2b (G2b) của PEDV.
6. Phân tử axit nucleic theo điểm 5, trong đó

gốc axit amin không phải là gốc tyrosin được chọn từ nhóm gồm gốc alanin, gốc glyxin, gốc leuxin, gốc isoleuxin, gốc methionin và gốc valin, và/hoặc gốc axit amin không phải là gốc histidin là gốc arginin.

7. Phân tử axit nucleic theo điểm 1 hoặc 4, trong đó protein S của PEDV:

- i) (a) chứa hoặc bao gồm trình tự axit amin có ít nhất 90%, ít nhất 91%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,1%, ít nhất 99,2%, ít nhất 99,3%, ít nhất 99,4%, ít nhất 99,5%, ít nhất 99,6%, ít nhất 99,7%, ít nhất 99,8%, hoặc ít nhất 99,9% trình tự đồng nhất với trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 40, hoặc  
 (b) chứa hoặc bao gồm trình tự axit amin có ít nhất 90%, ít nhất 91%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,1%, ít nhất 99,2%, ít nhất 99,3%, ít nhất 99,4%, ít nhất 99,5%, ít nhất 99,6%, ít nhất 99,7%, ít nhất 99,8%, hoặc ít nhất 99,9% trình tự đồng nhất với trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13, 14; và/hoặc
- ii) (a) được mã hóa bởi trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin có ít nhất 90%, ít nhất 91%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,1%, ít nhất 99,2%, ít nhất 99,3%, ít nhất 99,4%, ít nhất 99,5%, ít nhất 99,6%, ít nhất 99,7%, ít nhất 99,8%, hoặc ít nhất 99,9% trình tự đồng nhất với trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 15, 16, 17, 18, 19, 20, 40, hoặc  
 (b) được mã hóa bởi trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin có ít nhất 90%, ít nhất 91%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,1%, ít nhất 99,2%, ít nhất 99,3%, ít nhất 99,4%, ít nhất 99,5%, ít nhất 99,6%, ít nhất 99,7%, ít nhất 99,8%, hoặc ít nhất 99,9% trình tự đồng nhất với trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13, 14.

8. Protein (S) của PEDV được mã hóa bởi phân tử axit nucleic theo điểm 1 hoặc 4.
9. Phân tử axit nucleic theo điểm 1 hoặc 4, trong đó phân tử axit nucleic này mã hóa protein S của PEDV là tái tổ hợp.
10. Vectơ chứa phân tử axit nucleic theo điểm 1 hoặc 4.
11. Chế phẩm sinh miễn dịch chứa phân tử axit nucleic mã hóa protein S của PEDV theo điểm 1 hoặc 4.

## DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH

<120> Phân tử axit nucleic, protein gai cải biến của virus gây dịch bệnh tiêu chảy ở lợn (PEDV) được mã hóa bởi phân tử axit nucleic này, và chế phẩm sinh miễn dịch chứa chúng

<130> 01-3332

<160> 44

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự vùng dung hợp bao gồm X1, X2, và X3

<220>

<221> Biến thể

<222> (3)..(3)

<223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>

<221> Biến thể

<222> (7)..(7)

<223> X ở gốc số 7 là gốc leuxin, hoặc X ở gốc số 7 là gốc axit amin không phải là gốc leuxin

<220>

<221> Biến thể

<222> (8)..(8)

<223> X ở gốc số 8 là gốc leuxin, hoặc X ở gốc số 8 là gốc axit amin không phải là gốc leuxin

<400> 1

Arg Ser Xaa Ile Glu Asp Xaa Xaa  
1 5

<210> 2

<211> 1388

<212> PRT

<213> virus gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn

<400> 2

Met Lys Ser Leu Thr Tyr Phe Trp Leu Phe Leu Pro Val Leu Ser Thr  
1 5 10 15

Leu Ser Leu Pro Gln Asp Val Thr Arg Cys Ser Ala Asn Thr Asn Phe  
20 25 30

Arg Arg Phe Phe Ser Lys Phe Asn Val Gln Ala Pro Ala Val Val Val  
35 40 45

Leu Gly Gly Tyr Leu Pro Ile Gly Glu Asn Gln Gly Val Asn Ser Thr  
 50 55 60

Trp Tyr Cys Ala Gly Gln His Pro Thr Ala Ser Gly Val His Gly Ile  
 65 70 75 80

Phe Val Ser His Ile Arg Gly Gly His Gly Phe Glu Ile Gly Ile Ser  
 85 90 95

Gln Glu Pro Phe Asp Pro Ser Gly Tyr Gln Leu Tyr Leu His Lys Ala  
 100 105 110

Thr Asn Gly Asn Thr Asn Ala Thr Ala Arg Leu Arg Ile Cys Gln Phe  
 115 120 125

Pro Ser Ile Lys Thr Leu Gly Pro Thr Ala Asn Asn Asp Val Thr Thr  
 130 135 140

Gly Arg Asn Cys Leu Phe Asn Lys Ala Ile Pro Ala His Met Ser Glu  
 145 150 155 160

His Ser Val Val Gly Ile Thr Trp Asp Asn Asp Arg Val Thr Val Phe  
 165 170 175

Ser Asp Lys Ile Tyr Tyr Phe Tyr Phe Lys Asn Asp Trp Ser Arg Val  
 180 185 190

Ala Thr Lys Cys Tyr Asn Ser Gly Gly Cys Ala Met Gln Tyr Val Tyr  
 195 200 205

Glu Pro Thr Tyr Tyr Met Leu Asn Val Thr Ser Ala Gly Glu Asp Gly  
 210 215 220

Ile Ser Tyr Gln Pro Cys Thr Ala Asn Cys Ile Gly Tyr Ala Ala Asn  
 225 230 235 240

Val Phe Ala Thr Glu Pro Asn Gly His Ile Pro Glu Gly Phe Ser Phe  
 245 250 255

Asn Asn Trp Phe Leu Leu Ser Asn Asp Ser Thr Leu Val His Gly Lys  
 260 265 270

Val Val Ser Asn Gln Pro Leu Leu Val Asn Cys Leu Leu Ala Ile Pro  
 275 280 285

Lys Ile Tyr Gly Leu Gly Gln Phe Phe Ser Phe Asn Gln Thr Ile Asp  
 290 295 300

Gly Val Cys Asn Gly Ala Ala Val Gln Arg Ala Pro Glu Ala Leu Arg  
 305 310 315 320

Phe Asn Ile Asn Asp Thr Ser Val Ile Leu Ala Glu Gly Ser Ile Val  
 325 330 335

Leu His Thr Ala Leu Gly Thr Asn Phe Ser Phe Val Cys Ser Asn Ser  
 340 345 350

Ser Asn Pro His Leu Ala Thr Phe Ala Ile Pro Leu Gly Ala Thr Gln  
 355 360 365

Val Pro Tyr Tyr Cys Phe Leu Lys Val Asp Thr Tyr Asn Ser Thr Val  
 370 375 380

Tyr Lys Phe Leu Ala Val Leu Pro Pro Thr Val Arg Glu Ile Val Ile  
 385 390 395 400

Thr Lys Tyr Gly Asp Val Tyr Val Asn Gly Phe Gly Tyr Leu His Leu  
 405 410 415

Gly Leu Leu Asp Ala Val Thr Ile Asn Phe Thr Gly His Gly Thr Asp  
 420 425 430

Asp Asp Val Ser Gly Phe Trp Thr Ile Ala Ser Thr Asn Phe Val Asp  
 435 440 445

Ala Leu Ile Glu Val Gln Gly Thr Ala Ile Gln Arg Ile Leu Tyr Cys  
 450 455 460

Asp Asp Pro Val Ser Gln Leu Lys Cys Ser Gln Val Ala Phe Asp Leu  
 465 470 475 480

Asp Asp Gly Phe Tyr Pro Ile Ser Ser Arg Asn Leu Leu Ser His Glu  
 485 490 495

Gln Pro Ile Ser Phe Val Thr Leu Pro Ser Phe Asn Asp His Ser Phe  
 500 505 510

Val Asn Ile Thr Val Ser Ala Ser Phe Gly Gly His Ser Gly Ala Asn  
 515 520 525

Leu Ile Ala Ser Asp Thr Thr Ile Asn Gly Phe Ser Ser Phe Cys Val  
 530 535 540

Asp Thr Arg Gln Phe Thr Ile Ser Leu Phe Tyr Asn Val Thr Asn Ser  
 545 550 555 560

Tyr Gly Tyr Val Ser Lys Ser Gln Asp Ser Asn Cys Pro Phe Thr Leu  
 565 570 575  
 Gln Ser Val Asn Asp Tyr Leu Ser Phe Ser Lys Phe Cys Val Ser Thr  
 580 585 590  
 Ser Leu Leu Ala Ser Ala Cys Thr Ile Asp Leu Phe Gly Tyr Pro Glu  
 595 600 605  
 Phe Gly Ser Gly Val Lys Phe Thr Ser Leu Tyr Phe Gln Phe Thr Lys  
 610 615 620  
 Gly Glu Leu Ile Thr Gly Thr Pro Lys Pro Leu Glu Gly Val Thr Asp  
 625 630 635 640  
 Val Ser Phe Met Thr Leu Asp Val Cys Thr Lys Tyr Thr Ile Tyr Gly  
 645 650 655  
 Phe Lys Gly Glu Gly Ile Ile Thr Leu Thr Asn Ser Ser Phe Leu Ala  
 660 665 670  
 Gly Val Tyr Tyr Thr Ser Asp Ser Gly Gln Leu Leu Ala Phe Lys Asn  
 675 680 685  
 Val Thr Ser Gly Ala Val Tyr Ser Val Thr Pro Cys Ser Phe Ser Glu  
 690 695 700  
 Gln Ala Ala Tyr Val Asp Asp Asp Ile Val Gly Val Ile Ser Ser Leu  
 705 710 715 720  
 Ser Ser Ser Thr Phe Asn Ser Thr Arg Glu Leu Pro Gly Phe Phe Tyr  
 725 730 735  
 His Ser Asn Asp Gly Ser Asn Cys Thr Glu Pro Val Leu Val Tyr Ser  
 740 745 750  
 Asn Ile Gly Val Cys Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Val Pro Ser Gln  
 755 760 765  
 Ser Gly Gln Val Lys Ile Ala Pro Thr Val Thr Gly Asn Ile Ser Ile  
 770 775 780  
 Pro Thr Asn Phe Ser Met Ser Ile Arg Thr Glu Tyr Leu Gln Leu Tyr  
 785 790 795 800  
 Asn Thr Pro Val Ser Val Asp Cys Ala Thr Tyr Val Cys Asn Gly Asn  
 805 810 815

Ser Arg Cys Lys Gln Leu Leu Thr Gln Tyr Thr Ala Ala Cys Lys Thr  
820 825 830

Ile Glu Ser Ala Leu Gln Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ser Val Glu Val  
835 840 845

Asn Ser Met Leu Thr Ile Ser Glu Glu Ala Leu Gln Leu Ala Thr Ile  
850 855 860

Ser Ser Phe Asn Gly Asp Gly Tyr Asn Phe Thr Asn Val Leu Gly Val  
865 870 875 880

Ser Val Tyr Asp Pro Ala Ser Gly Arg Val Val Gln Lys Arg Ser Phe  
885 890 895

Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Val Thr Asn Gly Leu Gly Thr  
900 905 910

Val Asp Glu Asp Tyr Lys Arg Cys Ser Asn Gly Arg Ser Val Ala Asp  
915 920 925

Leu Val Cys Ala Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Met Val Leu Pro Gly Val  
930 935 940

Val Asp Ala Glu Lys Leu His Met Tyr Ser Ala Ser Leu Ile Gly Gly  
945 950 955 960

Met Val Leu Gly Gly Phe Thr Ser Ala Ala Ala Leu Pro Phe Ser Tyr  
965 970 975

Ala Val Gln Ala Arg Leu Asn Tyr Leu Ala Leu Gln Thr Asp Val Leu  
980 985 990

Gln Arg Asn Gln Gln Leu Leu Ala Glu Ser Phe Asn Ser Ala Ile Gly  
995 1000 1005

Asn Ile Thr Ser Ala Phe Glu Ser Val Lys Glu Ala Ile Ser Gln  
1010 1015 1020

Thr Ser Lys Gly Leu Asn Thr Val Ala His Ala Leu Thr Lys Val  
1025 1030 1035

Gln Glu Val Val Asn Ser Gln Gly Ala Ala Leu Thr Gln Leu Thr  
1040 1045 1050

Val Gln Leu Gln His Asn Phe Gln Ala Ile Ser Ser Ser Ile Asp  
1055 1060 1065

|                                                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------|
| Asp Ile Tyr Ser Arg Leu Asp Ile Leu Ser Ala Asp Val Gln Val<br>1070 1075 1080 |
| Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Ser Ala Leu Asn Ala Phe Val<br>1085 1090 1095 |
| Ala Gln Thr Leu Thr Lys Tyr Thr Glu Val Gln Ala Ser Arg Lys<br>1100 1105 1110 |
| Leu Ala Gln Gln Lys Val Asn Glu Cys Val Lys Ser Gln Ser Gln<br>1115 1120 1125 |
| Arg Tyr Gly Phe Cys Gly Gly Asp Gly Glu His Ile Phe Ser Leu<br>1130 1135 1140 |
| Val Gln Ala Ala Pro Gln Gly Leu Leu Phe Leu His Thr Val Leu<br>1145 1150 1155 |
| Val Pro Ser Asp Phe Val Asp Val Ile Ala Ile Ala Gly Leu Cys<br>1160 1165 1170 |
| Val Asn Asp Glu Ile Ala Leu Thr Leu Arg Glu Pro Gly Leu Val<br>1175 1180 1185 |
| Leu Phe Thr His Glu Leu Gln Asn His Thr Ala Thr Glu Tyr Phe<br>1190 1195 1200 |
| Val Ser Ser Arg Arg Met Phe Glu Pro Arg Lys Pro Thr Val Ser<br>1205 1210 1215 |
| Asp Phe Val Gln Ile Glu Ser Cys Val Val Thr Tyr Val Asn Leu<br>1220 1225 1230 |
| Thr Arg Asp Gln Leu Pro Asp Val Ile Pro Asp Tyr Ile Asp Val<br>1235 1240 1245 |
| Asn Lys Thr Leu Asp Glu Ile Leu Ala Ser Leu Pro Asn Arg Thr<br>1250 1255 1260 |
| Gly Pro Ser Leu Pro Leu Asp Val Phe Asn Ala Thr Tyr Leu Asn<br>1265 1270 1275 |
| Leu Thr Gly Glu Ile Ala Asp Leu Glu Gln Arg Ser Glu Ser Leu<br>1280 1285 1290 |
| Arg Asn Thr Thr Glu Glu Leu Gln Ser Leu Ile Tyr Asn Ile Asn<br>1295 1300 1305 |

Asn Thr Leu Val Asp Leu Glu Trp Leu Asn Arg Val Glu Thr Tyr  
1310 1315 1320

Ile Lys Trp Pro Trp Trp Val Trp Leu Ile Ile Phe Ile Val Leu  
1325 1330 1335

Ile Phe Val Val Ser Leu Leu Val Phe Cys Cys Ile Ser Thr Gly  
1340 1345 1350

Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Cys Phe Ser Gly Cys  
1355 1360 1365

Cys Arg Gly Pro Arg Leu Gln Pro Tyr Glu Val Phe Glu Lys Val  
1370 1375 1380

His Val Gln Cys Gly  
1385

<210> 3  
<211> 1383  
<212> PRT  
<213> virut gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn

<400> 3

Met Lys Ser Leu Asn Tyr Phe Trp Leu Phe Leu Pro Val Leu Ser Thr  
1 5 10 , 15

Leu Ser Leu Pro Gln Asp Val Thr Arg Cys Gln Ser Thr Ile Asn Phe  
20 25 30

Arg Arg Phe Phe Ser Lys Phe Asn Val Gln Ala Pro Ala Val Val Val  
35 40 45

Leu Gly Gly Tyr Leu Pro Ser Met Asn Ser Ser Ser Trp Tyr Cys Gly  
50 55 60

Thr Gly Leu Glu Thr Ala Ser Gly Val His Gly Ile Phe Leu Ser Tyr  
65 70 75 80

Ile Asp Ala Gly Gln Gly Phe Glu Ile Gly Ile Ser Gln Glu Pro Phe  
85 90 95

Asp Pro Ser Gly Tyr Gln Leu Tyr Leu His Lys Ala Thr Asn Gly Asn  
100 105 110

His Asn Ala Ile Ala Arg Leu Arg Ile Cys Gln Phe Pro Asn Asn Lys  
115 120 125

Thr Leu Gly Pro Thr Val Asn Asp Val Thr Thr Gly Arg Asn Cys Leu  
 130 135 140

Phe Asn Lys Ala Ile Pro Ala Tyr Met Gln Asp Gly Lys Asn Ile Val  
 145 150 155 160

Val Gly Ile Thr Trp Asp Asn Asp Arg Val Thr Val Phe Ala Asp Lys  
 165 170 175

Ile Tyr His Phe Tyr Leu Lys Asn Asp Trp Ser Arg Val Ala Thr Arg  
 180 185 190

Cys Tyr Asn Lys Arg Ser Cys Ala Met Gln Tyr Val Tyr Thr Pro Thr  
 195 200 205

Tyr Tyr Met Leu Asn Val Thr Ser Ala Gly Glu Asp Gly Ile Tyr Tyr  
 210 215 220

Glu Pro Cys Thr Ala Asn Cys Ser Gly Tyr Ala Val Asn Val Phe Ala  
 225 230 235 240

Thr Asp Ser Asn Gly His Ile Pro Glu Gly Phe Ser Phe Asn Asn Trp  
 245 250 255

Phe Leu Leu Ser Asn Asp Ser Thr Leu Leu His Gly Lys Val Val Ser  
 260 265 270

Asn Gln Pro Leu Leu Val Asn Cys Leu Leu Ala Ile Pro Lys Ile Tyr  
 275 280 285

Gly Leu Gly Gln Phe Phe Ser Phe Asn Gln Thr Met Asp Gly Val Cys  
 290 295 300

Asn Gly Ala Ala Ala Gln Arg Ala Pro Glu Ala Leu Arg Phe Asn Ile  
 305 310 315 320

Asn Asp Thr Ser Val Ile Leu Ala Glu Gly Ser Ile Val Leu His Thr  
 325 330 335

Ala Leu Gly Thr Asn Leu Ser Phe Val Cys Ser Asn Ser Ser Asp Pro  
 340 345 350

His Leu Ala Thr Phe Thr Ile Pro Leu Gly Ala Thr Gln Val Pro Tyr  
 355 360 365

Tyr Cys Phe Leu Lys Val Asp Thr Tyr Asn Ser Asn Val Tyr Lys Phe  
 370 375 380

Leu Ala Val Leu Pro Pro Thr Val Arg Glu Ile Val Ile Thr Lys Tyr  
 385 390 395 400

Gly Asp Val Tyr Val Asn Gly Phe Gly Tyr Leu His Leu Gly Leu Leu  
 405 410 415

Asp Ala Val Thr Ile Asn Phe Thr Gly His Gly Thr Asp Asp Asp Val  
 420 425 430

Ser Gly Phe Trp Thr Ile Ala Ser Thr Asn Phe Val Asp Ala Leu Ile  
 435 440 445

Glu Val Gln Gly Thr Ala Ile Gln Arg Ile Leu Tyr Cys Asp Asp Pro  
 450 455 460

Val Ser Gln Leu Lys Cys Ser Gln Val Ala Phe Asp Leu Asp Asp Gly  
 465 470 475 480

Phe Tyr Pro Ile Ser Ser Arg Asn Leu Leu Ser His Glu Gln Pro Ile  
 485 490 495

Ser Phe Val Thr Leu Pro Ser Phe Asn Asp His Ser Phe Val Asn Ile  
 500 505 510

Thr Val Ser Ala Ser Phe Gly Gly His Ser Gly Ala Asn Leu Ile Ala  
 515 520 525

Ser Asp Thr Thr Ile Asn Gly Phe Ser Ser Phe Cys Val Asp Thr Arg  
 530 535 540

Gln Phe Thr Ile Ser Leu Phe Tyr Asn Val Thr Asn Ser Tyr Gly Tyr  
 545 550 555 560

Val Ser Lys Ser Gln Asp Ser Asn Cys Pro Phe Thr Leu Gln Ser Val  
 565 570 575

Asn Asp Tyr Leu Ser Phe Ser Lys Phe Cys Val Ser Thr Ser Leu Leu  
 580 585 590

Ala Ser Ala Cys Thr Ile Asp Leu Phe Gly Tyr Pro Glu Phe Gly Ser  
 595 600 605

Gly Val Lys Phe Thr Ser Leu Tyr Phe Gln Phe Thr Glu Gly Glu Leu  
 610 615 620

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

Met Thr Leu Asp Val Cys Thr Lys Tyr Thr Ile Tyr Gly Phe Lys Gly  
 645 650 655

Glu Gly Ile Ile Thr Leu Thr Asn Ser Ser Phe Leu Ala Gly Val Tyr  
 660 665 670

Tyr Thr Ser Asp Ser Gly Gln Leu Leu Ala Phe Lys Asn Val Thr Ser  
 675 680 685

Gly Ala Val Tyr Ser Val Thr Pro Cys Ser Phe Ser Glu Gln Ala Ala  
 690 695 700

Tyr Val Asp Asp Asp Ile Val Gly Val Ile Ser Ser Leu Ser Ser Ser  
 705 710 715 720

Thr Phe Asn Ser Thr Arg Glu Leu Pro Gly Phe Phe Tyr His Ser Asn  
 725 730 735

Asp Gly Ser Asn Cys Thr Glu Pro Val Leu Val Tyr Ser Asn Ile Gly  
 740 745 750

Val Cys Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Val Pro Ser Gln Ser Gly Gln  
 755 760 765

Val Lys Ile Ala Pro Thr Val Thr Gly Asn Ile Ser Ile Pro Thr Asn  
 770 775 780

Phe Ser Met Ser Ile Arg Thr Glu Tyr Leu Gln Leu Tyr Asn Thr Pro  
 785 790 795 800

Val Ser Val Asp Cys Ala Thr Tyr Val Cys Asn Gly Asn Ser Arg Cys  
 805 810 815

Lys Gln Leu Leu Thr Gln Tyr Thr Ala Ala Cys Lys Thr Ile Glu Ser  
 820 825 830

Ala Leu Gln Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ser Val Glu Val Asn Ser Met  
 835 840 845

Leu Thr Ile Ser Glu Glu Ala Leu Gln Leu Ala Thr Ile Ser Ser Phe  
 850 855 860

Asn Gly Asp Gly Tyr Asn Phe Thr Asn Val Leu Gly Val Ser Val Tyr  
 865 870 875 880

Asp Pro Ala Ser Gly Arg Val Val Gln Lys Arg Ser Phe Ile Glu Asp  
 885 890 895

Leu Leu Phe Asn Lys Val Val Thr Asn Gly Leu Gly Thr Val Asp Glu  
 900 905 910

Asp Tyr Lys Arg Cys Ser Asn Gly Arg Ser Val Ala Asp Leu Val Cys  
 915 920 925

Ala Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Met Val Leu Pro Gly Val Val Asp Ala  
 930 935 940

Glu Lys Leu His Met Tyr Ser Ala Ser Leu Ile Gly Gly Met Val Leu  
 945 950 955 960

Gly Gly Phe Thr Ser Ala Ala Ala Leu Pro Phe Ser Tyr Ala Val Gln  
 965 970 975

Ala Arg Leu Asn Tyr Leu Ala Leu Gln Thr Asp Val Leu Gln Arg Asn  
 980 985 990

Gln Gln Leu Leu Ala Glu Ser Phe Asn Ser Ala Ile Gly Asn Ile Thr  
 995 1000 1005

Ser Ala Phe Glu Ser Val Lys Glu Ala Ile Ser Gln Thr Ser Lys  
 1010 1015 1020

Gly Leu Asn Thr Val Ala His Ala Leu Thr Lys Val Gln Glu Val  
 1025 1030 1035

Val Asn Ser Gln Gly Ala Ala Leu Thr Gln Leu Thr Val Gln Leu  
 1040 1045 1050

Gln His Asn Phe Gln Ala Ile Ser Ser Ser Ile Asp Asp Ile Tyr  
 1055 1060 1065

Ser Arg Leu Asp Ile Leu Ser Ala Asp Val Gln Val Asp Arg Leu  
 1070 1075 1080

Ile Thr Gly Arg Leu Ser Ala Leu Asn Ala Phe Val Ala Gln Thr  
 1085 1090 1095

Leu Thr Lys Tyr Thr Glu Val Gln Ala Ser Arg Lys Leu Ala Gln  
 1100 1105 1110

Gln Lys Val Asn Glu Cys Val Lys Ser Gln Ser Gln Arg Tyr Gly  
 1115 1120 1125

Phe Cys Gly Gly Asp Gly Glu His Ile Phe Ser Leu Val Gln Ala  
 1130 1135 1140

|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| Ala  | Pro | Gln | Gly | Leu | Leu | Phe  | Leu | His | Thr | Val | Leu  | Val | Pro | Gly |
| 1145 |     |     |     |     |     | 1150 |     |     |     |     | 1155 |     |     |     |
| Asp  | Phe | Ile | Asp | Val | Ile | Ala  | Ile | Ala | Gly | Leu | Cys  | Val | Asn | Asp |
| 1160 |     |     |     |     |     | 1165 |     |     |     |     | 1170 |     |     |     |
| Glu  | Ile | Ala | Leu | Thr | Leu | Arg  | Glu | Pro | Gly | Leu | Val  | Leu | Phe | Thr |
| 1175 |     |     |     |     |     | 1180 |     |     |     |     | 1185 |     |     |     |
| His  | Glu | Leu | Gln | Asn | His | Thr  | Ala | Thr | Glu | Tyr | Phe  | Val | Ser | Ser |
| 1190 |     |     |     |     |     | 1195 |     |     |     |     | 1200 |     |     |     |
| Arg  | Arg | Met | Phe | Glu | Pro | Arg  | Lys | Pro | Thr | Val | Ser  | Asp | Phe | Val |
| 1205 |     |     |     |     |     | 1210 |     |     |     |     | 1215 |     |     |     |
| Gln  | Ile | Glu | Ser | Cys | Val | Val  | Thr | Tyr | Val | Asn | Leu  | Thr | Arg | Asp |
| 1220 |     |     |     |     |     | 1225 |     |     |     |     | 1230 |     |     |     |
| Gln  | Leu | Pro | Asp | Val | Ile | Pro  | Asp | Tyr | Ile | Asp | Val  | Asn | Lys | Thr |
| 1235 |     |     |     |     |     | 1240 |     |     |     |     | 1245 |     |     |     |
| Leu  | Asp | Glu | Ile | Leu | Ala | Ser  | Leu | Pro | Asn | Arg | Thr  | Gly | Pro | Ser |
| 1250 |     |     |     |     |     | 1255 |     |     |     |     | 1260 |     |     |     |
| Leu  | Pro | Leu | Asp | Val | Phe | Asn  | Ala | Thr | Tyr | Leu | Asn  | Leu | Thr | Gly |
| 1265 |     |     |     |     |     | 1270 |     |     |     |     | 1275 |     |     |     |
| Glu  | Ile | Ala | Asp | Leu | Glu | Gln  | Arg | Ser | Glu | Ser | Leu  | Arg | Asn | Thr |
| 1280 |     |     |     |     |     | 1285 |     |     |     |     | 1290 |     |     |     |
| Thr  | Glu | Glu | Leu | Gln | Ser | Leu  | Ile | Tyr | Asn | Ile | Asn  | Asn | Thr | Leu |
| 1295 |     |     |     |     |     | 1300 |     |     |     |     | 1305 |     |     |     |
| Val  | Asp | Leu | Glu | Trp | Leu | Asn  | Arg | Val | Glu | Thr | Tyr  | Ile | Lys | Trp |
| 1310 |     |     |     |     |     | 1315 |     |     |     |     | 1320 |     |     |     |
| Pro  | Trp | Trp | Val | Trp | Leu | Ile  | Val | Phe | Ile | Val | Leu  | Ile | Phe | Val |
| 1325 |     |     |     |     |     | 1330 |     |     |     |     | 1335 |     |     |     |
| Val  | Ser | Leu | Leu | Val | Phe | Cys  | Cys | Ile | Ser | Thr | Gly  | Cys | Cys | Gly |
| 1340 |     |     |     |     |     | 1345 |     |     |     |     | 1350 |     |     |     |
| Cys  | Cys | Gly | Cys | Cys | Cys | Ala  | Cys | Phe | Ser | Gly | Cys  | Cys | Arg | Gly |
| 1355 |     |     |     |     |     | 1360 |     |     |     |     | 1365 |     |     |     |
| Pro  | Arg | Leu | Gln | Pro | Tyr | Glu  | Val | Phe | Glu | Lys | Val  | His | Val | Gln |
| 1370 |     |     |     |     |     | 1375 |     |     |     |     | 1380 |     |     |     |

<210> 4  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> trình tự vùng dung hợp bao gồm X1

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 4

Arg Ser Xaa Ile Glu Asp Leu Leu Phe  
 1 5

<210> 5  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> trình tự vùng dung hợp bao gồm X1

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 5

Arg Ser Xaa Ile Glu Asp Ala Ala Phe  
 1 5

<210> 6  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> trình tự vùng dung hợp bao gồm X1, X2, X3, X4, X5, X6, X7,  
 và X8

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (1)..(1)  
 <223> X ở gốc số 1 là gốc tyrosin, hoặc X ở gốc số 1 là  
 gốc axit amin không phải là gốc tyrosin

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (2)..(2)  
 <223> X ở gốc số 2 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (3)..(3)

<223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>

<221> Biến thể

<222> (5)..(5)

<223> X ở gốc số 5 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>

<221> Biến thể

<222> (7)..(7)

<223> X ở gốc số 7 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>

<221> Biến thể

<222> (8)..(8)

<223> X ở gốc số 8 là gốc histidin, hoặc X ở gốc số 8 là gốc axit amin không phải là gốc histidin

<220>

<221> Biến thể

<222> (9)..(9)

<223> X ở gốc số 9 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>

<221> Biến thể

<222> (10)..(10)

<223> X ở gốc số 10 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 6

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Xaa | Xaa | Xaa | Phe | Xaa | Lys | Xaa | Xaa | Xaa | Xaa |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |

<210> 7

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự của vùng lưu lại

<220>

<221> Biến thể

<222> (2)..(2)

<223> X ở gốc số 2 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>

<221> Biến thể

<222> (3)..(3)

<223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>

<221> Biến thể

<222> (5)..(5)

<223> X ở gốc số 5 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>

<221> Biến thể

<222> (7)..(7)

<223> X ở gốc số 7 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 7

Tyr Xaa Xaa Phe Xaa Lys Xaa His  
1 5

<210> 8  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> trình tự của vùng lưu lại

<220>  
<221> Biến thể  
<222> (2)..(2)  
<223> X ở gốc số 2 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>  
<221> Biến thể  
<222> (3)..(3)  
<223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>  
<221> Biến thể  
<222> (5)..(5)  
<223> X ở gốc số 5 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>  
<221> Biến thể  
<222> (7)..(7)  
<223> X ở gốc số 7 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 8

Ala Xaa Xaa Phe Xaa Lys Xaa Arg  
1 5

<210> 9  
<211> 1383  
<212> PRT  
<213> virus gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn

<400> 9

Met Lys Ser Leu Asn Tyr Phe Trp Leu Phe Leu Pro Val Leu Ser Thr  
1 5 10 15

Leu Ser Leu Pro Gln Asp Val Thr Arg Cys Gln Ser Thr Ile Asn Phe  
20 25 30

Arg Arg Phe Phe Ser Lys Phe Asn Val Gln Ala Pro Ala Val Val Val  
35 40 45

Leu Gly Gly Tyr Leu Pro Ser Met Asn Ser Ser Ser Trp Tyr Cys Gly  
50 55 60

Thr Gly Leu Glu Thr Ala Ser Gly Val His Gly Ile Phe Leu Ser Tyr

```

65              70              75              80

Ile Asp Ala Gly Gln Gly Phe Glu Ile Gly Ile Ser Gln Glu Pro Phe
              85              90              95

Asp Pro Ser Gly Tyr Gln Leu Tyr Leu His Lys Ala Thr Asn Gly Asn
              100              105              110

His Asn Ala Ile Ala Arg Leu Arg Ile Cys Gln Phe Pro Asn Asn Lys
              115              120              125

Thr Leu Gly Pro Thr Val Asn Asp Val Thr Thr Gly Arg Asn Cys Leu
              130              135              140

Phe Asn Lys Ala Ile Pro Ala Tyr Met Gln Asp Gly Lys Asn Ile Val
145              150              155              160

Val Gly Ile Thr Trp Asp Asn Asp Arg Val Thr Val Phe Ala Asp Lys
              165              170              175

Ile Tyr His Phe Tyr Leu Lys Asn Asp Trp Ser Arg Val Ala Thr Arg
              180              185              190

Cys Tyr Asn Lys Arg Ser Cys Ala Met Gln Tyr Val Tyr Thr Pro Thr
              195              200              205

Tyr Tyr Met Leu Asn Val Thr Ser Ala Gly Glu Asp Gly Ile Tyr Tyr
              210              215              220

Glu Pro Cys Thr Ala Asn Cys Ser Gly Tyr Ala Val Asn Val Phe Ala
225              230              235              240

Thr Asp Ser Asn Gly His Ile Pro Glu Gly Phe Ser Phe Asn Asn Trp
              245              250              255

Phe Leu Leu Ser Asn Asp Ser Thr Leu Leu His Gly Lys Val Val Ser
              260              265              270

Asn Gln Pro Leu Leu Val Asn Cys Leu Leu Ala Ile Pro Lys Ile Tyr
              275              280              285

Gly Leu Gly Gln Phe Phe Ser Phe Asn Gln Thr Met Asp Gly Val Cys
              290              295              300

Asn Gly Ala Ala Ala Gln Arg Ala Pro Glu Ala Leu Arg Phe Asn Ile
305              310              315              320

Asn Asp Thr Ser Val Ile Leu Ala Glu Gly Ser Ile Val Leu His Thr

```

17

```

                    580                    585                    590

Ala Ser Ala Cys Thr Ile Asp Leu Phe Gly Tyr Pro Glu Phe Gly Ser
      595                      600                      605

Gly Val Lys Phe Thr Ser Leu Tyr Phe Gln Phe Thr Glu Gly Glu Leu
      610                      615                      620

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

Met Thr Leu Asp Val Cys Thr Lys Tyr Thr Ile Tyr Gly Phe Lys Gly
      645                      650                      655

Glu Gly Ile Ile Thr Leu Thr Asn Ser Ser Phe Leu Ala Gly Val Tyr
      660                      665                      670

Tyr Thr Ser Asp Ser Gly Gln Leu Leu Ala Phe Lys Asn Val Thr Ser
      675                      680                      685

Gly Ala Val Tyr Ser Val Thr Pro Cys Ser Phe Ser Glu Gln Ala Ala
690                      695                      700

Tyr Val Asp Asp Asp Ile Val Gly Val Ile Ser Ser Leu Ser Ser Ser
705                      710                      715                      720

Thr Phe Asn Ser Thr Arg Glu Leu Pro Gly Phe Phe Tyr His Ser Asn
      725                      730                      735

Asp Gly Ser Asn Cys Thr Glu Pro Val Leu Val Tyr Ser Asn Ile Gly
      740                      745                      750

Val Cys Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Val Pro Ser Gln Ser Gly Gln
      755                      760                      765

Val Lys Ile Ala Pro Thr Val Thr Gly Asn Ile Ser Ile Pro Thr Asn
770                      775                      780

Phe Ser Met Ser Ile Arg Thr Glu Tyr Leu Gln Leu Tyr Asn Thr Pro
785                      790                      795                      800

Val Ser Val Asp Cys Ala Thr Tyr Val Cys Asn Gly Asn Ser Arg Cys
      805                      810                      815

Lys Gln Leu Leu Thr Gln Tyr Thr Ala Ala Cys Lys Thr Ile Glu Ser
      820                      825                      830

Ala Leu Gln Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ser Val Glu Val Asn Ser Met

```

|                                                                 |      |           |
|-----------------------------------------------------------------|------|-----------|
| 835                                                             | 840  | 845       |
| Leu Thr Ile Ser Glu Glu Ala Leu Gln Leu Ala Thr Ile Ser Ser Phe |      |           |
| 850                                                             | 855  | 860       |
| Asn Gly Asp Gly Tyr Asn Phe Thr Asn Val Leu Gly Val Ser Val Tyr |      |           |
| 865                                                             | 870  | 875 880   |
| Asp Pro Ala Ser Gly Arg Val Val Gln Lys Arg Ser Phe Ile Glu Asp |      |           |
|                                                                 | 885  | 890 895   |
| Ala Leu Phe Asn Lys Val Val Thr Asn Gly Leu Gly Thr Val Asp Glu |      |           |
|                                                                 | 900  | 905 910   |
| Asp Tyr Lys Arg Cys Ser Asn Gly Arg Ser Val Ala Asp Leu Val Cys |      |           |
|                                                                 | 915  | 920 925   |
| Ala Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Met Val Leu Pro Gly Val Val Asp Ala |      |           |
|                                                                 | 930  | 935 940   |
| Glu Lys Leu His Met Tyr Ser Ala Ser Leu Ile Gly Gly Met Val Leu |      |           |
| 945                                                             | 950  | 955 960   |
| Gly Gly Phe Thr Ser Ala Ala Ala Leu Pro Phe Ser Tyr Ala Val Gln |      |           |
|                                                                 | 965  | 970 975   |
| Ala Arg Leu Asn Tyr Leu Ala Leu Gln Thr Asp Val Leu Gln Arg Asn |      |           |
|                                                                 | 980  | 985 990   |
| Gln Gln Leu Leu Ala Glu Ser Phe Asn Ser Ala Ile Gly Asn Ile Thr |      |           |
|                                                                 | 995  | 1000 1005 |
| Ser Ala Phe Glu Ser Val Lys Glu Ala Ile Ser Gln Thr Ser Lys     |      |           |
|                                                                 | 1010 | 1015 1020 |
| Gly Leu Asn Thr Val Ala His Ala Leu Thr Lys Val Gln Glu Val     |      |           |
|                                                                 | 1025 | 1030 1035 |
| Val Asn Ser Gln Gly Ala Ala Leu Thr Gln Leu Thr Val Gln Leu     |      |           |
|                                                                 | 1040 | 1045 1050 |
| Gln His Asn Phe Gln Ala Ile Ser Ser Ser Ile Asp Asp Ile Tyr     |      |           |
|                                                                 | 1055 | 1060 1065 |
| Ser Arg Leu Asp Ile Leu Ser Ala Asp Val Gln Val Asp Arg Leu     |      |           |
|                                                                 | 1070 | 1075 1080 |
| Ile Thr Gly Arg Leu Ser Ala Leu Asn Ala Phe Val Ala Gln Thr     |      |           |

|                                                             |  |      |  |      |
|-------------------------------------------------------------|--|------|--|------|
| 1085                                                        |  | 1090 |  | 1095 |
| Leu Thr Lys Tyr Thr Glu Val Gln Ala Ser Arg Lys Leu Ala Gln |  |      |  |      |
| 1100                                                        |  | 1105 |  | 1110 |
| Gln Lys Val Asn Glu Cys Val Lys Ser Gln Ser Gln Arg Tyr Gly |  |      |  |      |
| 1115                                                        |  | 1120 |  | 1125 |
| Phe Cys Gly Gly Asp Gly Glu His Ile Phe Ser Leu Val Gln Ala |  |      |  |      |
| 1130                                                        |  | 1135 |  | 1140 |
| Ala Pro Gln Gly Leu Leu Phe Leu His Thr Val Leu Val Pro Gly |  |      |  |      |
| 1145                                                        |  | 1150 |  | 1155 |
| Asp Phe Ile Asp Val Ile Ala Ile Ala Gly Leu Cys Val Asn Asp |  |      |  |      |
| 1160                                                        |  | 1165 |  | 1170 |
| Glu Ile Ala Leu Thr Leu Arg Glu Pro Gly Leu Val Leu Phe Thr |  |      |  |      |
| 1175                                                        |  | 1180 |  | 1185 |
| His Glu Leu Gln Asn His Thr Ala Thr Glu Tyr Phe Val Ser Ser |  |      |  |      |
| 1190                                                        |  | 1195 |  | 1200 |
| Arg Arg Met Phe Glu Pro Arg Lys Pro Thr Val Ser Asp Phe Val |  |      |  |      |
| 1205                                                        |  | 1210 |  | 1215 |
| Gln Ile Glu Ser Cys Val Val Thr Tyr Val Asn Leu Thr Arg Asp |  |      |  |      |
| 1220                                                        |  | 1225 |  | 1230 |
| Gln Leu Pro Asp Val Ile Pro Asp Tyr Ile Asp Val Asn Lys Thr |  |      |  |      |
| 1235                                                        |  | 1240 |  | 1245 |
| Leu Asp Glu Ile Leu Ala Ser Leu Pro Asn Arg Thr Gly Pro Ser |  |      |  |      |
| 1250                                                        |  | 1255 |  | 1260 |
| Leu Pro Leu Asp Val Phe Asn Ala Thr Tyr Leu Asn Leu Thr Gly |  |      |  |      |
| 1265                                                        |  | 1270 |  | 1275 |
| Glu Ile Ala Asp Leu Glu Gln Arg Ser Glu Ser Leu Arg Asn Thr |  |      |  |      |
| 1280                                                        |  | 1285 |  | 1290 |
| Thr Glu Glu Leu Gln Ser Leu Ile Tyr Asn Ile Asn Asn Thr Leu |  |      |  |      |
| 1295                                                        |  | 1300 |  | 1305 |
| Val Asp Leu Glu Trp Leu Asn Arg Val Glu Thr Tyr Ile Lys Trp |  |      |  |      |
| 1310                                                        |  | 1315 |  | 1320 |
| Pro Trp Trp Val Trp Leu Ile Val Phe Ile Val Leu Ile Phe Val |  |      |  |      |

1325                                      1330                                      1335  
 Val Ser Leu Leu Val Phe Cys Cys Ile Ser Thr Gly Cys Cys Gly  
          1340                                      1345                                      1350  
  
 Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Cys Phe Ser Gly Cys Cys Arg Gly  
          1355                                      1360                                      1365  
  
 Pro Arg Leu Gln Pro Tyr Glu Val Phe Glu Lys Val His Val Gln  
          1370                                      1375                                      1380  
  
 <210> 10  
 <211> 1383  
 <212> PRT  
 <213> virut gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn  
  
 <400> 10  
  
 Met Lys Ser Leu Asn Tyr Phe Trp Leu Phe Leu Pro Val Leu Ser Thr  
 1                                      5                                      10                                      15  
  
 Leu Ser Leu Pro Gln Asp Val Thr Arg Cys Gln Ser Thr Ile Asn Phe  
                                     20                                      25                                      30  
  
 Arg Arg Phe Phe Ser Lys Phe Asn Val Gln Ala Pro Ala Val Val Val  
                                     35                                      40                                      45  
  
 Leu Gly Gly Tyr Leu Pro Ser Met Asn Ser Ser Ser Trp Tyr Cys Gly  
          50                                      55                                      60  
  
 Thr Gly Leu Glu Thr Ala Ser Gly Val His Gly Ile Phe Leu Ser Tyr  
 65                                      70                                      75                                      80  
  
 Ile Asp Ala Gly Gln Gly Phe Glu Ile Gly Ile Ser Gln Glu Pro Phe  
                                     85                                      90                                      95  
  
 Asp Pro Ser Gly Tyr Gln Leu Tyr Leu His Lys Ala Thr Asn Gly Asn  
                                     100                                      105                                      110  
  
 His Asn Ala Ile Ala Arg Leu Arg Ile Cys Gln Phe Pro Asn Asn Lys  
                                     115                                      120                                      125  
  
 Thr Leu Gly Pro Thr Val Asn Asp Val Thr Thr Gly Arg Asn Cys Leu  
          130                                      135                                      140  
  
 Phe Asn Lys Ala Ile Pro Ala Tyr Met Gln Asp Gly Lys Asn Ile Val  
 145                                      150                                      155                                      160  
  
 Val Gly Ile Thr Trp Asp Asn Asp Arg Val Thr Val Phe Ala Asp Lys  
                                     165                                      170                                      175

Ile Tyr His Phe Tyr Leu Lys Asn Asp Trp Ser Arg Val Ala Thr Arg  
180 185 190

Cys Tyr Asn Lys Arg Ser Cys Ala Met Gln Tyr Val Tyr Thr Pro Thr  
195 200 205

Tyr Tyr Met Leu Asn Val Thr Ser Ala Gly Glu Asp Gly Ile Tyr Tyr  
210 215 220

Glu Pro Cys Thr Ala Asn Cys Ser Gly Tyr Ala Val Asn Val Phe Ala  
225 230 235 240

Thr Asp Ser Asn Gly His Ile Pro Glu Gly Phe Ser Phe Asn Asn Trp  
245 250 255

Phe Leu Leu Ser Asn Asp Ser Thr Leu Leu His Gly Lys Val Val Ser  
260 265 270

Asn Gln Pro Leu Leu Val Asn Cys Leu Leu Ala Ile Pro Lys Ile Tyr  
275 280 285

Gly Leu Gly Gln Phe Phe Ser Phe Asn Gln Thr Met Asp Gly Val Cys  
290 295 300

Asn Gly Ala Ala Ala Gln Arg Ala Pro Glu Ala Leu Arg Phe Asn Ile  
305 310 315 320

Asn Asp Thr Ser Val Ile Leu Ala Glu Gly Ser Ile Val Leu His Thr  
325 330 335

Ala Leu Gly Thr Asn Leu Ser Phe Val Cys Ser Asn Ser Ser Asp Pro  
340 345 350

His Leu Ala Thr Phe Thr Ile Pro Leu Gly Ala Thr Gln Val Pro Tyr  
355 360 365

Tyr Cys Phe Leu Lys Val Asp Thr Tyr Asn Ser Asn Val Tyr Lys Phe  
370 375 380

Leu Ala Val Leu Pro Pro Thr Val Arg Glu Ile Val Ile Thr Lys Tyr  
385 390 395 400

Gly Asp Val Tyr Val Asn Gly Phe Gly Tyr Leu His Leu Gly Leu Leu  
405 410 415

Asp Ala Val Thr Ile Asn Phe Thr Gly His Gly Thr Asp Asp Asp Val  
420 425 430

Ser Gly Phe Trp Thr Ile Ala Ser Thr Asn Phe Val Asp Ala Leu Ile  
 435 440 445

Glu Val Gln Gly Thr Ala Ile Gln Arg Ile Leu Tyr Cys Asp Asp Pro  
 450 455 460

Val Ser Gln Leu Lys Cys Ser Gln Val Ala Phe Asp Leu Asp Asp Gly  
 465 470 475 480

Phe Tyr Pro Ile Ser Ser Arg Asn Leu Leu Ser His Glu Gln Pro Ile  
 485 490 495

Ser Phe Val Thr Leu Pro Ser Phe Asn Asp His Ser Phe Val Asn Ile  
 500 505 510

Thr Val Ser Ala Ser Phe Gly Gly His Ser Gly Ala Asn Leu Ile Ala  
 515 520 525

Ser Asp Thr Thr Ile Asn Gly Phe Ser Ser Phe Cys Val Asp Thr Arg  
 530 535 540

Gln Phe Thr Ile Ser Leu Phe Tyr Asn Val Thr Asn Ser Tyr Gly Tyr  
 545 550 555 560

Val Ser Lys Ser Gln Asp Ser Asn Cys Pro Phe Thr Leu Gln Ser Val  
 565 570 575

Asn Asp Tyr Leu Ser Phe Ser Lys Phe Cys Val Ser Thr Ser Leu Leu  
 580 585 590

Ala Ser Ala Cys Thr Ile Asp Leu Phe Gly Tyr Pro Glu Phe Gly Ser  
 595 600 605

Gly Val Lys Phe Thr Ser Leu Tyr Phe Gln Phe Thr Glu Gly Glu Leu  
 610 615 620

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

Met Thr Leu Asp Val Cys Thr Lys Tyr Thr Ile Tyr Gly Phe Lys Gly  
 645 650 655

Glu Gly Ile Ile Thr Leu Thr Asn Ser Ser Phe Leu Ala Gly Val Tyr  
 660 665 670

Tyr Thr Ser Asp Ser Gly Gln Leu Leu Ala Phe Lys Asn Val Thr Ser  
 675 680 685

Gly Ala Val Tyr Ser Val Thr Pro Cys Ser Phe Ser Glu Gln Ala Ala  
 690 695 700  
 Tyr Val Asp Asp Asp Ile Val Gly Val Ile Ser Ser Leu Ser Ser Ser  
 705 710 715 720  
 Thr Phe Asn Ser Thr Arg Glu Leu Pro Gly Phe Phe Tyr His Ser Asn  
 725 730 735  
 Asp Gly Ser Asn Cys Thr Glu Pro Val Leu Val Tyr Ser Asn Ile Gly  
 740 745 750  
 Val Cys Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Val Pro Ser Gln Ser Gly Gln  
 755 760 765  
 Val Lys Ile Ala Pro Thr Val Thr Gly Asn Ile Ser Ile Pro Thr Asn  
 770 775 780  
 Phe Ser Met Ser Ile Arg Thr Glu Tyr Leu Gln Leu Tyr Asn Thr Pro  
 785 790 795 800  
 Val Ser Val Asp Cys Ala Thr Tyr Val Cys Asn Gly Asn Ser Arg Cys  
 805 810 815  
 Lys Gln Leu Leu Thr Gln Tyr Thr Ala Ala Cys Lys Thr Ile Glu Ser  
 820 825 830  
 Ala Leu Gln Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ser Val Glu Val Asn Ser Met  
 835 840 845  
 Leu Thr Ile Ser Glu Glu Ala Leu Gln Leu Ala Thr Ile Ser Ser Phe  
 850 855 860  
 Asn Gly Asp Gly Tyr Asn Phe Thr Asn Val Leu Gly Val Ser Val Tyr  
 865 870 875 880  
 Asp Pro Ala Ser Gly Arg Val Val Gln Lys Arg Ser Phe Ile Glu Asp  
 885 890 895  
 Leu Ala Phe Asn Lys Val Val Thr Asn Gly Leu Gly Thr Val Asp Glu  
 900 905 910  
 Asp Tyr Lys Arg Cys Ser Asn Gly Arg Ser Val Ala Asp Leu Val Cys  
 915 920 925  
 Ala Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Met Val Leu Pro Gly Val Val Asp Ala  
 930 935 940

Glu Lys Leu His Met Tyr Ser Ala Ser Leu Ile Gly Gly Met Val Leu  
 945 950 955 960

Gly Gly Phe Thr Ser Ala Ala Ala Leu Pro Phe Ser Tyr Ala Val Gln  
 965 970 975

Ala Arg Leu Asn Tyr Leu Ala Leu Gln Thr Asp Val Leu Gln Arg Asn  
 980 985 990

Gln Gln Leu Leu Ala Glu Ser Phe Asn Ser Ala Ile Gly Asn Ile Thr  
 995 1000 1005

Ser Ala Phe Glu Ser Val Lys Glu Ala Ile Ser Gln Thr Ser Lys  
 1010 1015 1020

Gly Leu Asn Thr Val Ala His Ala Leu Thr Lys Val Gln Glu Val  
 1025 1030 1035

Val Asn Ser Gln Gly Ala Ala Leu Thr Gln Leu Thr Val Gln Leu  
 1040 1045 1050

Gln His Asn Phe Gln Ala Ile Ser Ser Ser Ile Asp Asp Ile Tyr  
 1055 1060 1065

Ser Arg Leu Asp Ile Leu Ser Ala Asp Val Gln Val Asp Arg Leu  
 1070 1075 1080

Ile Thr Gly Arg Leu Ser Ala Leu Asn Ala Phe Val Ala Gln Thr  
 1085 1090 1095

Leu Thr Lys Tyr Thr Glu Val Gln Ala Ser Arg Lys Leu Ala Gln  
 1100 1105 1110

Gln Lys Val Asn Glu Cys Val Lys Ser Gln Ser Gln Arg Tyr Gly  
 1115 1120 1125

Phe Cys Gly Gly Asp Gly Glu His Ile Phe Ser Leu Val Gln Ala  
 1130 1135 1140

Ala Pro Gln Gly Leu Leu Phe Leu His Thr Val Leu Val Pro Gly  
 1145 1150 1155

Asp Phe Ile Asp Val Ile Ala Ile Ala Gly Leu Cys Val Asn Asp  
 1160 1165 1170

Glu Ile Ala Leu Thr Leu Arg Glu Pro Gly Leu Val Leu Phe Thr  
 1175 1180 1185

His Glu Leu Gln Asn His Thr Ala Thr Glu Tyr Phe Val Ser Ser  
1190 1195 1200

Arg Arg Met Phe Glu Pro Arg Lys Pro Thr Val Ser Asp Phe Val  
1205 1210 1215

Gln Ile Glu Ser Cys Val Val Thr Tyr Val Asn Leu Thr Arg Asp  
1220 1225 1230

Gln Leu Pro Asp Val Ile Pro Asp Tyr Ile Asp Val Asn Lys Thr  
1235 1240 1245

Leu Asp Glu Ile Leu Ala Ser Leu Pro Asn Arg Thr Gly Pro Ser  
1250 1255 1260

Leu Pro Leu Asp Val Phe Asn Ala Thr Tyr Leu Asn Leu Thr Gly  
1265 1270 1275

Glu Ile Ala Asp Leu Glu Gln Arg Ser Glu Ser Leu Arg Asn Thr  
1280 1285 1290

Thr Glu Glu Leu Gln Ser Leu Ile Tyr Asn Ile Asn Asn Thr Leu  
1295 1300 1305

Val Asp Leu Glu Trp Leu Asn Arg Val Glu Thr Tyr Ile Lys Trp  
1310 1315 1320

Pro Trp Trp Val Trp Leu Ile Val Phe Ile Val Leu Ile Phe Val  
1325 1330 1335

Val Ser Leu Leu Val Phe Cys Cys Ile Ser Thr Gly Cys Cys Gly  
1340 1345 1350

Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Cys Phe Ser Gly Cys Cys Arg Gly  
1355 1360 1365

Pro Arg Leu Gln Pro Tyr Glu Val Phe Glu Lys Val His Val Gln  
1370 1375 1380

<210> 11  
<211> 1383  
<212> PRT  
<213> virut gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn

<400> 11

Met Lys Ser Leu Asn Tyr Phe Trp Leu Phe Leu Pro Val Leu Ser Thr  
1 5 10 15

Leu Ser Leu Pro Gln Asp Val Thr Arg Cys Gln Ser Thr Ile Asn Phe  
 20 25 30

Arg Arg Phe Phe Ser Lys Phe Asn Val Gln Ala Pro Ala Val Val Val  
 35 40 45

Leu Gly Gly Tyr Leu Pro Ser Met Asn Ser Ser Ser Trp Tyr Cys Gly  
 50 55 60

Thr Gly Leu Glu Thr Ala Ser Gly Val His Gly Ile Phe Leu Ser Tyr  
 65 70 75 80

Ile Asp Ala Gly Gln Gly Phe Glu Ile Gly Ile Ser Gln Glu Pro Phe  
 85 90 95

Asp Pro Ser Gly Tyr Gln Leu Tyr Leu His Lys Ala Thr Asn Gly Asn  
 100 105 110

His Asn Ala Ile Ala Arg Leu Arg Ile Cys Gln Phe Pro Asn Asn Lys  
 115 120 125

Thr Leu Gly Pro Thr Val Asn Asp Val Thr Thr Gly Arg Asn Cys Leu  
 130 135 140

Phe Asn Lys Ala Ile Pro Ala Tyr Met Gln Asp Gly Lys Asn Ile Val  
 145 150 155 160

Val Gly Ile Thr Trp Asp Asn Asp Arg Val Thr Val Phe Ala Asp Lys  
 165 170 175

Ile Tyr His Phe Tyr Leu Lys Asn Asp Trp Ser Arg Val Ala Thr Arg  
 180 185 190

Cys Tyr Asn Lys Arg Ser Cys Ala Met Gln Tyr Val Tyr Thr Pro Thr  
 195 200 205

Tyr Tyr Met Leu Asn Val Thr Ser Ala Gly Glu Asp Gly Ile Tyr Tyr  
 210 215 220

Glu Pro Cys Thr Ala Asn Cys Ser Gly Tyr Ala Val Asn Val Phe Ala  
 225 230 235 240

Thr Asp Ser Asn Gly His Ile Pro Glu Gly Phe Ser Phe Asn Asn Trp  
 245 250 255

Phe Leu Leu Ser Asn Asp Ser Thr Leu Leu His Gly Lys Val Val Ser  
 260 265 270

Asn Gln Pro Leu Leu Val Asn Cys Leu Leu Ala Ile Pro Lys Ile Tyr  
 275 280 285

Gly Leu Gly Gln Phe Phe Ser Phe Asn Gln Thr Met Asp Gly Val Cys  
 290 295 300

Asn Gly Ala Ala Ala Gln Arg Ala Pro Glu Ala Leu Arg Phe Asn Ile  
 305 310 315 320

Asn Asp Thr Ser Val Ile Leu Ala Glu Gly Ser Ile Val Leu His Thr  
 325 330 335

Ala Leu Gly Thr Asn Leu Ser Phe Val Cys Ser Asn Ser Ser Asp Pro  
 340 345 350

His Leu Ala Thr Phe Thr Ile Pro Leu Gly Ala Thr Gln Val Pro Tyr  
 355 360 365

Tyr Cys Phe Leu Lys Val Asp Thr Tyr Asn Ser Asn Val Tyr Lys Phe  
 370 375 380

Leu Ala Val Leu Pro Pro Thr Val Arg Glu Ile Val Ile Thr Lys Tyr  
 385 390 395 400

Gly Asp Val Tyr Val Asn Gly Phe Gly Tyr Leu His Leu Gly Leu Leu  
 405 410 415

Asp Ala Val Thr Ile Asn Phe Thr Gly His Gly Thr Asp Asp Asp Val  
 420 425 430

Ser Gly Phe Trp Thr Ile Ala Ser Thr Asn Phe Val Asp Ala Leu Ile  
 435 440 445

Glu Val Gln Gly Thr Ala Ile Gln Arg Ile Leu Tyr Cys Asp Asp Pro  
 450 455 460

Val Ser Gln Leu Lys Cys Ser Gln Val Ala Phe Asp Leu Asp Asp Gly  
 465 470 475 480

Phe Tyr Pro Ile Ser Ser Arg Asn Leu Leu Ser His Glu Gln Pro Ile  
 485 490 495

Ser Phe Val Thr Leu Pro Ser Phe Asn Asp His Ser Phe Val Asn Ile  
 500 505 510

Thr Val Ser Ala Ser Phe Gly Gly His Ser Gly Ala Asn Leu Ile Ala  
 515 520 525

Ser Asp Thr Thr Ile Asn Gly Phe Ser Ser Phe Cys Val Asp Thr Arg  
530 535 540

Gln Phe Thr Ile Ser Leu Phe Tyr Asn Val Thr Asn Ser Tyr Gly Tyr  
545 550 555 560

Val Ser Lys Ser Gln Asp Ser Asn Cys Pro Phe Thr Leu Gln Ser Val  
565 570 575

Asn Asp Tyr Leu Ser Phe Ser Lys Phe Cys Val Ser Thr Ser Leu Leu  
580 585 590

Ala Ser Ala Cys Thr Ile Asp Leu Phe Gly Tyr Pro Glu Phe Gly Ser  
595 600 605

Gly Val Lys Phe Thr Ser Leu Tyr Phe Gln Phe Thr Glu Gly Glu Leu  
610 615 620

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

Met Thr Leu Asp Val Cys Thr Lys Tyr Thr Ile Tyr Gly Phe Lys Gly  
645 650 655

Glu Gly Ile Ile Thr Leu Thr Asn Ser Ser Phe Leu Ala Gly Val Tyr  
660 665 670

Tyr Thr Ser Asp Ser Gly Gln Leu Leu Ala Phe Lys Asn Val Thr Ser  
675 680 685

Gly Ala Val Tyr Ser Val Thr Pro Cys Ser Phe Ser Glu Gln Ala Ala  
690 695 700

Tyr Val Asp Asp Asp Ile Val Gly Val Ile Ser Ser Leu Ser Ser Ser  
705 710 715 720

Thr Phe Asn Ser Thr Arg Glu Leu Pro Gly Phe Phe Tyr His Ser Asn  
725 730 735

Asp Gly Ser Asn Cys Thr Glu Pro Val Leu Val Tyr Ser Asn Ile Gly  
740 745 750

Val Cys Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Val Pro Ser Gln Ser Gly Gln  
755 760 765

Val Lys Ile Ala Pro Thr Val Thr Gly Asn Ile Ser Ile Pro Thr Asn  
770 775 780

Phe Ser Met Ser Ile Arg Thr Glu Tyr Leu Gln Leu Tyr Asn Thr Pro  
785 790 795 800

Val Ser Val Asp Cys Ala Thr Tyr Val Cys Asn Gly Asn Ser Arg Cys  
805 810 815

Lys Gln Leu Leu Thr Gln Tyr Thr Ala Ala Cys Lys Thr Ile Glu Ser  
820 825 830

Ala Leu Gln Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ser Val Glu Val Asn Ser Met  
835 840 845

Leu Thr Ile Ser Glu Glu Ala Leu Gln Leu Ala Thr Ile Ser Ser Phe  
850 855 860

Asn Gly Asp Gly Tyr Asn Phe Thr Asn Val Leu Gly Val Ser Val Tyr  
865 870 875 880

Asp Pro Ala Ser Gly Arg Val Val Gln Lys Arg Ser Phe Ile Glu Asp  
885 890 895

Ala Ala Phe Asn Lys Val Val Thr Asn Gly Leu Gly Thr Val Asp Glu  
900 905 910

Asp Tyr Lys Arg Cys Ser Asn Gly Arg Ser Val Ala Asp Leu Val Cys  
915 920 925

Ala Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Met Val Leu Pro Gly Val Val Asp Ala  
930 935 940

Glu Lys Leu His Met Tyr Ser Ala Ser Leu Ile Gly Gly Met Val Leu  
945 950 955 960

Gly Gly Phe Thr Ser Ala Ala Ala Leu Pro Phe Ser Tyr Ala Val Gln  
965 970 975

Ala Arg Leu Asn Tyr Leu Ala Leu Gln Thr Asp Val Leu Gln Arg Asn  
980 985 990

Gln Gln Leu Leu Ala Glu Ser Phe Asn Ser Ala Ile Gly Asn Ile Thr  
995 1000 1005

Ser Ala Phe Glu Ser Val Lys Glu Ala Ile Ser Gln Thr Ser Lys  
1010 1015 1020

Gly Leu Asn Thr Val Ala His Ala Leu Thr Lys Val Gln Glu Val  
1025 1030 1035

|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| Val  | Asn | Ser | Gln | Gly | Ala | Ala  | Leu | Thr | Gln | Leu | Thr  | Val | Gln | Leu |
| 1040 |     |     |     |     |     | 1045 |     |     |     |     | 1050 |     |     |     |
| Gln  | His | Asn | Phe | Gln | Ala | Ile  | Ser | Ser | Ser | Ile | Asp  | Asp | Ile | Tyr |
| 1055 |     |     |     |     |     | 1060 |     |     |     |     | 1065 |     |     |     |
| Ser  | Arg | Leu | Asp | Ile | Leu | Ser  | Ala | Asp | Val | Gln | Val  | Asp | Arg | Leu |
| 1070 |     |     |     |     |     | 1075 |     |     |     |     | 1080 |     |     |     |
| Ile  | Thr | Gly | Arg | Leu | Ser | Ala  | Leu | Asn | Ala | Phe | Val  | Ala | Gln | Thr |
| 1085 |     |     |     |     |     | 1090 |     |     |     |     | 1095 |     |     |     |
| Leu  | Thr | Lys | Tyr | Thr | Glu | Val  | Gln | Ala | Ser | Arg | Lys  | Leu | Ala | Gln |
| 1100 |     |     |     |     |     | 1105 |     |     |     |     | 1110 |     |     |     |
| Gln  | Lys | Val | Asn | Glu | Cys | Val  | Lys | Ser | Gln | Ser | Gln  | Arg | Tyr | Gly |
| 1115 |     |     |     |     |     | 1120 |     |     |     |     | 1125 |     |     |     |
| Phe  | Cys | Gly | Gly | Asp | Gly | Glu  | His | Ile | Phe | Ser | Leu  | Val | Gln | Ala |
| 1130 |     |     |     |     |     | 1135 |     |     |     |     | 1140 |     |     |     |
| Ala  | Pro | Gln | Gly | Leu | Leu | Phe  | Leu | His | Thr | Val | Leu  | Val | Pro | Gly |
| 1145 |     |     |     |     |     | 1150 |     |     |     |     | 1155 |     |     |     |
| Asp  | Phe | Ile | Asp | Val | Ile | Ala  | Ile | Ala | Gly | Leu | Cys  | Val | Asn | Asp |
| 1160 |     |     |     |     |     | 1165 |     |     |     |     | 1170 |     |     |     |
| Glu  | Ile | Ala | Leu | Thr | Leu | Arg  | Glu | Pro | Gly | Leu | Val  | Leu | Phe | Thr |
| 1175 |     |     |     |     |     | 1180 |     |     |     |     | 1185 |     |     |     |
| His  | Glu | Leu | Gln | Asn | His | Thr  | Ala | Thr | Glu | Tyr | Phe  | Val | Ser | Ser |
| 1190 |     |     |     |     |     | 1195 |     |     |     |     | 1200 |     |     |     |
| Arg  | Arg | Met | Phe | Glu | Pro | Arg  | Lys | Pro | Thr | Val | Ser  | Asp | Phe | Val |
| 1205 |     |     |     |     |     | 1210 |     |     |     |     | 1215 |     |     |     |
| Gln  | Ile | Glu | Ser | Cys | Val | Val  | Thr | Tyr | Val | Asn | Leu  | Thr | Arg | Asp |
| 1220 |     |     |     |     |     | 1225 |     |     |     |     | 1230 |     |     |     |
| Gln  | Leu | Pro | Asp | Val | Ile | Pro  | Asp | Tyr | Ile | Asp | Val  | Asn | Lys | Thr |
| 1235 |     |     |     |     |     | 1240 |     |     |     |     | 1245 |     |     |     |
| Leu  | Asp | Glu | Ile | Leu | Ala | Ser  | Leu | Pro | Asn | Arg | Thr  | Gly | Pro | Ser |
| 1250 |     |     |     |     |     | 1255 |     |     |     |     | 1260 |     |     |     |
| Leu  | Pro | Leu | Asp | Val | Phe | Asn  | Ala | Thr | Tyr | Leu | Asn  | Leu | Thr | Gly |
| 1265 |     |     |     |     |     | 1270 |     |     |     |     | 1275 |     |     |     |

Glu Ile Ala Asp Leu Glu Gln Arg Ser Glu Ser Leu Arg Asn Thr  
1280 1285 1290

Thr Glu Glu Leu Gln Ser Leu Ile Tyr Asn Ile Asn Asn Thr Leu  
1295 1300 1305

Val Asp Leu Glu Trp Leu Asn Arg Val Glu Thr Tyr Ile Lys Trp  
1310 1315 1320

Pro Trp Trp Val Trp Leu Ile Val Phe Ile Val Leu Ile Phe Val  
1325 1330 1335

Val Ser Leu Leu Val Phe Cys Cys Ile Ser Thr Gly Cys Cys Gly  
1340 1345 1350

Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Cys Phe Ser Gly Cys Cys Arg Gly  
1355 1360 1365

Pro Arg Leu Gln Pro Tyr Glu Val Phe Glu Lys Val His Val Gln  
1370 1375 1380

<210> 12

<211> 1383

<212> PRT

<213> virut gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn

<400> 12

Met Lys Ser Leu Asn Tyr Phe Trp Leu Phe Leu Pro Val Leu Ser Thr  
1 5 10 15

Leu Ser Leu Pro Gln Asp Val Thr Arg Cys Gln Ser Thr Ile Asn Phe  
20 25 30

Arg Arg Phe Phe Ser Lys Phe Asn Val Gln Ala Pro Ala Val Val Val  
35 40 45

Leu Gly Gly Tyr Leu Pro Ser Met Asn Ser Ser Ser Trp Tyr Cys Gly  
50 55 60

Thr Gly Leu Glu Thr Ala Ser Gly Val His Gly Ile Phe Leu Ser Tyr  
65 70 75 80

Ile Asp Ala Gly Gln Gly Phe Glu Ile Gly Ile Ser Gln Glu Pro Phe  
85 90 95

Asp Pro Ser Gly Tyr Gln Leu Tyr Leu His Lys Ala Thr Asn Gly Asn  
100 105 110

His Asn Ala Ile Ala Arg Leu Arg Ile Cys Gln Phe Pro Asn Asn Lys  
 115 120 125

Thr Leu Gly Pro Thr Val Asn Asp Val Thr Thr Gly Arg Asn Cys Leu  
 130 135 140

Phe Asn Lys Ala Ile Pro Ala Tyr Met Gln Asp Gly Lys Asn Ile Val  
 145 150 155 160

Val Gly Ile Thr Trp Asp Asn Asp Arg Val Thr Val Phe Ala Asp Lys  
 165 170 175

Ile Tyr His Phe Tyr Leu Lys Asn Asp Trp Ser Arg Val Ala Thr Arg  
 180 185 190

Cys Tyr Asn Lys Arg Ser Cys Ala Met Gln Tyr Val Tyr Thr Pro Thr  
 195 200 205

Tyr Tyr Met Leu Asn Val Thr Ser Ala Gly Glu Asp Gly Ile Tyr Tyr  
 210 215 220

Glu Pro Cys Thr Ala Asn Cys Ser Gly Tyr Ala Val Asn Val Phe Ala  
 225 230 235 240

Thr Asp Ser Asn Gly His Ile Pro Glu Gly Phe Ser Phe Asn Asn Trp  
 245 250 255

Phe Leu Leu Ser Asn Asp Ser Thr Leu Leu His Gly Lys Val Val Ser  
 260 265 270

Asn Gln Pro Leu Leu Val Asn Cys Leu Leu Ala Ile Pro Lys Ile Tyr  
 275 280 285

Gly Leu Gly Gln Phe Phe Ser Phe Asn Gln Thr Met Asp Gly Val Cys  
 290 295 300

Asn Gly Ala Ala Ala Gln Arg Ala Pro Glu Ala Leu Arg Phe Asn Ile  
 305 310 315 320

Asn Asp Thr Ser Val Ile Leu Ala Glu Gly Ser Ile Val Leu His Thr  
 325 330 335

Ala Leu Gly Thr Asn Leu Ser Phe Val Cys Ser Asn Ser Ser Asp Pro  
 340 345 350

His Leu Ala Thr Phe Thr Ile Pro Leu Gly Ala Thr Gln Val Pro Tyr  
 355 360 365

Tyr Cys Phe Leu Lys Val Asp Thr Tyr Asn Ser Asn Val Tyr Lys Phe  
 370 375 380

Leu Ala Val Leu Pro Pro Thr Val Arg Glu Ile Val Ile Thr Lys Tyr  
 385 390 395 400

Gly Asp Val Tyr Val Asn Gly Phe Gly Tyr Leu His Leu Gly Leu Leu  
 405 410 415

Asp Ala Val Thr Ile Asn Phe Thr Gly His Gly Thr Asp Asp Asp Val  
 420 425 430

Ser Gly Phe Trp Thr Ile Ala Ser Thr Asn Phe Val Asp Ala Leu Ile  
 435 440 445

Glu Val Gln Gly Thr Ala Ile Gln Arg Ile Leu Tyr Cys Asp Asp Pro  
 450 455 460

Val Ser Gln Leu Lys Cys Ser Gln Val Ala Phe Asp Leu Asp Asp Gly  
 465 470 475 480

Phe Tyr Pro Ile Ser Ser Arg Asn Leu Leu Ser His Glu Gln Pro Ile  
 485 490 495

Ser Phe Val Thr Leu Pro Ser Phe Asn Asp His Ser Phe Val Asn Ile  
 500 505 510

Thr Val Ser Ala Ser Phe Gly Gly His Ser Gly Ala Asn Leu Ile Ala  
 515 520 525

Ser Asp Thr Thr Ile Asn Gly Phe Ser Ser Phe Cys Val Asp Thr Arg  
 530 535 540

Gln Phe Thr Ile Ser Leu Phe Tyr Asn Val Thr Asn Ser Tyr Gly Tyr  
 545 550 555 560

Val Ser Lys Ser Gln Asp Ser Asn Cys Pro Phe Thr Leu Gln Ser Val  
 565 570 575

Asn Asp Tyr Leu Ser Phe Ser Lys Phe Cys Val Ser Thr Ser Leu Leu  
 580 585 590

Ala Ser Ala Cys Thr Ile Asp Leu Phe Gly Tyr Pro Glu Phe Gly Ser  
 595 600 605

Gly Val Lys Phe Thr Ser Leu Tyr Phe Gln Phe Thr Glu Gly Glu Leu  
 610 615 620

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

Met Thr Leu Asp Val Cys Thr Lys Tyr Thr Ile Tyr Gly Phe Lys Gly  
 645 650 655

Glu Gly Ile Ile Thr Leu Thr Asn Ser Ser Phe Leu Ala Gly Val Tyr  
 660 665 670

Tyr Thr Ser Asp Ser Gly Gln Leu Leu Ala Phe Lys Asn Val Thr Ser  
 675 680 685

Gly Ala Val Tyr Ser Val Thr Pro Cys Ser Phe Ser Glu Gln Ala Ala  
 690 695 700

Tyr Val Asp Asp Asp Ile Val Gly Val Ile Ser Ser Leu Ser Ser Ser  
 705 710 715 720

Thr Phe Asn Ser Thr Arg Glu Leu Pro Gly Phe Phe Tyr His Ser Asn  
 725 730 735

Asp Gly Ser Asn Cys Thr Glu Pro Val Leu Val Tyr Ser Asn Ile Gly  
 740 745 750

Val Cys Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Val Pro Ser Gln Ser Gly Gln  
 755 760 765

Val Lys Ile Ala Pro Thr Val Thr Gly Asn Ile Ser Ile Pro Thr Asn  
 770 775 780

Phe Ser Met Ser Ile Arg Thr Glu Tyr Leu Gln Leu Tyr Asn Thr Pro  
 785 790 795 800

Val Ser Val Asp Cys Ala Thr Tyr Val Cys Asn Gly Asn Ser Arg Cys  
 805 810 815

Lys Gln Leu Leu Thr Gln Tyr Thr Ala Ala Cys Lys Thr Ile Glu Ser  
 820 825 830

Ala Leu Gln Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ser Val Glu Val Asn Ser Met  
 835 840 845

Leu Thr Ile Ser Glu Glu Ala Leu Gln Leu Ala Thr Ile Ser Ser Phe  
 850 855 860

Asn Gly Asp Gly Tyr Asn Phe Thr Asn Val Leu Gly Val Ser Val Tyr  
 865 870 875 880

Asp Pro Ala Ser Gly Arg Val Val Gln Lys Arg Ser Phe Ile Glu Asp  
 885 890 895

Ala Leu Phe Asn Lys Val Val Thr Asn Gly Leu Gly Thr Val Asp Glu  
 900 905 910

Asp Tyr Lys Arg Cys Ser Asn Gly Arg Ser Val Ala Asp Leu Val Cys  
 915 920 925

Ala Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Met Val Leu Pro Gly Val Val Asp Ala  
 930 935 940

Glu Lys Leu His Met Tyr Ser Ala Ser Leu Ile Gly Gly Met Val Leu  
 945 950 955 960

Gly Gly Phe Thr Ser Ala Ala Ala Leu Pro Phe Ser Tyr Ala Val Gln  
 965 970 975

Ala Arg Leu Asn Tyr Leu Ala Leu Gln Thr Asp Val Leu Gln Arg Asn  
 980 985 990

Gln Gln Leu Leu Ala Glu Ser Phe Asn Ser Ala Ile Gly Asn Ile Thr  
 995 1000 1005

Ser Ala Phe Glu Ser Val Lys Glu Ala Ile Ser Gln Thr Ser Lys  
 1010 1015 1020

Gly Leu Asn Thr Val Ala His Ala Leu Thr Lys Val Gln Glu Val  
 1025 1030 1035

Val Asn Ser Gln Gly Ala Ala Leu Thr Gln Leu Thr Val Gln Leu  
 1040 1045 1050

Gln His Asn Phe Gln Ala Ile Ser Ser Ser Ile Asp Asp Ile Tyr  
 1055 1060 1065

Ser Arg Leu Asp Ile Leu Ser Ala Asp Val Gln Val Asp Arg Leu  
 1070 1075 1080

Ile Thr Gly Arg Leu Ser Ala Leu Asn Ala Phe Val Ala Gln Thr  
 1085 1090 1095

Leu Thr Lys Tyr Thr Glu Val Gln Ala Ser Arg Lys Leu Ala Gln  
 1100 1105 1110

Gln Lys Val Asn Glu Cys Val Lys Ser Gln Ser Gln Arg Tyr Gly  
 1115 1120 1125

|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| Phe  | Cys | Gly | Gly | Asp | Gly | Glu  | His | Ile | Phe | Ser | Leu  | Val | Gln | Ala |
| 1130 |     |     |     |     |     | 1135 |     |     |     |     | 1140 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Ala  | Pro | Gln | Gly | Leu | Leu | Phe  | Leu | His | Thr | Val | Leu  | Val | Pro | Gly |
| 1145 |     |     |     |     |     | 1150 |     |     |     |     | 1155 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Asp  | Phe | Ile | Asp | Val | Ile | Ala  | Ile | Ala | Gly | Leu | Cys  | Val | Asn | Asp |
| 1160 |     |     |     |     |     | 1165 |     |     |     |     | 1170 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Glu  | Ile | Ala | Leu | Thr | Leu | Arg  | Glu | Pro | Gly | Leu | Val  | Leu | Phe | Thr |
| 1175 |     |     |     |     |     | 1180 |     |     |     |     | 1185 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| His  | Glu | Leu | Gln | Asn | His | Thr  | Ala | Thr | Glu | Tyr | Phe  | Val | Ser | Ser |
| 1190 |     |     |     |     |     | 1195 |     |     |     |     | 1200 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Arg  | Arg | Met | Phe | Glu | Pro | Arg  | Lys | Pro | Thr | Val | Ser  | Asp | Phe | Val |
| 1205 |     |     |     |     |     | 1210 |     |     |     |     | 1215 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Gln  | Ile | Glu | Ser | Cys | Val | Val  | Thr | Tyr | Val | Asn | Leu  | Thr | Arg | Asp |
| 1220 |     |     |     |     |     | 1225 |     |     |     |     | 1230 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Gln  | Leu | Pro | Asp | Val | Ile | Pro  | Asp | Tyr | Ile | Asp | Val  | Asn | Lys | Thr |
| 1235 |     |     |     |     |     | 1240 |     |     |     |     | 1245 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Leu  | Asp | Glu | Ile | Leu | Ala | Ser  | Leu | Pro | Asn | Arg | Thr  | Gly | Pro | Ser |
| 1250 |     |     |     |     |     | 1255 |     |     |     |     | 1260 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Leu  | Pro | Leu | Asp | Val | Phe | Asn  | Ala | Thr | Tyr | Leu | Asn  | Leu | Thr | Gly |
| 1265 |     |     |     |     |     | 1270 |     |     |     |     | 1275 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Glu  | Ile | Ala | Asp | Leu | Glu | Gln  | Arg | Ser | Glu | Ser | Leu  | Arg | Asn | Thr |
| 1280 |     |     |     |     |     | 1285 |     |     |     |     | 1290 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Thr  | Glu | Glu | Leu | Gln | Ser | Leu  | Ile | Tyr | Asn | Ile | Asn  | Asn | Thr | Leu |
| 1295 |     |     |     |     |     | 1300 |     |     |     |     | 1305 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Val  | Asp | Leu | Glu | Trp | Leu | Asn  | Arg | Val | Glu | Thr | Tyr  | Ile | Lys | Trp |
| 1310 |     |     |     |     |     | 1315 |     |     |     |     | 1320 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Pro  | Trp | Trp | Val | Trp | Leu | Ile  | Val | Phe | Ile | Val | Leu  | Ile | Phe | Val |
| 1325 |     |     |     |     |     | 1330 |     |     |     |     | 1335 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Val  | Ser | Leu | Leu | Val | Phe | Cys  | Cys | Ile | Ser | Thr | Gly  | Cys | Cys | Gly |
| 1340 |     |     |     |     |     | 1345 |     |     |     |     | 1350 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Cys  | Cys | Gly | Cys | Cys | Cys | Ala  | Cys | Phe | Ser | Gly | Cys  | Cys | Arg | Gly |
| 1355 |     |     |     |     |     | 1360 |     |     |     |     | 1365 |     |     |     |

Pro Arg Leu Gln Pro Ala Glu Val Phe Glu Lys Val Arg Val Gln  
 1370 1375 1380

<210> 13  
 <211> 1383  
 <212> PRT  
 <213> virut gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn

<400> 13

Met Lys Ser Leu Asn Tyr Phe Trp Leu Phe Leu Pro Val Leu Ser Thr  
 1 5 10 15

Leu Ser Leu Pro Gln Asp Val Thr Arg Cys Gln Ser Thr Ile Asn Phe  
 20 25 30

Arg Arg Phe Phe Ser Lys Phe Asn Val Gln Ala Pro Ala Val Val Val  
 35 40 45

Leu Gly Gly Tyr Leu Pro Ser Met Asn Ser Ser Ser Trp Tyr Cys Gly  
 50 55 60

Thr Gly Leu Glu Thr Ala Ser Gly Val His Gly Ile Phe Leu Ser Tyr  
 65 70 75 80

Ile Asp Ala Gly Gln Gly Phe Glu Ile Gly Ile Ser Gln Glu Pro Phe  
 85 90 95

Asp Pro Ser Gly Tyr Gln Leu Tyr Leu His Lys Ala Thr Asn Gly Asn  
 100 105 110

His Asn Ala Ile Ala Arg Leu Arg Ile Cys Gln Phe Pro Asn Asn Lys  
 115 120 125

Thr Leu Gly Pro Thr Val Asn Asp Val Thr Thr Gly Arg Asn Cys Leu  
 130 135 140

Phe Asn Lys Ala Ile Pro Ala Tyr Met Gln Asp Gly Lys Asn Ile Val  
 145 150 155 160

Val Gly Ile Thr Trp Asp Asn Asp Arg Val Thr Val Phe Ala Asp Lys  
 165 170 175

Ile Tyr His Phe Tyr Leu Lys Asn Asp Trp Ser Arg Val Ala Thr Arg  
 180 185 190

Cys Tyr Asn Lys Arg Ser Cys Ala Met Gln Tyr Val Tyr Thr Pro Thr  
 195 200 205

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

```

210                215                220

Glu Pro Cys Thr Ala Asn Cys Ser Gly Tyr Ala Val Asn Val Phe Ala
225                230                235                240

Thr Asp Ser Asn Gly His Ile Pro Glu Gly Phe Ser Phe Asn Asn Trp
                245                250                255

Phe Leu Leu Ser Asn Asp Ser Thr Leu Leu His Gly Lys Val Val Ser
                260                265                270

Asn Gln Pro Leu Leu Val Asn Cys Leu Leu Ala Ile Pro Lys Ile Tyr
                275                280                285

Gly Leu Gly Gln Phe Phe Ser Phe Asn Gln Thr Met Asp Gly Val Cys
290                295                300

Asn Gly Ala Ala Ala Gln Arg Ala Pro Glu Ala Leu Arg Phe Asn Ile
305                310                315                320

Asn Asp Thr Ser Val Ile Leu Ala Glu Gly Ser Ile Val Leu His Thr
                325                330                335

Ala Leu Gly Thr Asn Leu Ser Phe Val Cys Ser Asn Ser Ser Asp Pro
                340                345                350

His Leu Ala Thr Phe Thr Ile Pro Leu Gly Ala Thr Gln Val Pro Tyr
                355                360                365

Tyr Cys Phe Leu Lys Val Asp Thr Tyr Asn Ser Asn Val Tyr Lys Phe
370                375                380

Leu Ala Val Leu Pro Pro Thr Val Arg Glu Ile Val Ile Thr Lys Tyr
385                390                395                400

Gly Asp Val Tyr Val Asn Gly Phe Gly Tyr Leu His Leu Gly Leu Leu
                405                410                415

Asp Ala Val Thr Ile Asn Phe Thr Gly His Gly Thr Asp Asp Asp Val
                420                425                430

Ser Gly Phe Trp Thr Ile Ala Ser Thr Asn Phe Val Asp Ala Leu Ile
                435                440                445

Glu Val Gln Gly Thr Ala Ile Gln Arg Ile Leu Tyr Cys Asp Asp Pro
450                455                460

Val Ser Gln Leu Lys Cys Ser Gln Val Ala Phe Asp Leu Asp Asp Gly

```

40

```

              725              730              735
Asp Gly Ser Asn Cys Thr Glu Pro Val Leu Val Tyr Ser Asn Ile Gly
              740              745              750

Val Cys Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Val Pro Ser Gln Ser Gly Gln
              755              760              765

Val Lys Ile Ala Pro Thr Val Thr Gly Asn Ile Ser Ile Pro Thr Asn
              770              775              780

Phe Ser Met Ser Ile Arg Thr Glu Tyr Leu Gln Leu Tyr Asn Thr Pro
785              790              795              800

Val Ser Val Asp Cys Ala Thr Tyr Val Cys Asn Gly Asn Ser Arg Cys
              805              810              815

Lys Gln Leu Leu Thr Gln Tyr Thr Ala Ala Cys Lys Thr Ile Glu Ser
              820              825              830

Ala Leu Gln Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ser Val Glu Val Asn Ser Met
              835              840              845

Leu Thr Ile Ser Glu Glu Ala Leu Gln Leu Ala Thr Ile Ser Ser Phe
              850              855              860

Asn Gly Asp Gly Tyr Asn Phe Thr Asn Val Leu Gly Val Ser Val Tyr
865              870              875              880

Asp Pro Ala Ser Gly Arg Val Val Gln Lys Arg Ser Phe Ile Glu Asp
              885              890              895

Leu Ala Phe Asn Lys Val Val Thr Asn Gly Leu Gly Thr Val Asp Glu
              900              905              910

Asp Tyr Lys Arg Cys Ser Asn Gly Arg Ser Val Ala Asp Leu Val Cys
              915              920              925

Ala Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Met Val Leu Pro Gly Val Val Asp Ala
              930              935              940

Glu Lys Leu His Met Tyr Ser Ala Ser Leu Ile Gly Gly Met Val Leu
945              950              955              960

Gly Gly Phe Thr Ser Ala Ala Ala Leu Pro Phe Ser Tyr Ala Val Gln
              965              970              975

Ala Arg Leu Asn Tyr Leu Ala Leu Gln Thr Asp Val Leu Gln Arg Asn

```

|                                 |                     |             |
|---------------------------------|---------------------|-------------|
| 980                             | 985                 | 990         |
| Gln Gln Leu Leu Ala Glu Ser Phe | Asn Ser Ala Ile Gly | Asn Ile Thr |
| 995                             | 1000                | 1005        |
| Ser Ala Phe Glu Ser Val Lys     | Glu Ala Ile Ser Gln | Thr Ser Lys |
| 1010                            | 1015                | 1020        |
| Gly Leu Asn Thr Val Ala His     | Ala Leu Thr Lys Val | Gln Glu Val |
| 1025                            | 1030                | 1035        |
| Val Asn Ser Gln Gly Ala Ala     | Leu Thr Gln Leu Thr | Val Gln Leu |
| 1040                            | 1045                | 1050        |
| Gln His Asn Phe Gln Ala Ile     | Ser Ser Ser Ile Asp | Asp Ile Tyr |
| 1055                            | 1060                | 1065        |
| Ser Arg Leu Asp Ile Leu Ser     | Ala Asp Val Gln Val | Asp Arg Leu |
| 1070                            | 1075                | 1080        |
| Ile Thr Gly Arg Leu Ser Ala     | Leu Asn Ala Phe Val | Ala Gln Thr |
| 1085                            | 1090                | 1095        |
| Leu Thr Lys Tyr Thr Glu Val     | Gln Ala Ser Arg Lys | Leu Ala Gln |
| 1100                            | 1105                | 1110        |
| Gln Lys Val Asn Glu Cys Val     | Lys Ser Gln Ser Gln | Arg Tyr Gly |
| 1115                            | 1120                | 1125        |
| Phe Cys Gly Gly Asp Gly Glu     | His Ile Phe Ser Leu | Val Gln Ala |
| 1130                            | 1135                | 1140        |
| Ala Pro Gln Gly Leu Leu Phe     | Leu His Thr Val Leu | Val Pro Gly |
| 1145                            | 1150                | 1155        |
| Asp Phe Ile Asp Val Ile Ala     | Ile Ala Gly Leu Cys | Val Asn Asp |
| 1160                            | 1165                | 1170        |
| Glu Ile Ala Leu Thr Leu Arg     | Glu Pro Gly Leu Val | Leu Phe Thr |
| 1175                            | 1180                | 1185        |
| His Glu Leu Gln Asn His Thr     | Ala Thr Glu Tyr Phe | Val Ser Ser |
| 1190                            | 1195                | 1200        |
| Arg Arg Met Phe Glu Pro Arg     | Lys Pro Thr Val Ser | Asp Phe Val |
| 1205                            | 1210                | 1215        |
| Gln Ile Glu Ser Cys Val Val     | Thr Tyr Val Asn Leu | Thr Arg Asp |

```

1220                               1225                               1230
Gln Leu Pro Asp Val Ile Pro Asp Tyr Ile Asp Val Asn Lys Thr
1235                               1240                               1245

Leu Asp Glu Ile Leu Ala Ser Leu Pro Asn Arg Thr Gly Pro Ser
1250                               1255                               1260

Leu Pro Leu Asp Val Phe Asn Ala Thr Tyr Leu Asn Leu Thr Gly
1265                               1270                               1275

Glu Ile Ala Asp Leu Glu Gln Arg Ser Glu Ser Leu Arg Asn Thr
1280                               1285                               1290

Thr Glu Glu Leu Gln Ser Leu Ile Tyr Asn Ile Asn Asn Thr Leu
1295                               1300                               1305

Val Asp Leu Glu Trp Leu Asn Arg Val Glu Thr Tyr Ile Lys Trp
1310                               1315                               1320

Pro Trp Trp Val Trp Leu Ile Val Phe Ile Val Leu Ile Phe Val
1325                               1330                               1335

Val Ser Leu Leu Val Phe Cys Cys Ile Ser Thr Gly Cys Cys Gly
1340                               1345                               1350

Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Cys Phe Ser Gly Cys Cys Arg Gly
1355                               1360                               1365

Pro Arg Leu Gln Pro Ala Glu Val Phe Glu Lys Val Arg Val Gln
1370                               1375                               1380

<210> 14
<211> 1383
<212> PRT
<213> virut gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn

<400> 14

Met Lys Ser Leu Asn Tyr Phe Trp Leu Phe Leu Pro Val Leu Ser Thr
1 5 10 15

Leu Ser Leu Pro Gln Asp Val Thr Arg Cys Gln Ser Thr Ile Asn Phe
20 25 30

Arg Arg Phe Phe Ser Lys Phe Asn Val Gln Ala Pro Ala Val Val Val
35 40 45

Leu Gly Gly Tyr Leu Pro Ser Met Asn Ser Ser Ser Trp Tyr Cys Gly
50 55 60

```

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

Asn Asp Thr Ser Val Ile Leu Ala Glu Gly Ser Ile Val Leu His Thr  
325 330 335

Ala Leu Gly Thr Asn Leu Ser Phe Val Cys Ser Asn Ser Ser Asp Pro  
340 345 350

His Leu Ala Thr Phe Thr Ile Pro Leu Gly Ala Thr Gln Val Pro Tyr  
355 360 365

Tyr Cys Phe Leu Lys Val Asp Thr Tyr Asn Ser Asn Val Tyr Lys Phe  
370 375 380

Leu Ala Val Leu Pro Pro Thr Val Arg Glu Ile Val Ile Thr Lys Tyr  
385 390 395 400

Gly Asp Val Tyr Val Asn Gly Phe Gly Tyr Leu His Leu Gly Leu Leu  
405 410 415

Asp Ala Val Thr Ile Asn Phe Thr Gly His Gly Thr Asp Asp Asp Val  
420 425 430

Ser Gly Phe Trp Thr Ile Ala Ser Thr Asn Phe Val Asp Ala Leu Ile  
435 440 445

Glu Val Gln Gly Thr Ala Ile Gln Arg Ile Leu Tyr Cys Asp Asp Pro  
450 455 460

Val Ser Gln Leu Lys Cys Ser Gln Val Ala Phe Asp Leu Asp Asp Gly  
465 470 475 480

Phe Tyr Pro Ile Ser Ser Arg Asn Leu Leu Ser His Glu Gln Pro Ile  
485 490 495

Ser Phe Val Thr Leu Pro Ser Phe Asn Asp His Ser Phe Val Asn Ile  
500 505 510

Thr Val Ser Ala Ser Phe Gly Gly His Ser Gly Ala Asn Leu Ile Ala  
515 520 525

Ser Asp Thr Thr Ile Asn Gly Phe Ser Ser Phe Cys Val Asp Thr Arg  
530 535 540

Gln Phe Thr Ile Ser Leu Phe Tyr Asn Val Thr Asn Ser Tyr Gly Tyr  
545 550 555 560

Val Ser Lys Ser Gln Asp Ser Asn Cys Pro Phe Thr Leu Gln Ser Val  
565 570 575

Asn Asp Tyr Leu Ser Phe Ser Lys Phe Cys Val Ser Thr Ser Leu Leu  
 580 585 590

Ala Ser Ala Cys Thr Ile Asp Leu Phe Gly Tyr Pro Glu Phe Gly Ser  
 595 600 605

Gly Val Lys Phe Thr Ser Leu Tyr Phe Gln Phe Thr Glu Gly Glu Leu  
 610 615 620

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

Met Thr Leu Asp Val Cys Thr Lys Tyr Thr Ile Tyr Gly Phe Lys Gly  
 645 650 655

Glu Gly Ile Ile Thr Leu Thr Asn Ser Ser Phe Leu Ala Gly Val Tyr  
 660 665 670

Tyr Thr Ser Asp Ser Gly Gln Leu Leu Ala Phe Lys Asn Val Thr Ser  
 675 680 685

Gly Ala Val Tyr Ser Val Thr Pro Cys Ser Phe Ser Glu Gln Ala Ala  
 690 695 700

Tyr Val Asp Asp Asp Ile Val Gly Val Ile Ser Ser Leu Ser Ser Ser  
 705 710 715 720

Thr Phe Asn Ser Thr Arg Glu Leu Pro Gly Phe Phe Tyr His Ser Asn  
 725 730 735

Asp Gly Ser Asn Cys Thr Glu Pro Val Leu Val Tyr Ser Asn Ile Gly  
 740 745 750

Val Cys Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Val Pro Ser Gln Ser Gly Gln  
 755 760 765

Val Lys Ile Ala Pro Thr Val Thr Gly Asn Ile Ser Ile Pro Thr Asn  
 770 775 780

Phe Ser Met Ser Ile Arg Thr Glu Tyr Leu Gln Leu Tyr Asn Thr Pro  
 785 790 795 800

Val Ser Val Asp Cys Ala Thr Tyr Val Cys Asn Gly Asn Ser Arg Cys  
 805 810 815

Lys Gln Leu Leu Thr Gln Tyr Thr Ala Ala Cys Lys Thr Ile Glu Ser  
 820 825 830

Ala Leu Gln Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ser Val Glu Val Asn Ser Met  
835 840 845

Leu Thr Ile Ser Glu Glu Ala Leu Gln Leu Ala Thr Ile Ser Ser Phe  
850 855 860

Asn Gly Asp Gly Tyr Asn Phe Thr Asn Val Leu Gly Val Ser Val Tyr  
865 870 875 880

Asp Pro Ala Ser Gly Arg Val Val Gln Lys Arg Ser Phe Ile Glu Asp  
885 890 895

Ala Ala Phe Asn Lys Val Val Thr Asn Gly Leu Gly Thr Val Asp Glu  
900 905 910

Asp Tyr Lys Arg Cys Ser Asn Gly Arg Ser Val Ala Asp Leu Val Cys  
915 920 925

Ala Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Met Val Leu Pro Gly Val Val Asp Ala  
930 935 940

Glu Lys Leu His Met Tyr Ser Ala Ser Leu Ile Gly Gly Met Val Leu  
945 950 955 960

Gly Gly Phe Thr Ser Ala Ala Ala Leu Pro Phe Ser Tyr Ala Val Gln  
965 970 975

Ala Arg Leu Asn Tyr Leu Ala Leu Gln Thr Asp Val Leu Gln Arg Asn  
980 985 990

Gln Gln Leu Leu Ala Glu Ser Phe Asn Ser Ala Ile Gly Asn Ile Thr  
995 1000 1005

Ser Ala Phe Glu Ser Val Lys Glu Ala Ile Ser Gln Thr Ser Lys  
1010 1015 1020

Gly Leu Asn Thr Val Ala His Ala Leu Thr Lys Val Gln Glu Val  
1025 1030 1035

Val Asn Ser Gln Gly Ala Ala Leu Thr Gln Leu Thr Val Gln Leu  
1040 1045 1050

Gln His Asn Phe Gln Ala Ile Ser Ser Ser Ile Asp Asp Ile Tyr  
1055 1060 1065

Ser Arg Leu Asp Ile Leu Ser Ala Asp Val Gln Val Asp Arg Leu  
1070 1075 1080

|                             |                     |             |
|-----------------------------|---------------------|-------------|
| Ile Thr Gly Arg Leu Ser Ala | Leu Asn Ala Phe Val | Ala Gln Thr |
| 1085                        | 1090                | 1095        |
| Leu Thr Lys Tyr Thr Glu Val | Gln Ala Ser Arg Lys | Leu Ala Gln |
| 1100                        | 1105                | 1110        |
| Gln Lys Val Asn Glu Cys Val | Lys Ser Gln Ser Gln | Arg Tyr Gly |
| 1115                        | 1120                | 1125        |
| Phe Cys Gly Gly Asp Gly Glu | His Ile Phe Ser Leu | Val Gln Ala |
| 1130                        | 1135                | 1140        |
| Ala Pro Gln Gly Leu Leu Phe | Leu His Thr Val Leu | Val Pro Gly |
| 1145                        | 1150                | 1155        |
| Asp Phe Ile Asp Val Ile Ala | Ile Ala Gly Leu Cys | Val Asn Asp |
| 1160                        | 1165                | 1170        |
| Glu Ile Ala Leu Thr Leu Arg | Glu Pro Gly Leu Val | Leu Phe Thr |
| 1175                        | 1180                | 1185        |
| His Glu Leu Gln Asn His Thr | Ala Thr Glu Tyr Phe | Val Ser Ser |
| 1190                        | 1195                | 1200        |
| Arg Arg Met Phe Glu Pro Arg | Lys Pro Thr Val Ser | Asp Phe Val |
| 1205                        | 1210                | 1215        |
| Gln Ile Glu Ser Cys Val Val | Thr Tyr Val Asn Leu | Thr Arg Asp |
| 1220                        | 1225                | 1230        |
| Gln Leu Pro Asp Val Ile Pro | Asp Tyr Ile Asp Val | Asn Lys Thr |
| 1235                        | 1240                | 1245        |
| Leu Asp Glu Ile Leu Ala Ser | Leu Pro Asn Arg Thr | Gly Pro Ser |
| 1250                        | 1255                | 1260        |
| Leu Pro Leu Asp Val Phe Asn | Ala Thr Tyr Leu Asn | Leu Thr Gly |
| 1265                        | 1270                | 1275        |
| Glu Ile Ala Asp Leu Glu Gln | Arg Ser Glu Ser Leu | Arg Asn Thr |
| 1280                        | 1285                | 1290        |
| Thr Glu Glu Leu Gln Ser Leu | Ile Tyr Asn Ile Asn | Asn Thr Leu |
| 1295                        | 1300                | 1305        |
| Val Asp Leu Glu Trp Leu Asn | Arg Val Glu Thr Tyr | Ile Lys Trp |
| 1310                        | 1315                | 1320        |

Pro Trp Trp Val Trp Leu Ile Val Phe Ile Val Leu Ile Phe Val  
 1325 1330 1335

Val Ser Leu Leu Val Phe Cys Cys Ile Ser Thr Gly Cys Cys Gly  
 1340 1345 1350

Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Cys Phe Ser Gly Cys Cys Arg Gly  
 1355 1360 1365

Pro Arg Leu Gln Pro Ala Glu Val Phe Glu Lys Val Arg Val Gln  
 1370 1375 1380

<210> 15

<211> 1388

<212> PRT

<213> virut gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn

<400> 15

Met Lys Ser Leu Thr Tyr Phe Trp Leu Phe Leu Pro Val Leu Ser Thr  
 1 5 10 15

Leu Ser Leu Pro Gln Asp Val Thr Arg Cys Ser Ala Asn Thr Asn Phe  
 20 25 30

Arg Arg Phe Phe Ser Lys Phe Asn Val Gln Ala Pro Ala Val Val Val  
 35 40 45

Leu Gly Gly Tyr Leu Pro Ile Gly Glu Asn Gln Gly Val Asn Ser Thr  
 50 55 60

Trp Tyr Cys Ala Gly Gln His Pro Thr Ala Ser Gly Val His Gly Ile  
 65 70 75 80

Phe Val Ser His Ile Arg Gly Gly His Gly Phe Glu Ile Gly Ile Ser  
 85 90 95

Gln Glu Pro Phe Asp Pro Ser Gly Tyr Gln Leu Tyr Leu His Lys Ala  
 100 105 110

Thr Asn Gly Asn Thr Asn Ala Thr Ala Arg Leu Arg Ile Cys Gln Phe  
 115 120 125

Pro Ser Ile Lys Thr Leu Gly Pro Thr Ala Asn Asn Asp Val Thr Thr  
 130 135 140

Gly Arg Asn Cys Leu Phe Asn Lys Ala Ile Pro Ala His Met Ser Glu  
 145 150 155 160

His Ser Val Val Gly Ile Thr Trp Asp Asn Asp Arg Val Thr Val Phe  
165 170 175

Ser Asp Lys Ile Tyr Tyr Phe Tyr Phe Lys Asn Asp Trp Ser Arg Val  
180 185 190

Ala Thr Lys Cys Tyr Asn Ser Gly Gly Cys Ala Met Gln Tyr Val Tyr  
195 200 205

Glu Pro Thr Tyr Tyr Met Leu Asn Val Thr Ser Ala Gly Glu Asp Gly  
210 215 220

Ile Ser Tyr Gln Pro Cys Thr Ala Asn Cys Ile Gly Tyr Ala Ala Asn  
225 230 235 240

Val Phe Ala Thr Glu Pro Asn Gly His Ile Pro Glu Gly Phe Ser Phe  
245 250 255

Asn Asn Trp Phe Leu Leu Ser Asn Asp Ser Thr Leu Val His Gly Lys  
260 265 270

Val Val Ser Asn Gln Pro Leu Leu Val Asn Cys Leu Leu Ala Ile Pro  
275 280 285

Lys Ile Tyr Gly Leu Gly Gln Phe Phe Ser Phe Asn Gln Thr Ile Asp  
290 295 300

Gly Val Cys Asn Gly Ala Ala Val Gln Arg Ala Pro Glu Ala Leu Arg  
305 310 315 320

Phe Asn Ile Asn Asp Thr Ser Val Ile Leu Ala Glu Gly Ser Ile Val  
325 330 335

Leu His Thr Ala Leu Gly Thr Asn Phe Ser Phe Val Cys Ser Asn Ser  
340 345 350

Ser Asn Pro His Leu Ala Thr Phe Ala Ile Pro Leu Gly Ala Thr Gln  
355 360 365

Val Pro Tyr Tyr Cys Phe Leu Lys Val Asp Thr Tyr Asn Ser Thr Val  
370 375 380

Tyr Lys Phe Leu Ala Val Leu Pro Pro Thr Val Arg Glu Ile Val Ile  
385 390 395 400

Thr Lys Tyr Gly Asp Val Tyr Val Asn Gly Phe Gly Tyr Leu His Leu  
405 410 415

Gly Leu Leu Asp Ala Val Thr Ile Asn Phe Thr Gly His Gly Thr Asp  
 420 425 430

Asp Asp Val Ser Gly Phe Trp Thr Ile Ala Ser Thr Asn Phe Val Asp  
 435 440 445

Ala Leu Ile Glu Val Gln Gly Thr Ala Ile Gln Arg Ile Leu Tyr Cys  
 450 455 460

Asp Asp Pro Val Ser Gln Leu Lys Cys Ser Gln Val Ala Phe Asp Leu  
 465 470 475 480

Asp Asp Gly Phe Tyr Pro Ile Ser Ser Arg Asn Leu Leu Ser His Glu  
 485 490 495

Gln Pro Ile Ser Phe Val Thr Leu Pro Ser Phe Asn Asp His Ser Phe  
 500 505 510

Val Asn Ile Thr Val Ser Ala Ser Phe Gly Gly His Ser Gly Ala Asn  
 515 520 525

Leu Ile Ala Ser Asp Thr Thr Ile Asn Gly Phe Ser Ser Phe Cys Val  
 530 535 540

Asp Thr Arg Gln Phe Thr Ile Ser Leu Phe Tyr Asn Val Thr Asn Ser  
 545 550 555 560

Tyr Gly Tyr Val Ser Lys Ser Gln Asp Ser Asn Cys Pro Phe Thr Leu  
 565 570 575

Gln Ser Val Asn Asp Tyr Leu Ser Phe Ser Lys Phe Cys Val Ser Thr  
 580 585 590

Ser Leu Leu Ala Ser Ala Cys Thr Ile Asp Leu Phe Gly Tyr Pro Glu  
 595 600 605

Phe Gly Ser Gly Val Lys Phe Thr Ser Leu Tyr Phe Gln Phe Thr Lys  
 610 615 620

Gly Glu Leu Ile Thr Gly Thr Pro Lys Pro Leu Glu Gly Val Thr Asp  
 625 630 635 640

Val Ser Phe Met Thr Leu Asp Val Cys Thr Lys Tyr Thr Ile Tyr Gly  
 645 650 655

Phe Lys Gly Glu Gly Ile Ile Thr Leu Thr Asn Ser Ser Phe Leu Ala  
 660 665 670

Gly Val Tyr Tyr Thr Ser Asp Ser Gly Gln Leu Leu Ala Phe Lys Asn  
675 680 685

Val Thr Ser Gly Ala Val Tyr Ser Val Thr Pro Cys Ser Phe Ser Glu  
690 695 700

Gln Ala Ala Tyr Val Asp Asp Asp Ile Val Gly Val Ile Ser Ser Leu  
705 710 715 720

Ser Ser Ser Thr Phe Asn Ser Thr Arg Glu Leu Pro Gly Phe Phe Tyr  
725 730 735

His Ser Asn Asp Gly Ser Asn Cys Thr Glu Pro Val Leu Val Tyr Ser  
740 745 750

Asn Ile Gly Val Cys Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Val Pro Ser Gln  
755 760 765

Ser Gly Gln Val Lys Ile Ala Pro Thr Val Thr Gly Asn Ile Ser Ile  
770 775 780

Pro Thr Asn Phe Ser Met Ser Ile Arg Thr Glu Tyr Leu Gln Leu Tyr  
785 790 795 800

Asn Thr Pro Val Ser Val Asp Cys Ala Thr Tyr Val Cys Asn Gly Asn  
805 810 815

Ser Arg Cys Lys Gln Leu Leu Thr Gln Tyr Thr Ala Ala Cys Lys Thr  
820 825 830

Ile Glu Ser Ala Leu Gln Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ser Val Glu Val  
835 840 845

Asn Ser Met Leu Thr Ile Ser Glu Glu Ala Leu Gln Leu Ala Thr Ile  
850 855 860

Ser Ser Phe Asn Gly Asp Gly Tyr Asn Phe Thr Asn Val Leu Gly Val  
865 870 875 880

Ser Val Tyr Asp Pro Ala Ser Gly Arg Val Val Gln Lys Arg Ser Phe  
885 890 895

Ile Glu Asp Ala Leu Phe Asn Lys Val Val Thr Asn Gly Leu Gly Thr  
900 905 910

Val Asp Glu Asp Tyr Lys Arg Cys Ser Asn Gly Arg Ser Val Ala Asp  
915 920 925

Leu Val Cys Ala Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Met Val Leu Pro Gly Val  
 930 935 940

Val Asp Ala Glu Lys Leu His Met Tyr Ser Ala Ser Leu Ile Gly Gly  
 945 950 955 960

Met Val Leu Gly Gly Phe Thr Ser Ala Ala Ala Leu Pro Phe Ser Tyr  
 965 970 975

Ala Val Gln Ala Arg Leu Asn Tyr Leu Ala Leu Gln Thr Asp Val Leu  
 980 985 990

Gln Arg Asn Gln Gln Leu Leu Ala Glu Ser Phe Asn Ser Ala Ile Gly  
 995 1000 1005

Asn Ile Thr Ser Ala Phe Glu Ser Val Lys Glu Ala Ile Ser Gln  
 1010 1015 1020

Thr Ser Lys Gly Leu Asn Thr Val Ala His Ala Leu Thr Lys Val  
 1025 1030 1035

Gln Glu Val Val Asn Ser Gln Gly Ala Ala Leu Thr Gln Leu Thr  
 1040 1045 1050

Val Gln Leu Gln His Asn Phe Gln Ala Ile Ser Ser Ser Ile Asp  
 1055 1060 1065

Asp Ile Tyr Ser Arg Leu Asp Ile Leu Ser Ala Asp Val Gln Val  
 1070 1075 1080

Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Ser Ala Leu Asn Ala Phe Val  
 1085 1090 1095

Ala Gln Thr Leu Thr Lys Tyr Thr Glu Val Gln Ala Ser Arg Lys  
 1100 1105 1110

Leu Ala Gln Gln Lys Val Asn Glu Cys Val Lys Ser Gln Ser Gln  
 1115 1120 1125

Arg Tyr Gly Phe Cys Gly Gly Asp Gly Glu His Ile Phe Ser Leu  
 1130 1135 1140

Val Gln Ala Ala Pro Gln Gly Leu Leu Phe Leu His Thr Val Leu  
 1145 1150 1155

Val Pro Ser Asp Phe Val Asp Val Ile Ala Ile Ala Gly Leu Cys  
 1160 1165 1170

Val Asn Asp Glu Ile Ala Leu Thr Leu Arg Glu Pro Gly Leu Val  
 1175 1180 1185  
  
 Leu Phe Thr His Glu Leu Gln Asn His Thr Ala Thr Glu Tyr Phe  
 1190 1195 1200  
  
 Val Ser Ser Arg Arg Met Phe Glu Pro Arg Lys Pro Thr Val Ser  
 1205 1210 1215  
  
 Asp Phe Val Gln Ile Glu Ser Cys Val Val Thr Tyr Val Asn Leu  
 1220 1225 1230  
  
 Thr Arg Asp Gln Leu Pro Asp Val Ile Pro Asp Tyr Ile Asp Val  
 1235 1240 1245  
  
 Asn Lys Thr Leu Asp Glu Ile Leu Ala Ser Leu Pro Asn Arg Thr  
 1250 1255 1260  
  
 Gly Pro Ser Leu Pro Leu Asp Val Phe Asn Ala Thr Tyr Leu Asn  
 1265 1270 1275  
  
 Leu Thr Gly Glu Ile Ala Asp Leu Glu Gln Arg Ser Glu Ser Leu  
 1280 1285 1290  
  
 Arg Asn Thr Thr Glu Glu Leu Gln Ser Leu Ile Tyr Asn Ile Asn  
 1295 1300 1305  
  
 Asn Thr Leu Val Asp Leu Glu Trp Leu Asn Arg Val Glu Thr Tyr  
 1310 1315 1320  
  
 Ile Lys Trp Pro Trp Trp Val Trp Leu Ile Ile Phe Ile Val Leu  
 1325 1330 1335  
  
 Ile Phe Val Val Ser Leu Leu Val Phe Cys Cys Ile Ser Thr Gly  
 1340 1345 1350  
  
 Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Cys Phe Ser Gly Cys  
 1355 1360 1365  
  
 Cys Arg Gly Pro Arg Leu Gln Pro Tyr Glu Val Phe Glu Lys Val  
 1370 1375 1380  
  
 His Val Gln Cys Gly  
 1385  
  
 <210> 16  
 <211> 1388  
 <212> PRT

<213> virut gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn

<400> 16

Met Lys Ser Leu Thr Tyr Phe Trp Leu Phe Leu Pro Val Leu Ser Thr  
1 5 10 15

Leu Ser Leu Pro Gln Asp Val Thr Arg Cys Ser Ala Asn Thr Asn Phe  
20 25 30

Arg Arg Phe Phe Ser Lys Phe Asn Val Gln Ala Pro Ala Val Val Val  
35 40 45

Leu Gly Gly Tyr Leu Pro Ile Gly Glu Asn Gln Gly Val Asn Ser Thr  
50 55 60

Trp Tyr Cys Ala Gly Gln His Pro Thr Ala Ser Gly Val His Gly Ile  
65 70 75 80

Phe Val Ser His Ile Arg Gly Gly His Gly Phe Glu Ile Gly Ile Ser  
85 90 95

Gln Glu Pro Phe Asp Pro Ser Gly Tyr Gln Leu Tyr Leu His Lys Ala  
100 105 110

Thr Asn Gly Asn Thr Asn Ala Thr Ala Arg Leu Arg Ile Cys Gln Phe  
115 120 125

Pro Ser Ile Lys Thr Leu Gly Pro Thr Ala Asn Asn Asp Val Thr Thr  
130 135 140

Gly Arg Asn Cys Leu Phe Asn Lys Ala Ile Pro Ala His Met Ser Glu  
145 150 155 160

His Ser Val Val Gly Ile Thr Trp Asp Asn Asp Arg Val Thr Val Phe  
165 170 175

Ser Asp Lys Ile Tyr Tyr Phe Tyr Phe Lys Asn Asp Trp Ser Arg Val  
180 185 190

Ala Thr Lys Cys Tyr Asn Ser Gly Gly Cys Ala Met Gln Tyr Val Tyr  
195 200 205

Glu Pro Thr Tyr Tyr Met Leu Asn Val Thr Ser Ala Gly Glu Asp Gly  
210 215 220

Ile Ser Tyr Gln Pro Cys Thr Ala Asn Cys Ile Gly Tyr Ala Ala Asn  
225 230 235 240

Val Phe Ala Thr Glu Pro Asn Gly His Ile Pro Glu Gly Phe Ser Phe  
 245 250 255  
 Asn Asn Trp Phe Leu Leu Ser Asn Asp Ser Thr Leu Val His Gly Lys  
 260 265 270  
 Val Val Ser Asn Gln Pro Leu Leu Val Asn Cys Leu Leu Ala Ile Pro  
 275 280 285  
 Lys Ile Tyr Gly Leu Gly Gln Phe Phe Ser Phe Asn Gln Thr Ile Asp  
 290 295 300  
 Gly Val Cys Asn Gly Ala Ala Val Gln Arg Ala Pro Glu Ala Leu Arg  
 305 310 315 320  
 Phe Asn Ile Asn Asp Thr Ser Val Ile Leu Ala Glu Gly Ser Ile Val  
 325 330 335  
 Leu His Thr Ala Leu Gly Thr Asn Phe Ser Phe Val Cys Ser Asn Ser  
 340 345 350  
 Ser Asn Pro His Leu Ala Thr Phe Ala Ile Pro Leu Gly Ala Thr Gln  
 355 360 365  
 Val Pro Tyr Tyr Cys Phe Leu Lys Val Asp Thr Tyr Asn Ser Thr Val  
 370 375 380  
 Tyr Lys Phe Leu Ala Val Leu Pro Pro Thr Val Arg Glu Ile Val Ile  
 385 390 395 400  
 Thr Lys Tyr Gly Asp Val Tyr Val Asn Gly Phe Gly Tyr Leu His Leu  
 405 410 415  
 Gly Leu Leu Asp Ala Val Thr Ile Asn Phe Thr Gly His Gly Thr Asp  
 420 425 430  
 Asp Asp Val Ser Gly Phe Trp Thr Ile Ala Ser Thr Asn Phe Val Asp  
 435 440 445  
 Ala Leu Ile Glu Val Gln Gly Thr Ala Ile Gln Arg Ile Leu Tyr Cys  
 450 455 460  
 Asp Asp Pro Val Ser Gln Leu Lys Cys Ser Gln Val Ala Phe Asp Leu  
 465 470 475 480  
 Asp Asp Gly Phe Tyr Pro Ile Ser Ser Arg Asn Leu Leu Ser His Glu  
 485 490 495

Gln Pro Ile Ser Phe Val Thr Leu Pro Ser Phe Asn Asp His Ser Phe  
 500 505 510

Val Asn Ile Thr Val Ser Ala Ser Phe Gly Gly His Ser Gly Ala Asn  
 515 520 525

Leu Ile Ala Ser Asp Thr Thr Ile Asn Gly Phe Ser Ser Phe Cys Val  
 530 535 540

Asp Thr Arg Gln Phe Thr Ile Ser Leu Phe Tyr Asn Val Thr Asn Ser  
 545 550 555 560

Tyr Gly Tyr Val Ser Lys Ser Gln Asp Ser Asn Cys Pro Phe Thr Leu  
 565 570 575

Gln Ser Val Asn Asp Tyr Leu Ser Phe Ser Lys Phe Cys Val Ser Thr  
 580 585 590

Ser Leu Leu Ala Ser Ala Cys Thr Ile Asp Leu Phe Gly Tyr Pro Glu  
 595 600 605

Phe Gly Ser Gly Val Lys Phe Thr Ser Leu Tyr Phe Gln Phe Thr Lys  
 610 615 620

Gly Glu Leu Ile Thr Gly Thr Pro Lys Pro Leu Glu Gly Val Thr Asp  
 625 630 635 640

Val Ser Phe Met Thr Leu Asp Val Cys Thr Lys Tyr Thr Ile Tyr Gly  
 645 650 655

Phe Lys Gly Glu Gly Ile Ile Thr Leu Thr Asn Ser Ser Phe Leu Ala  
 660 665 670

Gly Val Tyr Tyr Thr Ser Asp Ser Gly Gln Leu Leu Ala Phe Lys Asn  
 675 680 685

Val Thr Ser Gly Ala Val Tyr Ser Val Thr Pro Cys Ser Phe Ser Glu  
 690 695 700

Gln Ala Ala Tyr Val Asp Asp Asp Ile Val Gly Val Ile Ser Ser Leu  
 705 710 715 720

Ser Ser Ser Thr Phe Asn Ser Thr Arg Glu Leu Pro Gly Phe Phe Tyr  
 725 730 735

His Ser Asn Asp Gly Ser Asn Cys Thr Glu Pro Val Leu Val Tyr Ser  
 740 745 750

Asn Ile Gly Val Cys Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Val Pro Ser Gln  
 755 760 765  
  
 Ser Gly Gln Val Lys Ile Ala Pro Thr Val Thr Gly Asn Ile Ser Ile  
 770 775 780  
  
 Pro Thr Asn Phe Ser Met Ser Ile Arg Thr Glu Tyr Leu Gln Leu Tyr  
 785 790 795 800  
  
 Asn Thr Pro Val Ser Val Asp Cys Ala Thr Tyr Val Cys Asn Gly Asn  
 805 810 815  
  
 Ser Arg Cys Lys Gln Leu Leu Thr Gln Tyr Thr Ala Ala Cys Lys Thr  
 820 825 830  
  
 Ile Glu Ser Ala Leu Gln Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ser Val Glu Val  
 835 840 845  
  
 Asn Ser Met Leu Thr Ile Ser Glu Glu Ala Leu Gln Leu Ala Thr Ile  
 850 855 860  
  
 Ser Ser Phe Asn Gly Asp Gly Tyr Asn Phe Thr Asn Val Leu Gly Val  
 865 870 875 880  
  
 Ser Val Tyr Asp Pro Ala Ser Gly Arg Val Val Gln Lys Arg Ser Phe  
 885 890 895  
  
 Ile Glu Asp Leu Ala Phe Asn Lys Val Val Thr Asn Gly Leu Gly Thr  
 900 905 910  
  
 Val Asp Glu Asp Tyr Lys Arg Cys Ser Asn Gly Arg Ser Val Ala Asp  
 915 920 925  
  
 Leu Val Cys Ala Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Met Val Leu Pro Gly Val  
 930 935 940  
  
 Val Asp Ala Glu Lys Leu His Met Tyr Ser Ala Ser Leu Ile Gly Gly  
 945 950 955 960  
  
 Met Val Leu Gly Gly Phe Thr Ser Ala Ala Ala Leu Pro Phe Ser Tyr  
 965 970 975  
  
 Ala Val Gln Ala Arg Leu Asn Tyr Leu Ala Leu Gln Thr Asp Val Leu  
 980 985 990  
  
 Gln Arg Asn Gln Gln Leu Leu Ala Glu Ser Phe Asn Ser Ala Ile Gly  
 995 1000 1005

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

Asn Lys Thr Leu Asp Glu Ile Leu Ala Ser Leu Pro Asn Arg Thr  
1250 1255 1260

Gly Pro Ser Leu Pro Leu Asp Val Phe Asn Ala Thr Tyr Leu Asn  
1265 1270 1275

Leu Thr Gly Glu Ile Ala Asp Leu Glu Gln Arg Ser Glu Ser Leu  
1280 1285 1290

Arg Asn Thr Thr Glu Glu Leu Gln Ser Leu Ile Tyr Asn Ile Asn  
1295 1300 1305

Asn Thr Leu Val Asp Leu Glu Trp Leu Asn Arg Val Glu Thr Tyr  
1310 1315 1320

Ile Lys Trp Pro Trp Trp Val Trp Leu Ile Ile Phe Ile Val Leu  
1325 1330 1335

Ile Phe Val Val Ser Leu Leu Val Phe Cys Cys Ile Ser Thr Gly  
1340 1345 1350

Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Cys Phe Ser Gly Cys  
1355 1360 1365

Cys Arg Gly Pro Arg Leu Gln Pro Tyr Glu Val Phe Glu Lys Val  
1370 1375 1380

His Val Gln Cys Gly  
1385

<210> 17  
<211> 1388  
<212> PRT  
<213> virut gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn

<400> 17

Met Lys Ser Leu Thr Tyr Phe Trp Leu Phe Leu Pro Val Leu Ser Thr  
1 5 10 15

Leu Ser Leu Pro Gln Asp Val Thr Arg Cys Ser Ala Asn Thr Asn Phe  
20 25 30

Arg Arg Phe Phe Ser Lys Phe Asn Val Gln Ala Pro Ala Val Val Val  
35 40 45

Leu Gly Gly Tyr Leu Pro Ile Gly Glu Asn Gln Gly Val Asn Ser Thr  
50 55 60

Trp Tyr Cys Ala Gly Gln His Pro Thr Ala Ser Gly Val His Gly Ile

```

65                               70                               75                               80

Phe Val Ser His Ile Arg Gly Gly His Gly Phe Glu Ile Gly Ile Ser
                        85                               90                               95

Gln Glu Pro Phe Asp Pro Ser Gly Tyr Gln Leu Tyr Leu His Lys Ala
                        100                               105                               110

Thr Asn Gly Asn Thr Asn Ala Thr Ala Arg Leu Arg Ile Cys Gln Phe
                        115                               120                               125

Pro Ser Ile Lys Thr Leu Gly Pro Thr Ala Asn Asn Asp Val Thr Thr
                        130                               135                               140

Gly Arg Asn Cys Leu Phe Asn Lys Ala Ile Pro Ala His Met Ser Glu
145                               150                               155                               160

His Ser Val Val Gly Ile Thr Trp Asp Asn Asp Arg Val Thr Val Phe
                        165                               170                               175

Ser Asp Lys Ile Tyr Tyr Phe Tyr Phe Lys Asn Asp Trp Ser Arg Val
                        180                               185                               190

Ala Thr Lys Cys Tyr Asn Ser Gly Gly Cys Ala Met Gln Tyr Val Tyr
                        195                               200                               205

Glu Pro Thr Tyr Tyr Met Leu Asn Val Thr Ser Ala Gly Glu Asp Gly
210                               215                               220

Ile Ser Tyr Gln Pro Cys Thr Ala Asn Cys Ile Gly Tyr Ala Ala Asn
225                               230                               235                               240

Val Phe Ala Thr Glu Pro Asn Gly His Ile Pro Glu Gly Phe Ser Phe
                        245                               250                               255

Asn Asn Trp Phe Leu Leu Ser Asn Asp Ser Thr Leu Val His Gly Lys
260                               265                               270

Val Val Ser Asn Gln Pro Leu Leu Val Asn Cys Leu Leu Ala Ile Pro
275                               280                               285

Lys Ile Tyr Gly Leu Gly Gln Phe Phe Ser Phe Asn Gln Thr Ile Asp
290                               295                               300

Gly Val Cys Asn Gly Ala Ala Val Gln Arg Ala Pro Glu Ala Leu Arg
305                               310                               315                               320

Phe Asn Ile Asn Asp Thr Ser Val Ile Leu Ala Glu Gly Ser Ile Val

```

325 330 335  
 Leu His Thr Ala Leu Gly Thr Asn Phe Ser Phe Val Cys Ser Asn Ser  
 340 345 350  
 Ser Asn Pro His Leu Ala Thr Phe Ala Ile Pro Leu Gly Ala Thr Gln  
 355 360 365  
 Val Pro Tyr Tyr Cys Phe Leu Lys Val Asp Thr Tyr Asn Ser Thr Val  
 370 375 380  
 Tyr Lys Phe Leu Ala Val Leu Pro Pro Thr Val Arg Glu Ile Val Ile  
 385 390 395 400  
 Thr Lys Tyr Gly Asp Val Tyr Val Asn Gly Phe Gly Tyr Leu His Leu  
 405 410 415  
 Gly Leu Leu Asp Ala Val Thr Ile Asn Phe Thr Gly His Gly Thr Asp  
 420 425 430  
 Asp Asp Val Ser Gly Phe Trp Thr Ile Ala Ser Thr Asn Phe Val Asp  
 435 440 445  
 Ala Leu Ile Glu Val Gln Gly Thr Ala Ile Gln Arg Ile Leu Tyr Cys  
 450 455 460  
 Asp Asp Pro Val Ser Gln Leu Lys Cys Ser Gln Val Ala Phe Asp Leu  
 465 470 475 480  
 Asp Asp Gly Phe Tyr Pro Ile Ser Ser Arg Asn Leu Leu Ser His Glu  
 485 490 495  
 Gln Pro Ile Ser Phe Val Thr Leu Pro Ser Phe Asn Asp His Ser Phe  
 500 505 510  
 Val Asn Ile Thr Val Ser Ala Ser Phe Gly Gly His Ser Gly Ala Asn  
 515 520 525  
 Leu Ile Ala Ser Asp Thr Thr Ile Asn Gly Phe Ser Ser Phe Cys Val  
 530 535 540  
 Asp Thr Arg Gln Phe Thr Ile Ser Leu Phe Tyr Asn Val Thr Asn Ser  
 545 550 555 560  
 Tyr Gly Tyr Val Ser Lys Ser Gln Asp Ser Asn Cys Pro Phe Thr Leu  
 565 570 575  
 Gln Ser Val Asn Asp Tyr Leu Ser Phe Ser Lys Phe Cys Val Ser Thr

```

580                               585                               590

Ser Leu Leu Ala Ser Ala Cys Thr Ile Asp Leu Phe Gly Tyr Pro Glu
595                               600                               605

Phe Gly Ser Gly Val Lys Phe Thr Ser Leu Tyr Phe Gln Phe Thr Lys
610                               615                               620

Gly Glu Leu Ile Thr Gly Thr Pro Lys Pro Leu Glu Gly Val Thr Asp
625                               630                               635                               640

Val Ser Phe Met Thr Leu Asp Val Cys Thr Lys Tyr Thr Ile Tyr Gly
645                               650                               655

Phe Lys Gly Glu Gly Ile Ile Thr Leu Thr Asn Ser Ser Phe Leu Ala
660                               665                               670

Gly Val Tyr Tyr Thr Ser Asp Ser Gly Gln Leu Leu Ala Phe Lys Asn
675                               680                               685

Val Thr Ser Gly Ala Val Tyr Ser Val Thr Pro Cys Ser Phe Ser Glu
690                               695                               700

Gln Ala Ala Tyr Val Asp Asp Asp Ile Val Gly Val Ile Ser Ser Leu
705                               710                               715                               720

Ser Ser Ser Thr Phe Asn Ser Thr Arg Glu Leu Pro Gly Phe Phe Tyr
725                               730                               735

His Ser Asn Asp Gly Ser Asn Cys Thr Glu Pro Val Leu Val Tyr Ser
740                               745                               750

Asn Ile Gly Val Cys Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Val Pro Ser Gln
755                               760                               765

Ser Gly Gln Val Lys Ile Ala Pro Thr Val Thr Gly Asn Ile Ser Ile
770                               775                               780

Pro Thr Asn Phe Ser Met Ser Ile Arg Thr Glu Tyr Leu Gln Leu Tyr
785                               790                               795                               800

Asn Thr Pro Val Ser Val Asp Cys Ala Thr Tyr Val Cys Asn Gly Asn
805                               810                               815

Ser Arg Cys Lys Gln Leu Leu Thr Gln Tyr Thr Ala Ala Cys Lys Thr
820                               825                               830

Ile Glu Ser Ala Leu Gln Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ser Val Glu Val

```

```

      835              840              845

Asn Ser Met Leu Thr Ile Ser Glu Glu Ala Leu Gln Leu Ala Thr Ile
  850              855              860

Ser Ser Phe Asn Gly Asp Gly Tyr Asn Phe Thr Asn Val Leu Gly Val
  865              870              875              880

Ser Val Tyr Asp Pro Ala Ser Gly Arg Val Val Gln Lys Arg Ser Phe
      885              890              895

Ile Glu Asp Ala Ala Phe Asn Lys Val Val Thr Asn Gly Leu Gly Thr
      900              905              910

Val Asp Glu Asp Tyr Lys Arg Cys Ser Asn Gly Arg Ser Val Ala Asp
      915              920              925

Leu Val Cys Ala Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Met Val Leu Pro Gly Val
      930              935              940

Val Asp Ala Glu Lys Leu His Met Tyr Ser Ala Ser Leu Ile Gly Gly
  945              950              955              960

Met Val Leu Gly Gly Phe Thr Ser Ala Ala Ala Leu Pro Phe Ser Tyr
      965              970              975

Ala Val Gln Ala Arg Leu Asn Tyr Leu Ala Leu Gln Thr Asp Val Leu
      980              985              990

Gln Arg Asn Gln Gln Leu Leu Ala Glu Ser Phe Asn Ser Ala Ile Gly
      995              1000              1005

Asn Ile Thr Ser Ala Phe Glu Ser Val Lys Glu Ala Ile Ser Gln
  1010              1015              1020

Thr Ser Lys Gly Leu Asn Thr Val Ala His Ala Leu Thr Lys Val
  1025              1030              1035

Gln Glu Val Val Asn Ser Gln Gly Ala Ala Leu Thr Gln Leu Thr
  1040              1045              1050

Val Gln Leu Gln His Asn Phe Gln Ala Ile Ser Ser Ser Ile Asp
  1055              1060              1065

Asp Ile Tyr Ser Arg Leu Asp Ile Leu Ser Ala Asp Val Gln Val
  1070              1075              1080

Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Ser Ala Leu Asn Ala Phe Val

```

|                                                             |  |      |  |      |
|-------------------------------------------------------------|--|------|--|------|
| 1085                                                        |  | 1090 |  | 1095 |
| Ala Gln Thr Leu Thr Lys Tyr Thr Glu Val Gln Ala Ser Arg Lys |  |      |  |      |
| 1100                                                        |  | 1105 |  | 1110 |
| Leu Ala Gln Gln Lys Val Asn Glu Cys Val Lys Ser Gln Ser Gln |  |      |  |      |
| 1115                                                        |  | 1120 |  | 1125 |
| Arg Tyr Gly Phe Cys Gly Gly Asp Gly Glu His Ile Phe Ser Leu |  |      |  |      |
| 1130                                                        |  | 1135 |  | 1140 |
| Val Gln Ala Ala Pro Gln Gly Leu Leu Phe Leu His Thr Val Leu |  |      |  |      |
| 1145                                                        |  | 1150 |  | 1155 |
| Val Pro Ser Asp Phe Val Asp Val Ile Ala Ile Ala Gly Leu Cys |  |      |  |      |
| 1160                                                        |  | 1165 |  | 1170 |
| Val Asn Asp Glu Ile Ala Leu Thr Leu Arg Glu Pro Gly Leu Val |  |      |  |      |
| 1175                                                        |  | 1180 |  | 1185 |
| Leu Phe Thr His Glu Leu Gln Asn His Thr Ala Thr Glu Tyr Phe |  |      |  |      |
| 1190                                                        |  | 1195 |  | 1200 |
| Val Ser Ser Arg Arg Met Phe Glu Pro Arg Lys Pro Thr Val Ser |  |      |  |      |
| 1205                                                        |  | 1210 |  | 1215 |
| Asp Phe Val Gln Ile Glu Ser Cys Val Val Thr Tyr Val Asn Leu |  |      |  |      |
| 1220                                                        |  | 1225 |  | 1230 |
| Thr Arg Asp Gln Leu Pro Asp Val Ile Pro Asp Tyr Ile Asp Val |  |      |  |      |
| 1235                                                        |  | 1240 |  | 1245 |
| Asn Lys Thr Leu Asp Glu Ile Leu Ala Ser Leu Pro Asn Arg Thr |  |      |  |      |
| 1250                                                        |  | 1255 |  | 1260 |
| Gly Pro Ser Leu Pro Leu Asp Val Phe Asn Ala Thr Tyr Leu Asn |  |      |  |      |
| 1265                                                        |  | 1270 |  | 1275 |
| Leu Thr Gly Glu Ile Ala Asp Leu Glu Gln Arg Ser Glu Ser Leu |  |      |  |      |
| 1280                                                        |  | 1285 |  | 1290 |
| Arg Asn Thr Thr Glu Glu Leu Gln Ser Leu Ile Tyr Asn Ile Asn |  |      |  |      |
| 1295                                                        |  | 1300 |  | 1305 |
| Asn Thr Leu Val Asp Leu Glu Trp Leu Asn Arg Val Glu Thr Tyr |  |      |  |      |
| 1310                                                        |  | 1315 |  | 1320 |
| Ile Lys Trp Pro Trp Trp Val Trp Leu Ile Ile Phe Ile Val Leu |  |      |  |      |

```

1325              1330              1335

Ile Phe Val Val Ser Leu Leu Val Phe Cys Cys Ile Ser Thr Gly
1340              1345              1350

Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Cys Phe Ser Gly Cys
1355              1360              1365

Cys Arg Gly Pro Arg Leu Gln Pro Tyr Glu Val Phe Glu Lys Val
1370              1375              1380

His Val Gln Cys Gly
1385

<210> 18
<211> 1388
<212> PRT
<213> virut gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn

<400> 18

Met Lys Ser Leu Thr Tyr Phe Trp Leu Phe Leu Pro Val Leu Ser Thr
1      5      10      15

Leu Ser Leu Pro Gln Asp Val Thr Arg Cys Ser Ala Asn Thr Asn Phe
20      25      30

Arg Arg Phe Phe Ser Lys Phe Asn Val Gln Ala Pro Ala Val Val Val
35      40      45

Leu Gly Gly Tyr Leu Pro Ile Gly Glu Asn Gln Gly Val Asn Ser Thr
50      55      60

Trp Tyr Cys Ala Gly Gln His Pro Thr Ala Ser Gly Val His Gly Ile
65      70      75      80

Phe Val Ser His Ile Arg Gly Gly His Gly Phe Glu Ile Gly Ile Ser
85      90      95

Gln Glu Pro Phe Asp Pro Ser Gly Tyr Gln Leu Tyr Leu His Lys Ala
100     105     110

Thr Asn Gly Asn Thr Asn Ala Thr Ala Arg Leu Arg Ile Cys Gln Phe
115     120     125

Pro Ser Ile Lys Thr Leu Gly Pro Thr Ala Asn Asn Asp Val Thr Thr
130     135     140

Gly Arg Asn Cys Leu Phe Asn Lys Ala Ile Pro Ala His Met Ser Glu
145     150     155     160

```

His Ser Val Val Gly Ile Thr Trp Asp Asn Asp Arg Val Thr Val Phe  
 165 170 175

Ser Asp Lys Ile Tyr Tyr Phe Tyr Phe Lys Asn Asp Trp Ser Arg Val  
 180 185 190

Ala Thr Lys Cys Tyr Asn Ser Gly Gly Cys Ala Met Gln Tyr Val Tyr  
 195 200 205

Glu Pro Thr Tyr Tyr Met Leu Asn Val Thr Ser Ala Gly Glu Asp Gly  
 210 215 220

Ile Ser Tyr Gln Pro Cys Thr Ala Asn Cys Ile Gly Tyr Ala Ala Asn  
 225 230 235 240

Val Phe Ala Thr Glu Pro Asn Gly His Ile Pro Glu Gly Phe Ser Phe  
 245 250 255

Asn Asn Trp Phe Leu Leu Ser Asn Asp Ser Thr Leu Val His Gly Lys  
 260 265 270

Val Val Ser Asn Gln Pro Leu Leu Val Asn Cys Leu Leu Ala Ile Pro  
 275 280 285

Lys Ile Tyr Gly Leu Gly Gln Phe Phe Ser Phe Asn Gln Thr Ile Asp  
 290 295 300

Gly Val Cys Asn Gly Ala Ala Val Gln Arg Ala Pro Glu Ala Leu Arg  
 305 310 315 320

Phe Asn Ile Asn Asp Thr Ser Val Ile Leu Ala Glu Gly Ser Ile Val  
 325 330 335

Leu His Thr Ala Leu Gly Thr Asn Phe Ser Phe Val Cys Ser Asn Ser  
 340 345 350

Ser Asn Pro His Leu Ala Thr Phe Ala Ile Pro Leu Gly Ala Thr Gln  
 355 360 365

Val Pro Tyr Tyr Cys Phe Leu Lys Val Asp Thr Tyr Asn Ser Thr Val  
 370 375 380

Tyr Lys Phe Leu Ala Val Leu Pro Pro Thr Val Arg Glu Ile Val Ile  
 385 390 395 400

Thr Lys Tyr Gly Asp Val Tyr Val Asn Gly Phe Gly Tyr Leu His Leu  
 405 410 415

Gly Leu Leu Asp Ala Val Thr Ile Asn Phe Thr Gly His Gly Thr Asp  
 420 425 430

Asp Asp Val Ser Gly Phe Trp Thr Ile Ala Ser Thr Asn Phe Val Asp  
 435 440 445

Ala Leu Ile Glu Val Gln Gly Thr Ala Ile Gln Arg Ile Leu Tyr Cys  
 450 455 460

Asp Asp Pro Val Ser Gln Leu Lys Cys Ser Gln Val Ala Phe Asp Leu  
 465 470 475 480

Asp Asp Gly Phe Tyr Pro Ile Ser Ser Arg Asn Leu Leu Ser His Glu  
 485 490 495

Gln Pro Ile Ser Phe Val Thr Leu Pro Ser Phe Asn Asp His Ser Phe  
 500 505 510

Val Asn Ile Thr Val Ser Ala Ser Phe Gly Gly His Ser Gly Ala Asn  
 515 520 525

Leu Ile Ala Ser Asp Thr Thr Ile Asn Gly Phe Ser Ser Phe Cys Val  
 530 535 540

Asp Thr Arg Gln Phe Thr Ile Ser Leu Phe Tyr Asn Val Thr Asn Ser  
 545 550 555 560

Tyr Gly Tyr Val Ser Lys Ser Gln Asp Ser Asn Cys Pro Phe Thr Leu  
 565 570 575

Gln Ser Val Asn Asp Tyr Leu Ser Phe Ser Lys Phe Cys Val Ser Thr  
 580 585 590

Ser Leu Leu Ala Ser Ala Cys Thr Ile Asp Leu Phe Gly Tyr Pro Glu  
 595 600 605

Phe Gly Ser Gly Val Lys Phe Thr Ser Leu Tyr Phe Gln Phe Thr Lys  
 610 615 620

Gly Glu Leu Ile Thr Gly Thr Pro Lys Pro Leu Glu Gly Val Thr Asp  
 625 630 635 640

Val Ser Phe Met Thr Leu Asp Val Cys Thr Lys Tyr Thr Ile Tyr Gly  
 645 650 655

Phe Lys Gly Glu Gly Ile Ile Thr Leu Thr Asn Ser Ser Phe Leu Ala  
 660 665 670

Gly Val Tyr Tyr Thr Ser Asp Ser Gly Gln Leu Leu Ala Phe Lys Asn  
 675 680 685  
 Val Thr Ser Gly Ala Val Tyr Ser Val Thr Pro Cys Ser Phe Ser Glu  
 690 695 700  
 Gln Ala Ala Tyr Val Asp Asp Asp Ile Val Gly Val Ile Ser Ser Leu  
 705 710 715 720  
 Ser Ser Ser Thr Phe Asn Ser Thr Arg Glu Leu Pro Gly Phe Phe Tyr  
 725 730 735  
 His Ser Asn Asp Gly Ser Asn Cys Thr Glu Pro Val Leu Val Tyr Ser  
 740 745 750  
 Asn Ile Gly Val Cys Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Val Pro Ser Gln  
 755 760 765  
 Ser Gly Gln Val Lys Ile Ala Pro Thr Val Thr Gly Asn Ile Ser Ile  
 770 775 780  
 Pro Thr Asn Phe Ser Met Ser Ile Arg Thr Glu Tyr Leu Gln Leu Tyr  
 785 790 795 800  
 Asn Thr Pro Val Ser Val Asp Cys Ala Thr Tyr Val Cys Asn Gly Asn  
 805 810 815  
 Ser Arg Cys Lys Gln Leu Leu Thr Gln Tyr Thr Ala Ala Cys Lys Thr  
 820 825 830  
 Ile Glu Ser Ala Leu Gln Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ser Val Glu Val  
 835 840 845  
 Asn Ser Met Leu Thr Ile Ser Glu Glu Ala Leu Gln Leu Ala Thr Ile  
 850 855 860  
 Ser Ser Phe Asn Gly Asp Gly Tyr Asn Phe Thr Asn Val Leu Gly Val  
 865 870 875 880  
 Ser Val Tyr Asp Pro Ala Ser Gly Arg Val Val Gln Lys Arg Ser Phe  
 885 890 895  
 Ile Glu Asp Ala Leu Phe Asn Lys Val Val Thr Asn Gly Leu Gly Thr  
 900 905 910  
 Val Asp Glu Asp Tyr Lys Arg Cys Ser Asn Gly Arg Ser Val Ala Asp  
 915 920 925

Leu Val Cys Ala Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Met Val Leu Pro Gly Val  
 930 935 940

Val Asp Ala Glu Lys Leu His Met Tyr Ser Ala Ser Leu Ile Gly Gly  
 945 950 955 960

Met Val Leu Gly Gly Phe Thr Ser Ala Ala Ala Leu Pro Phe Ser Tyr  
 965 970 975

Ala Val Gln Ala Arg Leu Asn Tyr Leu Ala Leu Gln Thr Asp Val Leu  
 980 985 990

Gln Arg Asn Gln Gln Leu Leu Ala Glu Ser Phe Asn Ser Ala Ile Gly  
 995 1000 1005

Asn Ile Thr Ser Ala Phe Glu Ser Val Lys Glu Ala Ile Ser Gln  
 1010 1015 1020

Thr Ser Lys Gly Leu Asn Thr Val Ala His Ala Leu Thr Lys Val  
 1025 1030 1035

Gln Glu Val Val Asn Ser Gln Gly Ala Ala Leu Thr Gln Leu Thr  
 1040 1045 1050

Val Gln Leu Gln His Asn Phe Gln Ala Ile Ser Ser Ser Ile Asp  
 1055 1060 1065

Asp Ile Tyr Ser Arg Leu Asp Ile Leu Ser Ala Asp Val Gln Val  
 1070 1075 1080

Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Ser Ala Leu Asn Ala Phe Val  
 1085 1090 1095

Ala Gln Thr Leu Thr Lys Tyr Thr Glu Val Gln Ala Ser Arg Lys  
 1100 1105 1110

Leu Ala Gln Gln Lys Val Asn Glu Cys Val Lys Ser Gln Ser Gln  
 1115 1120 1125

Arg Tyr Gly Phe Cys Gly Gly Asp Gly Glu His Ile Phe Ser Leu  
 1130 1135 1140

Val Gln Ala Ala Pro Gln Gly Leu Leu Phe Leu His Thr Val Leu  
 1145 1150 1155

Val Pro Ser Asp Phe Val Asp Val Ile Ala Ile Ala Gly Leu Cys  
 1160 1165 1170

Val Asn Asp Glu Ile Ala Leu Thr Leu Arg Glu Pro Gly Leu Val  
 1175 1180 1185  
  
 Leu Phe Thr His Glu Leu Gln Asn His Thr Ala Thr Glu Tyr Phe  
 1190 1195 1200  
  
 Val Ser Ser Arg Arg Met Phe Glu Pro Arg Lys Pro Thr Val Ser  
 1205 1210 1215  
  
 Asp Phe Val Gln Ile Glu Ser Cys Val Val Thr Tyr Val Asn Leu  
 1220 1225 1230  
  
 Thr Arg Asp Gln Leu Pro Asp Val Ile Pro Asp Tyr Ile Asp Val  
 1235 1240 1245  
  
 Asn Lys Thr Leu Asp Glu Ile Leu Ala Ser Leu Pro Asn Arg Thr  
 1250 1255 1260  
  
 Gly Pro Ser Leu Pro Leu Asp Val Phe Asn Ala Thr Tyr Leu Asn  
 1265 1270 1275  
  
 Leu Thr Gly Glu Ile Ala Asp Leu Glu Gln Arg Ser Glu Ser Leu  
 1280 1285 1290  
  
 Arg Asn Thr Thr Glu Glu Leu Gln Ser Leu Ile Tyr Asn Ile Asn  
 1295 1300 1305  
  
 Asn Thr Leu Val Asp Leu Glu Trp Leu Asn Arg Val Glu Thr Tyr  
 1310 1315 1320  
  
 Ile Lys Trp Pro Trp Trp Val Trp Leu Ile Ile Phe Ile Val Leu  
 1325 1330 1335  
  
 Ile Phe Val Val Ser Leu Leu Val Phe Cys Cys Ile Ser Thr Gly  
 1340 1345 1350  
  
 Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Cys Phe Ser Gly Cys  
 1355 1360 1365  
  
 Cys Arg Gly Pro Arg Leu Gln Pro Ala Glu Val Phe Glu Lys Val  
 1370 1375 1380  
  
 Arg Val Gln Cys Gly  
 1385  
  
 <210> 19  
 <211> 1388

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; virut gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn

&lt;400&gt; 19

Met Lys Ser Leu Thr Tyr Phe Trp Leu Phe Leu Pro Val Leu Ser Thr  
 1 5 10 15

Leu Ser Leu Pro Gln Asp Val Thr Arg Cys Ser Ala Asn Thr Asn Phe  
 20 25 30

Arg Arg Phe Phe Ser Lys Phe Asn Val Gln Ala Pro Ala Val Val Val  
 35 40 45

Leu Gly Gly Tyr Leu Pro Ile Gly Glu Asn Gln Gly Val Asn Ser Thr  
 50 55 60

Trp Tyr Cys Ala Gly Gln His Pro Thr Ala Ser Gly Val His Gly Ile  
 65 70 75 80

Phe Val Ser His Ile Arg Gly Gly His Gly Phe Glu Ile Gly Ile Ser  
 85 90 95

Gln Glu Pro Phe Asp Pro Ser Gly Tyr Gln Leu Tyr Leu His Lys Ala  
 100 105 110

Thr Asn Gly Asn Thr Asn Ala Thr Ala Arg Leu Arg Ile Cys Gln Phe  
 115 120 125

Pro Ser Ile Lys Thr Leu Gly Pro Thr Ala Asn Asn Asp Val Thr Thr  
 130 135 140

Gly Arg Asn Cys Leu Phe Asn Lys Ala Ile Pro Ala His Met Ser Glu  
 145 150 155 160

His Ser Val Val Gly Ile Thr Trp Asp Asn Asp Arg Val Thr Val Phe  
 165 170 175

Ser Asp Lys Ile Tyr Tyr Phe Tyr Phe Lys Asn Asp Trp Ser Arg Val  
 180 185 190

Ala Thr Lys Cys Tyr Asn Ser Gly Gly Cys Ala Met Gln Tyr Val Tyr  
 195 200 205

Glu Pro Thr Tyr Tyr Met Leu Asn Val Thr Ser Ala Gly Glu Asp Gly  
 210 215 220

Ile Ser Tyr Gln Pro Cys Thr Ala Asn Cys Ile Gly Tyr Ala Ala Asn  
 225 230 235 240

Val Phe Ala Thr Glu Pro Asn Gly His Ile Pro Glu Gly Phe Ser Phe  
 245 250 255  
 Asn Asn Trp Phe Leu Leu Ser Asn Asp Ser Thr Leu Val His Gly Lys  
 260 265 270  
 Val Val Ser Asn Gln Pro Leu Leu Val Asn Cys Leu Leu Ala Ile Pro  
 275 280 285  
 Lys Ile Tyr Gly Leu Gly Gln Phe Phe Ser Phe Asn Gln Thr Ile Asp  
 290 295 300  
 Gly Val Cys Asn Gly Ala Ala Val Gln Arg Ala Pro Glu Ala Leu Arg  
 305 310 315 320  
 Phe Asn Ile Asn Asp Thr Ser Val Ile Leu Ala Glu Gly Ser Ile Val  
 325 330 335  
 Leu His Thr Ala Leu Gly Thr Asn Phe Ser Phe Val Cys Ser Asn Ser  
 340 345 350  
 Ser Asn Pro His Leu Ala Thr Phe Ala Ile Pro Leu Gly Ala Thr Gln  
 355 360 365  
 Val Pro Tyr Tyr Cys Phe Leu Lys Val Asp Thr Tyr Asn Ser Thr Val  
 370 375 380  
 Tyr Lys Phe Leu Ala Val Leu Pro Pro Thr Val Arg Glu Ile Val Ile  
 385 390 395 400  
 Thr Lys Tyr Gly Asp Val Tyr Val Asn Gly Phe Gly Tyr Leu His Leu  
 405 410 415  
 Gly Leu Leu Asp Ala Val Thr Ile Asn Phe Thr Gly His Gly Thr Asp  
 420 425 430  
 Asp Asp Val Ser Gly Phe Trp Thr Ile Ala Ser Thr Asn Phe Val Asp  
 435 440 445  
 Ala Leu Ile Glu Val Gln Gly Thr Ala Ile Gln Arg Ile Leu Tyr Cys  
 450 455 460  
 Asp Asp Pro Val Ser Gln Leu Lys Cys Ser Gln Val Ala Phe Asp Leu  
 465 470 475 480  
 Asp Asp Gly Phe Tyr Pro Ile Ser Ser Arg Asn Leu Leu Ser His Glu  
 485 490 495

Gln Pro Ile Ser Phe Val Thr Leu Pro Ser Phe Asn Asp His Ser Phe  
 500 505 510

Val Asn Ile Thr Val Ser Ala Ser Phe Gly Gly His Ser Gly Ala Asn  
 515 520 525

Leu Ile Ala Ser Asp Thr Thr Ile Asn Gly Phe Ser Ser Phe Cys Val  
 530 535 540

Asp Thr Arg Gln Phe Thr Ile Ser Leu Phe Tyr Asn Val Thr Asn Ser  
 545 550 555 560

Tyr Gly Tyr Val Ser Lys Ser Gln Asp Ser Asn Cys Pro Phe Thr Leu  
 565 570 575

Gln Ser Val Asn Asp Tyr Leu Ser Phe Ser Lys Phe Cys Val Ser Thr  
 580 585 590

Ser Leu Leu Ala Ser Ala Cys Thr Ile Asp Leu Phe Gly Tyr Pro Glu  
 595 600 605

Phe Gly Ser Gly Val Lys Phe Thr Ser Leu Tyr Phe Gln Phe Thr Lys  
 610 615 620

Gly Glu Leu Ile Thr Gly Thr Pro Lys Pro Leu Glu Gly Val Thr Asp  
 625 630 635 640

Val Ser Phe Met Thr Leu Asp Val Cys Thr Lys Tyr Thr Ile Tyr Gly  
 645 650 655

Phe Lys Gly Glu Gly Ile Ile Thr Leu Thr Asn Ser Ser Phe Leu Ala  
 660 665 670

Gly Val Tyr Tyr Thr Ser Asp Ser Gly Gln Leu Leu Ala Phe Lys Asn  
 675 680 685

Val Thr Ser Gly Ala Val Tyr Ser Val Thr Pro Cys Ser Phe Ser Glu  
 690 695 700

Gln Ala Ala Tyr Val Asp Asp Asp Ile Val Gly Val Ile Ser Ser Leu  
 705 710 715 720

Ser Ser Ser Thr Phe Asn Ser Thr Arg Glu Leu Pro Gly Phe Phe Tyr  
 725 730 735

His Ser Asn Asp Gly Ser Asn Cys Thr Glu Pro Val Leu Val Tyr Ser  
 740 745 750

Asn Ile Gly Val Cys Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Val Pro Ser Gln  
 755 760 765  
  
 Ser Gly Gln Val Lys Ile Ala Pro Thr Val Thr Gly Asn Ile Ser Ile  
 770 775 780  
  
 Pro Thr Asn Phe Ser Met Ser Ile Arg Thr Glu Tyr Leu Gln Leu Tyr  
 785 790 795 800  
  
 Asn Thr Pro Val Ser Val Asp Cys Ala Thr Tyr Val Cys Asn Gly Asn  
 805 810 815  
  
 Ser Arg Cys Lys Gln Leu Leu Thr Gln Tyr Thr Ala Ala Cys Lys Thr  
 820 825 830  
  
 Ile Glu Ser Ala Leu Gln Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ser Val Glu Val  
 835 840 845  
  
 Asn Ser Met Leu Thr Ile Ser Glu Glu Ala Leu Gln Leu Ala Thr Ile  
 850 855 860  
  
 Ser Ser Phe Asn Gly Asp Gly Tyr Asn Phe Thr Asn Val Leu Gly Val  
 865 870 875 880  
  
 Ser Val Tyr Asp Pro Ala Ser Gly Arg Val Val Gln Lys Arg Ser Phe  
 885 890 895  
  
 Ile Glu Asp Leu Ala Phe Asn Lys Val Val Thr Asn Gly Leu Gly Thr  
 900 905 910  
  
 Val Asp Glu Asp Tyr Lys Arg Cys Ser Asn Gly Arg Ser Val Ala Asp  
 915 920 925  
  
 Leu Val Cys Ala Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Met Val Leu Pro Gly Val  
 930 935 940  
  
 Val Asp Ala Glu Lys Leu His Met Tyr Ser Ala Ser Leu Ile Gly Gly  
 945 950 955 960  
  
 Met Val Leu Gly Gly Phe Thr Ser Ala Ala Ala Leu Pro Phe Ser Tyr  
 965 970 975  
  
 Ala Val Gln Ala Arg Leu Asn Tyr Leu Ala Leu Gln Thr Asp Val Leu  
 980 985 990  
  
 Gln Arg Asn Gln Gln Leu Leu Ala Glu Ser Phe Asn Ser Ala Ile Gly  
 995 1000 1005

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

Asn Lys Thr Leu Asp Glu Ile Leu Ala Ser Leu Pro Asn Arg Thr  
1250 1255 1260

Gly Pro Ser Leu Pro Leu Asp Val Phe Asn Ala Thr Tyr Leu Asn  
1265 1270 1275

Leu Thr Gly Glu Ile Ala Asp Leu Glu Gln Arg Ser Glu Ser Leu  
1280 1285 1290

Arg Asn Thr Thr Glu Glu Leu Gln Ser Leu Ile Tyr Asn Ile Asn  
1295 1300 1305

Asn Thr Leu Val Asp Leu Glu Trp Leu Asn Arg Val Glu Thr Tyr  
1310 1315 1320

Ile Lys Trp Pro Trp Trp Val Trp Leu Ile Ile Phe Ile Val Leu  
1325 1330 1335

Ile Phe Val Val Ser Leu Leu Val Phe Cys Cys Ile Ser Thr Gly  
1340 1345 1350

Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Cys Phe Ser Gly Cys  
1355 1360 1365

Cys Arg Gly Pro Arg Leu Gln Pro Ala Glu Val Phe Glu Lys Val  
1370 1375 1380

Arg Val Gln Cys Gly  
1385

<210> 20  
<211> 1388  
<212> PRT  
<213> virut gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn

<400> 20

Met Lys Ser Leu Thr Tyr Phe Trp Leu Phe Leu Pro Val Leu Ser Thr  
1 5 10 15

Leu Ser Leu Pro Gln Asp Val Thr Arg Cys Ser Ala Asn Thr Asn Phe  
20 25 30

Arg Arg Phe Phe Ser Lys Phe Asn Val Gln Ala Pro Ala Val Val Val  
35 40 45

Leu Gly Gly Tyr Leu Pro Ile Gly Glu Asn Gln Gly Val Asn Ser Thr  
50 55 60

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

Phe Asn Ile Asn Asp Thr Ser Val Ile Leu Ala Glu Gly Ser Ile Val  
 325 330 335

Leu His Thr Ala Leu Gly Thr Asn Phe Ser Phe Val Cys Ser Asn Ser  
 340 345 350

Ser Asn Pro His Leu Ala Thr Phe Ala Ile Pro Leu Gly Ala Thr Gln  
 355 360 365

Val Pro Tyr Tyr Cys Phe Leu Lys Val Asp Thr Tyr Asn Ser Thr Val  
 370 375 380

Tyr Lys Phe Leu Ala Val Leu Pro Pro Thr Val Arg Glu Ile Val Ile  
 385 390 395 400

Thr Lys Tyr Gly Asp Val Tyr Val Asn Gly Phe Gly Tyr Leu His Leu  
 405 410 415

Gly Leu Leu Asp Ala Val Thr Ile Asn Phe Thr Gly His Gly Thr Asp  
 420 425 430

Asp Asp Val Ser Gly Phe Trp Thr Ile Ala Ser Thr Asn Phe Val Asp  
 435 440 445

Ala Leu Ile Glu Val Gln Gly Thr Ala Ile Gln Arg Ile Leu Tyr Cys  
 450 455 460

Asp Asp Pro Val Ser Gln Leu Lys Cys Ser Gln Val Ala Phe Asp Leu  
 465 470 475 480

Asp Asp Gly Phe Tyr Pro Ile Ser Ser Arg Asn Leu Leu Ser His Glu  
 485 490 495

Gln Pro Ile Ser Phe Val Thr Leu Pro Ser Phe Asn Asp His Ser Phe  
 500 505 510

Val Asn Ile Thr Val Ser Ala Ser Phe Gly Gly His Ser Gly Ala Asn  
 515 520 525

Leu Ile Ala Ser Asp Thr Thr Ile Asn Gly Phe Ser Ser Phe Cys Val  
 530 535 540

Asp Thr Arg Gln Phe Thr Ile Ser Leu Phe Tyr Asn Val Thr Asn Ser  
 545 550 555 560

Tyr Gly Tyr Val Ser Lys Ser Gln Asp Ser Asn Cys Pro Phe Thr Leu  
 565 570 575

Gln Ser Val Asn Asp Tyr Leu Ser Phe Ser Lys Phe Cys Val Ser Thr  
 580 585 590

Ser Leu Leu Ala Ser Ala Cys Thr Ile Asp Leu Phe Gly Tyr Pro Glu  
 595 600 605

Phe Gly Ser Gly Val Lys Phe Thr Ser Leu Tyr Phe Gln Phe Thr Lys  
 610 615 620

Gly Glu Leu Ile Thr Gly Thr Pro Lys Pro Leu Glu Gly Val Thr Asp  
 625 630 635 640

Val Ser Phe Met Thr Leu Asp Val Cys Thr Lys Tyr Thr Ile Tyr Gly  
 645 650 655

Phe Lys Gly Glu Gly Ile Ile Thr Leu Thr Asn Ser Ser Phe Leu Ala  
 660 665 670

Gly Val Tyr Tyr Thr Ser Asp Ser Gly Gln Leu Leu Ala Phe Lys Asn  
 675 680 685

Val Thr Ser Gly Ala Val Tyr Ser Val Thr Pro Cys Ser Phe Ser Glu  
 690 695 700

Gln Ala Ala Tyr Val Asp Asp Asp Ile Val Gly Val Ile Ser Ser Leu  
 705 710 715 720

Ser Ser Ser Thr Phe Asn Ser Thr Arg Glu Leu Pro Gly Phe Phe Tyr  
 725 730 735

His Ser Asn Asp Gly Ser Asn Cys Thr Glu Pro Val Leu Val Tyr Ser  
 740 745 750

Asn Ile Gly Val Cys Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Val Pro Ser Gln  
 755 760 765

Ser Gly Gln Val Lys Ile Ala Pro Thr Val Thr Gly Asn Ile Ser Ile  
 770 775 780

Pro Thr Asn Phe Ser Met Ser Ile Arg Thr Glu Tyr Leu Gln Leu Tyr  
 785 790 795 800

Asn Thr Pro Val Ser Val Asp Cys Ala Thr Tyr Val Cys Asn Gly Asn  
 805 810 815

Ser Arg Cys Lys Gln Leu Leu Thr Gln Tyr Thr Ala Ala Cys Lys Thr  
 820 825 830

Ile Glu Ser Ala Leu Gln Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ser Val Glu Val  
 835 840 845

Asn Ser Met Leu Thr Ile Ser Glu Glu Ala Leu Gln Leu Ala Thr Ile  
 850 855 860

Ser Ser Phe Asn Gly Asp Gly Tyr Asn Phe Thr Asn Val Leu Gly Val  
 865 870 875 880

Ser Val Tyr Asp Pro Ala Ser Gly Arg Val Val Gln Lys Arg Ser Phe  
 885 890 895

Ile Glu Asp Ala Ala Phe Asn Lys Val Val Thr Asn Gly Leu Gly Thr  
 900 905 910

Val Asp Glu Asp Tyr Lys Arg Cys Ser Asn Gly Arg Ser Val Ala Asp  
 915 920 925

Leu Val Cys Ala Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Met Val Leu Pro Gly Val  
 930 935 940

Val Asp Ala Glu Lys Leu His Met Tyr Ser Ala Ser Leu Ile Gly Gly  
 945 950 955 960

Met Val Leu Gly Gly Phe Thr Ser Ala Ala Ala Leu Pro Phe Ser Tyr  
 965 970 975

Ala Val Gln Ala Arg Leu Asn Tyr Leu Ala Leu Gln Thr Asp Val Leu  
 980 985 990

Gln Arg Asn Gln Gln Leu Leu Ala Glu Ser Phe Asn Ser Ala Ile Gly  
 995 1000 1005

Asn Ile Thr Ser Ala Phe Glu Ser Val Lys Glu Ala Ile Ser Gln  
 1010 1015 1020

Thr Ser Lys Gly Leu Asn Thr Val Ala His Ala Leu Thr Lys Val  
 1025 1030 1035

Gln Glu Val Val Asn Ser Gln Gly Ala Ala Leu Thr Gln Leu Thr  
 1040 1045 1050

Val Gln Leu Gln His Asn Phe Gln Ala Ile Ser Ser Ser Ile Asp  
 1055 1060 1065

Asp Ile Tyr Ser Arg Leu Asp Ile Leu Ser Ala Asp Val Gln Val  
 1070 1075 1080

|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| Asp  | Arg | Leu | Ile | Thr | Gly | Arg  | Leu | Ser | Ala | Leu | Asn  | Ala | Phe | Val |
| 1085 |     |     |     |     |     | 1090 |     |     |     |     | 1095 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Ala  | Gln | Thr | Leu | Thr | Lys | Tyr  | Thr | Glu | Val | Gln | Ala  | Ser | Arg | Lys |
| 1100 |     |     |     |     |     | 1105 |     |     |     |     | 1110 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Leu  | Ala | Gln | Gln | Lys | Val | Asn  | Glu | Cys | Val | Lys | Ser  | Gln | Ser | Gln |
| 1115 |     |     |     |     |     | 1120 |     |     |     |     | 1125 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Arg  | Tyr | Gly | Phe | Cys | Gly | Gly  | Asp | Gly | Glu | His | Ile  | Phe | Ser | Leu |
| 1130 |     |     |     |     |     | 1135 |     |     |     |     | 1140 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Val  | Gln | Ala | Ala | Pro | Gln | Gly  | Leu | Leu | Phe | Leu | His  | Thr | Val | Leu |
| 1145 |     |     |     |     |     | 1150 |     |     |     |     | 1155 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Val  | Pro | Ser | Asp | Phe | Val | Asp  | Val | Ile | Ala | Ile | Ala  | Gly | Leu | Cys |
| 1160 |     |     |     |     |     | 1165 |     |     |     |     | 1170 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Val  | Asn | Asp | Glu | Ile | Ala | Leu  | Thr | Leu | Arg | Glu | Pro  | Gly | Leu | Val |
| 1175 |     |     |     |     |     | 1180 |     |     |     |     | 1185 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Leu  | Phe | Thr | His | Glu | Leu | Gln  | Asn | His | Thr | Ala | Thr  | Glu | Tyr | Phe |
| 1190 |     |     |     |     |     | 1195 |     |     |     |     | 1200 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Val  | Ser | Ser | Arg | Arg | Met | Phe  | Glu | Pro | Arg | Lys | Pro  | Thr | Val | Ser |
| 1205 |     |     |     |     |     | 1210 |     |     |     |     | 1215 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Asp  | Phe | Val | Gln | Ile | Glu | Ser  | Cys | Val | Val | Thr | Tyr  | Val | Asn | Leu |
| 1220 |     |     |     |     |     | 1225 |     |     |     |     | 1230 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Thr  | Arg | Asp | Gln | Leu | Pro | Asp  | Val | Ile | Pro | Asp | Tyr  | Ile | Asp | Val |
| 1235 |     |     |     |     |     | 1240 |     |     |     |     | 1245 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Asn  | Lys | Thr | Leu | Asp | Glu | Ile  | Leu | Ala | Ser | Leu | Pro  | Asn | Arg | Thr |
| 1250 |     |     |     |     |     | 1255 |     |     |     |     | 1260 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Gly  | Pro | Ser | Leu | Pro | Leu | Asp  | Val | Phe | Asn | Ala | Thr  | Tyr | Leu | Asn |
| 1265 |     |     |     |     |     | 1270 |     |     |     |     | 1275 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Leu  | Thr | Gly | Glu | Ile | Ala | Asp  | Leu | Glu | Gln | Arg | Ser  | Glu | Ser | Leu |
| 1280 |     |     |     |     |     | 1285 |     |     |     |     | 1290 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Arg  | Asn | Thr | Thr | Glu | Glu | Leu  | Gln | Ser | Leu | Ile | Tyr  | Asn | Ile | Asn |
| 1295 |     |     |     |     |     | 1300 |     |     |     |     | 1305 |     |     |     |
|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
| Asn  | Thr | Leu | Val | Asp | Leu | Glu  | Trp | Leu | Asn | Arg | Val  | Glu | Thr | Tyr |
| 1310 |     |     |     |     |     | 1315 |     |     |     |     | 1320 |     |     |     |

Ile Lys Trp Pro Trp Trp Val Trp Leu Ile Ile Phe Ile Val Leu  
 1325 1330 1335

Ile Phe Val Val Ser Leu Leu Val Phe Cys Cys Ile Ser Thr Gly  
 1340 1345 1350

Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Cys Phe Ser Gly Cys  
 1355 1360 1365

Cys Arg Gly Pro Arg Leu Gln Pro Ala Glu Val Phe Glu Lys Val  
 1370 1375 1380

Arg Val Gln Cys Gly  
 1385

<210> 21  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> trình tự của vùng dung hợp

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (8)..(8)  
 <223> X ở gốc số 8 là gốc axit amin không phải là gốc leuxin

<400> 21

Arg Ser Xaa Ile Glu Asp Leu Xaa  
 1 5

<210> 22  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> trình tự của vùng dung hợp

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (7)..(7)  
 <223> X ở gốc số 7 là gốc axit amin không phải là gốc leuxin

<400> 22

Arg Ser Xaa Ile Glu Asp Xaa Leu  
1 5

<210> 23

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự của vùng dung hợp

<220>

<221> Biến thể

<222> (3)..(3)

<223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 23

Arg Ser Xaa Ile Glu Asp Leu Ala  
1 5

<210> 24

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự của vùng dung hợp

<220>

<221> Biến thể

<222> (3)..(3)

<223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 24

Arg Ser Xaa Ile Glu Asp Ala Leu  
1 5

<210> 25

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự của vùng dung hợp

<220>

<221> Biến thể

<222> (3)..(3)

<223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 25

Arg Ser Xaa Ile Glu Asp Ala Ala  
1 5

<210> 26  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> trình tự của vùng lưu lại

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (1)..(1)  
 <223> X ở gốc số 1 là gốc axit amin không phải là gốc tyrosin

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (2)..(2)  
 <223> X ở gốc số 2 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (5)..(5)  
 <223> X ở gốc số 5 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (7)..(7)  
 <223> X ở gốc số 7 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (9)..(9)  
 <223> X ở gốc số 9 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (10)..(10)  
 <223> X ở gốc số 10 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 26

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Xaa | Xaa | Xaa | Phe | Xaa | Lys | Xaa | His | Xaa | Xaa |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |

<210> 27  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> trình tự của vùng lưu lại

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (2)..(2)

<223> X ở gốc số 2 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>

<221> Biến thể

<222> (3)..(3)

<223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>

<221> Biến thể

<222> (5)..(5)

<223> X ở gốc số 5 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>

<221> Biến thể

<222> (7)..(7)

<223> X ở gốc số 7 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>

<221> Biến thể

<222> (8)..(8)

<223> X ở gốc số 8 là gốc axit amin không phải là gốc histidin

<220>

<221> Biến thể

<222> (9)..(9)

<223> X ở gốc số 9 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>

<221> Biến thể

<222> (10)..(10)

<223> X ở gốc số 10 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 27

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Tyr | Xaa | Xaa | Phe | Xaa | Lys | Xaa | Xaa | Xaa | Xaa |
| 1   |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |

<210> 28

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự của vùng lưu lại

<220>

<221> Biến thể

<222> (2)..(2)

<223> X ở gốc số 2 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>

<221> Biến thể

<222> (3)..(3)

<223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>

<221> Biến thể

<222> (5)..(5)

<223> X ở gốc số 5 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>

<221> Biến thể

```

<222> (7)..(7)
<223> X ở gốc số 7 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>
<221> Biến thể
<222> (9)..(9)
<223> X ở gốc số 9 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>
<221> Biến thể
<222> (10)..(10)
<223> X ở gốc số 10 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 28

Ala Xaa Xaa Phe Xaa Lys Xaa His Xaa Xaa
1          5          10

<210> 29
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự của vùng lưu lại

<220>
<221> Biến thể
<222> (2)..(2)
<223> X ở gốc số 2 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>
<221> Biến thể
<222> (3)..(3)
<223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>
<221> Biến thể
<222> (5)..(5)
<223> X ở gốc số 5 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>
<221> Biến thể
<222> (7)..(7)
<223> X ở gốc số 7 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>
<221> Biến thể
<222> (9)..(9)
<223> X ở gốc số 9 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>
<221> Biến thể
<222> (10)..(10)
<223> X ở gốc số 10 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 29

Tyr Xaa Xaa Phe Xaa Lys Xaa Arg Xaa Xaa
1          5          10

```

<210> 30  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> trình tự của vùng lưu lại

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (2)..(2)  
 <223> X ở gốc số 2 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (5)..(5)  
 <223> X ở gốc số 5 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (7)..(7)  
 <223> X ở gốc số 7 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (9)..(9)  
 <223> X ở gốc số 9 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (10)..(10)  
 <223> X ở gốc số 10 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 30

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Xaa | Xaa | Phe | Xaa | Lys | Xaa | Arg | Xaa | Xaa |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |

<210> 31  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> trình tự của vùng dung hợp

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 31

|     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Arg | Ser | Xaa | Ile | Glu | Asp | Leu | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |

<210> 32  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> trình tự của vùng lưu lại

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 32

Arg Ser Xaa Ile Glu Asp Gly Leu  
 1 5

<210> 33  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> trình tự của vùng dung hợp

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 33

Arg Ser Xaa Ile Glu Asp Gly Gly  
 1 5

<210> 34  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> trình tự của vùng dung hợp

<220>  
 <221> Biến thể  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 34

Arg Ser Xaa Ile Glu Asp Gly Ala  
 1 5

<210> 35  
 <211> 8  
 <212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự của vùng dung hợp

<220>

<221> Biên thể

<222> (3)..(3)

<223> X ở gốc số 3 có thể là gốc axit amin bất kỳ

<400> 35

Arg Ser Xaa Ile Glu Asp Ala Gly

1

5

<210> 36

<211> 5153

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Catxet mã hóa protein gai của PEDV

<400> 36

```

ccgcggtaat cggaaggaca gtggtattac tctgggctca aaaggtcaac tattgagaga      60
cctccagctg aaaccatttg acaaagagtc tagctcggca atcggataca aaccaaagga      120
taccgcacct tctaaagctg tacttgcatc attgatcaga tcaagcagag ttgatcaaag      180
tcacaaacat aacatgctgg ttctgcttaa aaatatcaag ggagatgaca acctaaacga      240
gttctaccag atggtcaaga gtattactca tgcttaatct gtagcgttga ctaatctact      300
aaccggcgca aaactgcttt cactatcgct taaaagcaat tataaaaaac ttaggactca      360
ggtagtccag cagcaccatg aaatccctca actacttctg gctcttcctc ccggtgctct      420
ccaccctcag cctccctcag gatgtcaca gatgccagtc cacaatcaac ttcagacggt      480
tctttctcaa gttcaacgtg caggcccccg ccgtgggtgt gctgggcggc tacctgccaa      540
gcatgaactc cagctcctgg tactgctgga ccggcctgga gaccgcctcc ggcggtgcacg      600
gcatcttctc gagctacatc gacgccggcc agggcttcga gatcggcatc agccaggagc      660
ccttcgaccc aagcggctac cagctgtacc tgcacaaggc caccaacggc aaccacaacg      720
ccatcgccag gctgagaatc tgccagttcc ccaacaacaa gaccctgggc cccaccgtga      780
acgacgtgac caccggcaga aactgcctgt tcaacaaggc catcccagcc tacatgcagg      840
acggcaagaa catcgtggtg ggcatcacct gggacaacga cagagtgacc gtgttcgccc      900
acaagatcta ccacttctac ctgaagaacg actggtccag agtggccacc aggtgctaca      960
acaagcggag ctgcgccatg cagtacgtgt acacccaac ctactacatg ctgaacgtga     1020
ccagcgccgg cgaggacggc atctactacg agccctgcac cgccaactgc agcggtacg     1080
ccgtgaacgt gttcgccacc gacagcaacg gccacatccc cgagggcttc tccttcaaca     1140

```

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| actggttcct gctgagcaac gactccaccc tgctgcacgg caaggtggtg tccaaccage  | 1200 |
| actgctggt gaactgcctg ctggccatcc caaagatcta cggcctgggc cagttcttca   | 1260 |
| gcttcaacca gaccatggac ggcgtgtgca acggcgccgc cgcccagagg gcccagagg   | 1320 |
| ccctgagatt caacatcaac gacacctccg tgatcctggc cgagggcagc atcgtgctgc  | 1380 |
| acaccgccct gggcaccaac ctgagcttcg tgtgtccaa cagctccgac cccacctgg    | 1440 |
| ccaccttcac catccactg ggcgccaccc aggtgccata ctactgcttc ctgaaggtgg   | 1500 |
| acacctacaa cagcaacgtg tacaagttcc tggccgtgct gccaccacc gtgagagaga   | 1560 |
| tctgtatcac caagtacggc gacgtgtacg tgaacggctt cggctacctg cacctgggcc  | 1620 |
| tgctggacgc cgtgaccatc aacttcaccg gccacggcac cgacgacgac gtgagcggct  | 1680 |
| tctggacat cgctccacc aacttcgtgg acgccctgat cgaggtgcag ggcaccgcca    | 1740 |
| tccagcgcat cctgtactgc gacgaccag tgtcccagct gaagtgcagc caggtggcct   | 1800 |
| tgcacctgga cgacggcttc taccocatca gctccagaaa cctgctgagc cacgagcagc  | 1860 |
| caatcagctt cgtgaccctg ccaccttca acgaccactc ctctgtgaac atcaccgtga   | 1920 |
| gcgcctcctt cggcgccac tccggcgcca acctgatcg ctcogacacc accatcaacg    | 1980 |
| gcttctccag ctctgcgtg gacaccaggc agttcaccat cagcctgttc tacaacgtga   | 2040 |
| ccaacagcta cggctacgtg agcaagagcc aggactccaa ctgcccccttc accctgcagt | 2100 |
| ccgtgaacga ctacctgtcc ttcagcaagt tctgcgtgtc caccagcctg ctggccagcg  | 2160 |
| cctgaacat cgacctgttc ggctaccag agttcggctc cggcgtgaag ttcaccagcc    | 2220 |
| tgtacttcca gttcaccgag ggcgagctga tcaccggcac cccaaagccc ctggagggcg  | 2280 |
| tgaccgacgt gagcttcatg acctggacg tgtgcacaa gtacaccatc tacggcttca    | 2340 |
| aggcgaggg catcatcacc ctgaccaaca gtccttcct ggccggcgtg tactacacct    | 2400 |
| ccgacagcgg ccagctgctg gccttcaaga acgtgacctc cggcgccgtg tacagcgtga  | 2460 |
| ccccctgctc ctacagcag caggccgcct acgtggacga cgacatcgtg ggcgtgatct   | 2520 |
| ccagcctgtc ctccagcacc ttcaactcca ccagagagct gccaggcttc ttctaccaca  | 2580 |
| gcaacgacgg ctccaactgc accgagccag tgctggtgta ctccaacatc ggcgtgtgca  | 2640 |
| agagcggctc catcggctac gtgccatccc agagcggcca ggtgaagatc gccccaccg   | 2700 |
| tgaccggcaa catctccatc cccaccaact totccatgag catcagaacc gagtacctgc  | 2760 |
| agctgtacaa ccccccgctg tccgtggact gcgccacctc cgtgtgcaac ggcaactcca  | 2820 |
| gatgcaagca gctgctgacc cagtacaccg ccgcctgcaa gaccatcgag agcgccctgc  | 2880 |
| agctgagcgc caggctggag tccgtggagg tgaacagcat gctgaccatc tccgaggagg  | 2940 |
| ccctgcagct ggccaccatc agctccttca acggcgacgg ctacaacttc accaacgtgc  | 3000 |
| tgggcgtgag cgtgtacgac ccagccagcg gcagagtggg gcagaagagg agcttcatcg  | 3060 |

aggacgccgc cttcaacaag gtggtgacca acggcctggg caccgtggac gaggactaca 3120  
 agagatgcag caacggcaga tccgtggccg acctggtgtg cgcccagtat tacagcggcg 3180  
 tgatggtgct gccaggcgtg gtggacgccg agaagctgca catgtacagc gcctccctga 3240  
 tcggcggcat ggtgctgggc ggcttcacct ccgccgcgc cctgcccttc agctacgcgc 3300  
 tgcaggccag actgaactac ctggccctgc agaccgacgt gctgcagaga aaccagcagc 3360  
 tgctggccga gagcttcaac agcgccatcg gcaacatcac ctccgccttc gagagcgtga 3420  
 aggaggccat cagccagacc tccaagggcc tgaacaccgt ggcccacgcc ctgaccaagg 3480  
 tgcaggaggt ggtgaactcc cagggcgccg ccctgaccca gctgaccgtg cagctgcagc 3540  
 acaacttcca ggccatctcc agctccatcg acgacatcta ctccaggctg gacatcctgt 3600  
 ccgccgacgt gcaggtggac agactgatca ccggcagact gtccgccttg aacgccttcg 3660  
 tggcccagac cctgaccaag tacaccgagg tgcaggcctc cagaaagctg gcccagcaga 3720  
 aggtgaacga gtgcgtgaag tcccagagcc agagatacgg cttctgcggc ggcgacggcg 3780  
 agcacatctt ctccctggtg cagggcgccc cacagggcct gctgttcctg cacaccgtgc 3840  
 tggtgccagg cgacttcacg gacgtgatcg ccatcgccgg cctgtgcgtg aacgacgaga 3900  
 togccctgac cctgagagag ccgggcctgg tgctgttcac ccacgagctg cagaaccaca 3960  
 ccgccaccga gtatttcgtg agctccagac ggatgttcga gccaaagaaag cccaccgtga 4020  
 gcgacttcgt gcagatcgag tcctgcgtgg tgacctacgt gaacctgacc agagaccagc 4080  
 tgccagacgt gatcccagac tacatcgacg tgaacaagac cctggacgag atcctggcct 4140  
 ccctgccaaa cagaaccggc ccagcctgc ccctggacgt gttcaacgcc acctacctga 4200  
 acctgaccgg cgagatcgcc gacctggagc agagaagcga gtccctgaga aacaccaccg 4260  
 aggagctgca gtccctgatc tacaacatca acaacaccct ggtggacctg gagtggctga 4320  
 acagagtgga gacctacatc aagtggccat ggtgggtgtg gctgatcgtg ttcacgtgc 4380  
 tgatcttcgt ggtgtccctg ctggtgttct gctgcatctc caccggctgc tcgggtgct 4440  
 gcggctgctg ctgcgcctgc ttcagcggct gctgtagagg accccggctc cagcccgtg 4500  
 aggtgtttga gaaagtgaga gtgcagtgat aaatattcaa gaccagtcct gcacagtc 4560  
 acaattatca ttctaaactc attataaaaa acttaggaca caagagccta agtcctctcc 4620  
 taaaaaatga ctgaggtgta cgacttcgat cagtcttctt gggacaccaa gggcttattg 4680  
 gccctatatt tgcctaccac ttatcccgat ggtaggctca taccccaagt cagagtaata 4740  
 gatccaggac tcggcgatag gaaagatgaa tgcttcatgt atatttttct actgggtata 4800  
 atagaagaca atgatggcct cggaccccca attggaagaa catttgatt gctgcctttg 4860  
 ggagttgggc gtactacagc cagacctgag gagttattga aagaagccac cctgttggat 4920  
 attgtggtaa ggcgaactgc aggtgtcaag gaacaactgg tattttataa taacacccca 4980

ttgcacatct taactccgtg gaaaaaggtc cttacgagtg gaagtgtgtt cagtgcaaat 5040  
 caagtctgta acgcagtcaa tctaatacca ttagacatag cacaagatt cagggtggtta 5100  
 tatatgagca tcaactgact atcagacgat ggaagttaca gaattccccg cgg 5153

<210> 37  
 <211> 4155  
 <212> RNA  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> mã hóa protein S của PEDV

<400> 37  
 uuaucacugc acucucacuu ucucaaacac cucagcgggc uggagccggg guccucuaca 60  
 gcagccgcug aagcaggcgc agcagcagcc gcagcagccg cagcagccgg uggagaugca 120  
 gcagaacacc agcagggaca ccacgaagau cagcacgaug aacacgauca gccacacca 180  
 ccauggccac uugauguagg ucuccacucu guucagccac uccaggucca ccaggguuu 240  
 guugauguug uagaucaggg acugcagcuc cucggugugug uuucucaggg acucgcuucu 300  
 cugcuccagg ucggcgauca cgcggucag guucagguag guggcguuga acacguccag 360  
 gggcaggcug gggccgguuc uguuuggcag ggaggccagg aucucgucca gggucuuguu 420  
 cagcugcaug uagucuggga ucacgucugg cagcuggucu cuggucaggu ucacguaggu 480  
 caccacgcag gacucgauca gcacgaaguc gcucacggug ggcuuucuug gcucgaacau 540  
 ccgucuggag cucacgaaau acucgguggc ggugugguuc ugcagcucgu gggugaacag 600  
 caccaggccg ggcucucuca gggucagggc gaucucgucg uucacgcaca ggcggcgau 660  
 ggcgaucacg ucgaugaagu cgccuggcac cagcacggug ugcaggaaca gcaggcccug 720  
 uggggcggcc ugcaccaggg agaagaugug cucgccgucg ccgccgcaga agccguaucu 780  
 cuggcucugg gacuucacgc acucguuac cuucugcugg gccagcuuuc uggaggccug 840  
 caccucggug uacuugguca gggucugggc cacgaaggcg uucagggcgg acagucugcc 900  
 ggugaucagu cuguccaccu gcacgucggc ggacaggau uccagccugg aguagauguc 960  
 gucgauggag cuggagaugg ccuggaagu gugcugcagc ugcacgguca gcugggucag 1020  
 ggcggcgccc ugggaguuca ccaccuccug caccuugguc agggcguggg ccacgguguu 1080  
 caggcccuug gaggucuggc ugauggccuc cuucacgcuc ucgaggcgg aggugauguu 1140  
 gccgauggcg cuguugaagc ucucggccag cagcugcugg uuucucugca gcacgucggu 1200  
 cugcagggcc agguaguuca gucuggccug cacggcguaug cugaaggga gggcggcgcc 1260  
 ggaggugaag ccgccagca ccaugccgcc gaucaggag gcgcuguaca ugugcagcuu 1320  
 cucggcgucc accacgccug gcagcaccau cagcccgug uaauacuggg cgcacaccag 1380  
 gucggccacg gaucugccgu ugcugcaucu cuuguaguuc ucguccacgg ugcccaggcc 1440

guuggucacc accuuguuga aggcggcguc cucgaugaag cuccucuucu gcaccacucu 1500  
 gccgcuggcu gggucguaca cgcucacgcc cagcacguug gugaaguugu agccgucgcc 1560  
 guugaaggag cugauggugg ccagcugcag ggcuccucg gagaugguca gcaugcuguu 1620  
 caccuccacg gacuccagcc uggcgcucag cugcagggcg cucucgaugg ucuugcaggc 1680  
 ggcgguguac ugguucagca gcugcuugca ucuggaguug ccguugcaca cguagguggc 1740  
 gcaguccacg gacacggggg uguuguacag cugcagguac ucgguucuga ugcucaugga 1800  
 gaaguuggug gggauvgaga uguugccggu cagggugggg gcgaucuuca ccuggccgcu 1860  
 cugggauggc acguagccga uggagccgcu cuugcacacg ccgauguugg aguacaccag 1920  
 cacuggcucg gugcaguugg agccgucguu gcugugguag aagaagccug gcagcucucu 1980  
 gguggaguug aaggugcugg aggacaggcu ggagaucag cccacgaugu cgucguccac 2040  
 guagggggcc ugcucgcuga aggagcaggg ggucacgcug uacacggcg cggaggucac 2100  
 guucuugaag gccagcagcu ggccgcuguc ggagguguag uacacgccgg ccaggaagga 2160  
 gcuguugguc agggugauga ugcccucgcc cuugaagccg uagauggugu acuuggugca 2220  
 cacguccagg gucaugaagc ucacgucggu cagcccucc aggggcuuug gggugccggu 2280  
 gaucagcucg ccucgguga acuggaagua caggcuggug aacuucacgc cggagccgaa 2340  
 cucuggguag ccgaacaggu cgauggugca ggcgcuggcc agcaggcugg uggacacgca 2400  
 gaacuugcug aaggacaggu agucguucac ggacugcagg gugaaggggc aguuggaguc 2460  
 cuggcucuug cucacguagc cguagcuguu ggucacguug uagaacaggc ugauggugaa 2520  
 cugccuggug uccacgcaga agcuggagaa gccguugaug guggugucgg aggcgaucag 2580  
 guuggcgccg gaguggccgc cgaaggaggc gcucacggug auguucacga aggagugguc 2640  
 guugaaggau ggcaggguca cgaagcugau uggcugcucg uggcucagca gguuucugga 2700  
 gcugaugggg uagaagccgu cguccagguc gaaggccacc uggcugcacu ucagcuggga 2760  
 cacugggucg ucgcaguaca ggaugcgcug gauggcggug ccucgaccu cgaucagggc 2820  
 guccacgaag uugguggagg cgauggucca gaagccgcuc acgucgucgu cggugccgug 2880  
 gccggugaag uugaugguca cggcguccag caggcccagg ugcagguagc cgaagccguu 2940  
 cacguacacg ucgccguacu uggugaucac gaucucucuc acggugggug gcagcacggc 3000  
 caggaacuug uacacguugc uguuguaggu guccaccuuc aggaagcagu aquauggcac 3060  
 cuggguggcg ccaguggga uggugaaggu ggccaggugg gggucggagc uguuggagca 3120  
 cacgaagcuc agguuggugc ccaggcggu gugcagcacg augcugccu cggccaggau 3180  
 cacggaggug ucguugaugu ugaaucucag ggccucuggg gccucuggg cggcgggcc 3240  
 guugcacacg ccguccaugg ucugguugaa gcugaagaac uggcccaggc cguagaucuu 3300  
 ugggauggcc agcaggcagu ucaccagcag uggcugguug gacaccaccu ugccgugcag 3360

caggguggag ucguugcuca gcaggaacca guuguugaag gagaagcccu cggggaugug 3420  
 gccguugcug ucgguggcga acacguucac ggcguagccg cugcaguugg cggugcaggg 3480  
 cucguaguag augccguccu cgcgggcgcg guucacguuc agcauguagu agguuggggg 3540  
 guacacguac ugcauggcgc agcuccgcuu guuguagcac cugguggcca cucuggacca 3600  
 gucguucuc agguagaagu gguagaucuu gucggcgaac acggucacuc ugucguuguc 3660  
 ccaggugaug cccaccacga uguucuuugc guccugcaug uaggcuggga uggccuuguu 3720  
 gaacaggcag uuucugccgg uggucacguc guucacggug gggcccaggg ucuuguuguu 3780  
 ggggaacugg cagauucuca gccuggcgau ggcguugugg uugccguugg uggccuugug 3840  
 cagguacagc ugguagccgc uugggucgaa gggcuccugg cugaugccga ucucgaagcc 3900  
 cuggccggcg ucgauguagc ucaggaagau gccgugcagc ccggaggcgg ucuccaggcc 3960  
 ggugcccgag uaccaggagc uggaguucuu gucuggcagg uagccgcca gcaccaccac 4020  
 ggcggggggc ugcacguuga acuuggagaa gaaccgucug aaguugauug uggacuggca 4080  
 ucuugugaca uccugaggga ggcugagggg ggagagcacg gggaggaaga gccagaagua 4140  
 guugagggau uucau 4155

<210> 38

<211> 4245

<212> RNA

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> chứa trình tự mã hóa protein S của PEDV

<400> 38

aaguuuuua uaaugaguuu agaaugaua uuguugacug augcaggacu ggucuugaau 60  
 auuuaucaacu gcacucucac uuucuaaac accucagcgg gcuggagccg ggguccucua 120  
 cagcagccgc ugaagcaggc gcagcagcag ccgcagcagc cgcagcagcc gguggagaug 180  
 cagcagaaca ccagcaggga caccacgaag aucagcacga ugaacacgau cagccacacc 240  
 caccauggcc acuugaugua ggucuccacu cuguucagcc acuccagguc caccagggug 300  
 uuguugaugu uguagaucag ggacugcagc uccucggugg uguuucucag ggacucgcuu 360  
 cucugcucca ggucggcgau cucgccgguc agguucaggu agguggcguu gaacacgucc 420  
 aggggcaggc uggggccggu ucuguuuggc agggaggcca ggaucucguc cagggucuuug 480  
 uucacgucga uguagucugg gaucacgucu ggcagcuggu cucuggucag guucacguag 540  
 gucaccacgc aggacucgau cugcacgaag ucgcucacgg ugggcuuucu uggcucgaac 600  
 auccgucugg agcucacgaa auacucggug gcgguguggu ucugcagcuc gugggugaac 660  
 agcaccaggc cgggcucucu caggguacag gcgaucucgu cguucacgca caggccggcg 720  
 auggcgauca cgucgaugaa gucgcucggc accagcacgg ugugcaggaa cagcaggccc 780

ugugggggcgg ccugcaccag ggagaagaug ugcucgccgu cgccgccgca gaagccguau 840  
 cucuggcucu gggacuucac gcacucguuc accuucugcu gggccagcuu ucuggaggcc 900  
 ugcaccucgg uguacuuggu cagggucugg gccacgaagg cguucagggc ggacagucug 960  
 ccggugauca gucuguccac cugcacgucg gcggacagga uguccagccu ggaguagaug 1020  
 ucgucgaugg agcuggagau ggccuggaag uugugcugca gcugcacggu cagcuggguc 1080  
 agggcgggcg ccugggaguu caccaccucc ugcaccuugg ucagggcgug ggccacggug 1140  
 uucaggcccu uggaggucug gcugauggcc uccuucacgc ucucgaaggc ggaggugaug 1200  
 uugccgaugg cgcuugaa gcucucggcc agcagcugcu gguuucucug cagcacgucg 1260  
 gucugcaggg ccagguaguu cagucuggcc ugcacggcgu agcugaaggc cagggcgggc 1320  
 gcggagguga agccgcccag caccaugccg ccgaucaggg aggcgcugua caugugcagc 1380  
 uucucggcgu ccaccacgcc uggcagcacc aucacggcg uuaauacug ggcgcacacc 1440  
 aggucggcca cggaucugcc guugcugcau cucuuguagu ccucguccac ggugcccagg 1500  
 ccguugguca ccaccuuguu gaaggcgggc uccucgauga agcuccucu cugcaccacu 1560  
 cugccgcugg cugggucgua cagcucacg cccagcacgu uggugaaguu guagccgucg 1620  
 ccguugaagg agcugauggu ggccagcugc agggccuccu cggagauggu cagcaugcug 1680  
 uucaccucca cggacuccag ccuggcgcuc agcugcaggg cgucucgau ggucuugcag 1740  
 gcggcgguu acugggucag cagcugcuug caucuggagu ugccguugca cacguaggug 1800  
 gcgcagucca cggacacggg gguguuguac agcugcaggu acucgguucu gaugcucaug 1860  
 gagaaguugg uggggaugga gauguugccg gucacggugg gggcgauuu caccuggccg 1920  
 cucugggaug gcacguagcc gauggagccg cucuugcaca cgccgauguu ggaguacacc 1980  
 agcacuggcu cggugcaguu ggagccgucg uugcuguggu agaagaaggc uggcagcucu 2040  
 cugguggagu ugaaggugcu ggaggacagg cuggagauca cgcccacgau gucgucgucc 2100  
 acguaggcgg ccugcucgu gaaggagcag ggggucacgc uguacacggc gccggagguc 2160  
 acguucuuga aggccagcag cuggccgcug ucggaggugu aguacacgcc ggccaggaag 2220  
 gagcuguugg ucagggugau gaugcccucg ccuugaagc cguagauggu guacuuggug 2280  
 cacacgucca gggucaugaa gcucacgucg gucacgccc ccaggggcuu uggggugccg 2340  
 gugaucagcu cgccucggu gaacuggaag uacaggcugg ugaacuucac gccggagccg 2400  
 aacucugggu agccgaacag gucgauggug caggcgcugg ccagcaggcu gguggacacg 2460  
 cagaacuugc ugaaggacag guagucguuc acggacugca gggugaaggg gcaguuggag 2520  
 uccuggcucu ugcucacgua gccguagcug uuggucacgu uguagaacag gcugauggug 2580  
 aacugccugg uguccacgca gaagcuggag aagccguuga uggugguguc ggaggcgauc 2640  
 agguuggcgc cggaguggcc gccgaaggag gcgcucacgg ugauguucac gaaggagugg 2700

ucguugaagg auggcagggg cacgaagcug auuggcugcu cguggcucag cagguuucug 2760  
 gagcugaugg gguagaagcc gucguccagg ucgaaggcca ccuggcugca cuucagcugg 2820  
 gacacugggu cgucgcagua caggaugcgc uggauggcgg ugcccugcac cucgaucagg 2880  
 gcguccacga aguuggugga ggcgaugguc cagaagccgc ucacgucguc gucggugccg 2940  
 uggccgguga aguugauggu cacggcgucc agcaggccca ggugcaggua gccgaagccg 3000  
 uucacguaca cgucgccgua cuuggugauc acgaucucuc ucacgguggg uggcagcacg 3060  
 gccaggaacu uguacacguu gcuguuguag guguccaccu ucaggaagca guaguauggc 3120  
 accugggugg cgcccagugg gauggugaag guggccaggu gggggucgga gcuguuggag 3180  
 cacacgaagc ucagguuggu gcccagggcg gugugcagca cgaugcugcc cucggccagg 3240  
 aucacggagg ugucguugau guugaaucuc agggccucug gggccucug ggcggcgcg 3300  
 ccguugcaca cgccguccau ggucugguug aagcugaaga acuggcccag gccguagauc 3360  
 uuugggaugg ccagcaggca guucaccagc aguggcuggu uggacaccac cuugccgugc 3420  
 agcagggugg agucguugcu cagcaggaac caguuguuga aggagaagcc cucggggaug 3480  
 uggccguugc ugucgguggc gaacacguuc acggcguagc cgucgcaguu ggcggugcag 3540  
 ggcucguagu agauggcguc cucgccggcg cuggucacgu ucagcaugua guagguuggg 3600  
 guguacacgu acugcauggc gcagcuccgc uuguuguagc accugguggc cacucuggac 3660  
 cagucguucu ucagguagaa gugguagauc uugucggcga acacggucac ucugucguug 3720  
 ucccagguga ugcccaccac gauguucuug ccguccugca uguaggcugg gauggccuug 3780  
 uugaacaggc aguucugcc gguggucacg ucguucacgg uggggcccag ggucuuguug 3840  
 uuggggaacu ggcagauucu cagccuggcg auggcguugu gguugccguu gguggccuug 3900  
 ugcagguaca gcugguagcc gcuugggucg aagggcuccu ggcugaugcc gaucucgaag 3960  
 cccuggccgg cgucgaugua gcucaggaag augccgugca cgccggaggc ggucuccagg 4020  
 ccggugccgc aguaccagga gcuggaguuc augcuuggca gguagccgcc cagcaccacc 4080  
 acggcggggg ccugcacguu gaacuuggag aagaaccguc ugaaguugau uguggacugg 4140  
 caucuuguga cauccugagg gaggcugagg guggagagca cggggaggaa gagccagaag 4200  
 uaguugaggg auuucauggu gcugcuggac uaccugaguc cuaag 4245

<210> 39

<211> 1386

<212> PRT

<213> virut gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn

<400> 39

Met Lys Ser Leu Thr Tyr Phe Trp Leu Phe Leu Pro Val Leu Ser Thr  
 1 5 10 15

Leu Ser Leu Pro Gln Asp Val Thr Arg Cys Ser Ala Asn Thr Asn Phe  
 20 25 30

Arg Arg Phe Phe Ser Lys Phe Asn Val Gln Ala Pro Ala Val Val Val  
 35 40 45

Leu Gly Gly Tyr Leu Pro Ile Gly Glu Asn Gln Gly Val Asn Ser Thr  
 50 55 60

Trp Tyr Cys Ala Gly Gln His Pro Thr Ala Ser Gly Val His Gly Ile  
 65 70 75 80

Phe Val Ser His Ile Arg Gly Gly His Gly Phe Glu Ile Gly Ile Ser  
 85 90 95

Gln Glu Pro Phe Asp Pro Ser Gly Tyr Gln Leu Tyr Leu His Lys Ala  
 100 105 110

Thr Asn Gly Asn Thr Asn Ala Thr Ala Arg Leu Arg Ile Cys Gln Phe  
 115 120 125

Pro Ser Ile Lys Thr Leu Gly Pro Thr Ala Asn Asn Asp Val Thr Thr  
 130 135 140

Gly Arg Asn Cys Leu Phe Asn Lys Ala Ile Pro Ala Tyr Met Ser Glu  
 145 150 155 160

His Ser Val Val Gly Ile Thr Trp Asp Asn Asp Arg Val Thr Val Phe  
 165 170 175

Ser Asp Lys Ile Tyr Tyr Phe Tyr Phe Lys Asn Asp Trp Ser Arg Val  
 180 185 190

Ala Thr Lys Cys Tyr Asn Ser Gly Gly Cys Ala Met Gln Tyr Val Tyr  
 195 200 205

Glu Pro Thr Tyr Tyr Met Leu Asn Val Thr Ser Ala Gly Glu Asp Gly  
 210 215 220

Ile Ser Tyr Gln Pro Cys Thr Ala Asn Cys Ile Gly Tyr Ala Ala Asn  
 225 230 235 240

Val Phe Ala Thr Glu Pro Asn Gly His Ile Pro Glu Gly Phe Ser Phe  
 245 250 255

Asn Asn Trp Phe Leu Leu Ser Asn Asp Ser Thr Leu Val His Gly Lys  
 260 265 270

Val Val Ser Asn Gln Pro Leu Leu Val Asn Cys Leu Leu Ala Ile Pro  
 275 280 285

Lys Ile Tyr Gly Leu Gly Gln Phe Phe Ser Phe Asn Gln Thr Ile Asp  
 290 295 300

Gly Val Cys Asn Gly Ala Ala Val Gln Arg Ala Pro Glu Ala Leu Arg  
 305 310 315 320

Phe Asn Ile Asn Asp Thr Ser Val Ile Leu Ala Glu Gly Ser Ile Val  
 325 330 335

Leu His Thr Ala Leu Gly Thr Asn Phe Ser Phe Val Cys Ser Asn Ser  
 340 345 350

Ser Gly Pro His Leu Ala Thr Phe Ala Ile Pro Leu Gly Ala Thr Gln  
 355 360 365

Val Pro Tyr Tyr Cys Phe Leu Lys Val Asp Thr Tyr Asn Ser Thr Val  
 370 375 380

Tyr Lys Phe Leu Ala Val Leu Pro Pro Thr Val Arg Glu Ile Val Ile  
 385 390 395 400

Thr Lys Tyr Gly Asp Val Tyr Val Asn Gly Phe Gly Tyr Leu His Leu  
 405 410 415

Gly Leu Leu Asp Ala Val Thr Ile Asn Phe Thr Gly His Gly Thr Asp  
 420 425 430

Gly Asp Val Ser Gly Phe Trp Thr Ile Ala Ser Thr Asn Phe Val Asp  
 435 440 445

Ala Leu Ile Glu Val Gln Gly Thr Ala Ile Gln Arg Ile Leu Tyr Cys  
 450 455 460

Asp Asp Pro Val Ser Gln Leu Lys Cys Ser Gln Val Ala Phe Asp Leu  
 465 470 475 480

Asp Asp Gly Phe Tyr Pro Ile Ser Ser Arg Asn Leu Leu Ser His Glu  
 485 490 495

Gln Pro Ile Ser Phe Val Thr Leu Pro Ser Phe Asn Asp His Ser Phe  
 500 505 510

Val Asn Ile Thr Val Ser Ala Ser Phe Gly Gly His Ser Gly Ala Asn  
 515 520 525

Leu Ile Ala Ser Asp Thr Thr Ile Asn Gly Phe Ser Ser Phe Cys Val  
 530 535 540

Asp Thr Arg Gln Phe Thr Ile Ser Leu Phe Tyr Asn Val Thr Asn Ser  
 545 550 555 560

Tyr Gly Tyr Val Ser Asn Ser Gln Asp Ser Asn Cys Pro Phe Thr Leu  
 565 570 575

Gln Ser Val Asn Asp Tyr Leu Ser Phe Ser Lys Phe Cys Val Ser Thr  
 580 585 590

Ser Leu Leu Ala Ser Ala Cys Thr Ile Asp Leu Phe Gly Tyr Pro Glu  
 595 600 605

Phe Gly Ser Gly Val Lys Phe Thr Ser Leu Tyr Phe Gln Phe Thr Lys  
 610 615 620

Gly Glu Leu Ile Thr Gly Thr Pro Lys Pro Leu Glu Gly Val Thr Asp  
 625 630 635 640

Val Ser Phe Met Thr Leu Asp Val Cys Thr Lys Tyr Thr Ile Tyr Gly  
 645 650 655

Phe Lys Gly Glu Gly Ile Ile Thr Leu Thr Asn Ser Ser Phe Leu Ala  
 660 665 670

Gly Phe Tyr Tyr Thr Ser Asp Ser Gly Gln Leu Leu Ala Phe Lys Asn  
 675 680 685

Val Thr Ser Gly Ala Val Tyr Ser Val Thr Pro Cys Ser Phe Ser Glu  
 690 695 700

Gln Ala Ala Tyr Val Asp Asp Asp Ile Val Gly Val Ile Ser Ser Leu  
 705 710 715 720

Ser Ser Ser Thr Phe Asn Ser Thr Arg Glu Leu Pro Gly Phe Phe Tyr  
 725 730 735

His Ser Asn Asp Gly Ser Asn Cys Thr Glu Pro Val Leu Val Tyr Ser  
 740 745 750

Asn Ile Gly Val Cys Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Val Pro Ser Gln  
 755 760 765

Ser Gly Gln Val Lys Ile Ala Pro Thr Val Thr Gly Asn Ile Ser Ile  
 770 775 780

Pro Thr Asn Phe Ser Met Ser Ile Arg Thr Glu Tyr Leu Gln Leu Tyr  
 785 790 795 800  
  
 Asn Thr Pro Val Ser Val Asp Cys Ala Thr Tyr Val Cys Asn Gly Asn  
 805 810 815  
  
 Ser Arg Cys Lys Gln Leu Leu Thr Gln Tyr Thr Ala Ala Cys Lys Thr  
 820 825 830  
  
 Ile Glu Ser Ala Leu Gln Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ser Val Glu Val  
 835 840 845  
  
 Asn Ser Met Leu Thr Ile Ser Glu Glu Ala Leu Gln Leu Ala Thr Ile  
 850 855 860  
  
 Ser Ser Phe Asn Gly Asp Gly Tyr Asn Phe Thr Asn Val Leu Gly Val  
 865 870 875 880  
  
 Ser Val Tyr Asp Pro Ala Ser Gly Arg Val Val Gln Lys Arg Ser Phe  
 885 890 895  
  
 Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Val Thr Asn Gly Leu Gly Thr  
 900 905 910  
  
 Val Asp Glu Asp Tyr Lys Arg Cys Ser Asn Gly Arg Ser Val Ala Asp  
 915 920 925  
  
 Leu Val Cys Ala Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Met Val Leu Pro Gly Val  
 930 935 940  
  
 Val Asp Ala Glu Lys Leu His Met Tyr Ser Ala Ser Leu Ile Gly Gly  
 945 950 955 960  
  
 Met Val Leu Gly Gly Phe Thr Ser Ala Ala Ala Leu Pro Phe Ser Tyr  
 965 970 975  
  
 Ala Val Gln Ala Arg Leu Asn Tyr Leu Ala Leu Gln Thr Asp Val Leu  
 980 985 990  
  
 Gln Arg Asn Gln Gln Leu Leu Ala Glu Ser Phe Asn Ser Ala Ile Gly  
 995 1000 1005  
  
 Asn Ile Thr Ser Ala Phe Glu Ser Val Lys Glu Ala Ile Ser Gln  
 1010 1015 1020  
  
 Thr Ser Lys Gly Leu Asn Thr Val Ala His Ala Leu Thr Lys Val  
 1025 1030 1035

|      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| Gln  | Glu | Val | Val | Asn | Ser | Gln  | Gly | Ala | Ala | Leu | Thr  | Gln | Leu | Thr |
| 1040 |     |     |     |     |     | 1045 |     |     |     |     | 1050 |     |     |     |
| Val  | Gln | Leu | Gln | His | Asn | Phe  | Gln | Ala | Ile | Ser | Ser  | Ser | Ile | Asp |
| 1055 |     |     |     |     |     | 1060 |     |     |     |     | 1065 |     |     |     |
| Asp  | Ile | Tyr | Ser | Arg | Leu | Asp  | Ile | Leu | Ser | Ala | Asp  | Val | Gln | Val |
| 1070 |     |     |     |     |     | 1075 |     |     |     |     | 1080 |     |     |     |
| Asp  | Arg | Leu | Ile | Thr | Gly | Arg  | Leu | Ser | Ala | Leu | Asn  | Ala | Phe | Val |
| 1085 |     |     |     |     |     | 1090 |     |     |     |     | 1095 |     |     |     |
| Ala  | Gln | Thr | Leu | Thr | Lys | Tyr  | Thr | Glu | Val | Gln | Ala  | Ser | Arg | Lys |
| 1100 |     |     |     |     |     | 1105 |     |     |     |     | 1110 |     |     |     |
| Leu  | Ala | Gln | Gln | Lys | Val | Asn  | Glu | Cys | Val | Lys | Ser  | Gln | Ser | Gln |
| 1115 |     |     |     |     |     | 1120 |     |     |     |     | 1125 |     |     |     |
| Arg  | Tyr | Gly | Phe | Cys | Gly | Gly  | Asp | Gly | Glu | His | Ile  | Phe | Ser | Leu |
| 1130 |     |     |     |     |     | 1135 |     |     |     |     | 1140 |     |     |     |
| Val  | Gln | Ala | Ala | Pro | Gln | Gly  | Leu | Leu | Phe | Leu | His  | Thr | Val | Leu |
| 1145 |     |     |     |     |     | 1150 |     |     |     |     | 1155 |     |     |     |
| Val  | Pro | Gly | Asp | Phe | Val | Asp  | Val | Ile | Ala | Ile | Ala  | Gly | Leu | Cys |
| 1160 |     |     |     |     |     | 1165 |     |     |     |     | 1170 |     |     |     |
| Val  | Asn | Asp | Glu | Ile | Ala | Leu  | Thr | Leu | Arg | Glu | Pro  | Gly | Leu | Val |
| 1175 |     |     |     |     |     | 1180 |     |     |     |     | 1185 |     |     |     |
| Leu  | Phe | Thr | His | Glu | Leu | Gln  | Asn | His | Thr | Ala | Thr  | Glu | Tyr | Phe |
| 1190 |     |     |     |     |     | 1195 |     |     |     |     | 1200 |     |     |     |
| Val  | Ser | Ser | Arg | Arg | Met | Phe  | Glu | Pro | Arg | Lys | Pro  | Thr | Val | Ser |
| 1205 |     |     |     |     |     | 1210 |     |     |     |     | 1215 |     |     |     |
| Asp  | Phe | Val | Gln | Ile | Glu | Ser  | Cys | Val | Val | Thr | Tyr  | Val | Asn | Leu |
| 1220 |     |     |     |     |     | 1225 |     |     |     |     | 1230 |     |     |     |
| Thr  | Arg | Asp | Gln | Leu | Pro | Asp  | Val | Ile | Pro | Asp | Tyr  | Ile | Asp | Val |
| 1235 |     |     |     |     |     | 1240 |     |     |     |     | 1245 |     |     |     |
| Asn  | Lys | Thr | Leu | Asp | Glu | Ile  | Leu | Ala | Ser | Leu | Pro  | Asn | Arg | Thr |
| 1250 |     |     |     |     |     | 1255 |     |     |     |     | 1260 |     |     |     |
| Gly  | Pro | Ser | Leu | Pro | Leu | Asp  | Val | Phe | Asn | Ala | Thr  | Tyr | Leu | Asn |
| 1265 |     |     |     |     |     | 1270 |     |     |     |     | 1275 |     |     |     |

Leu Thr Gly Glu Ile Ala Asp Leu Glu Gln Arg Ser Glu Ser Leu  
1280 1285 1290

Arg Asn Thr Thr Glu Glu Leu Gln Ser Leu Ile Tyr Asn Ile Asn  
1295 1300 1305

Asn Thr Leu Val Asp Leu Glu Trp Leu Asn Arg Val Glu Thr Tyr  
1310 1315 1320

Ile Lys Trp Pro Trp Trp Val Trp Leu Ile Ile Phe Ile Val Leu  
1325 1330 1335

Ile Phe Val Val Ser Leu Leu Val Phe Cys Cys Ile Ser Thr Gly  
1340 1345 1350

Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Cys Phe Ser Gly Cys  
1355 1360 1365

Cys Arg Gly Pro Arg Leu Gln Pro Tyr Glu Ala Phe Glu Lys Val  
1370 1375 1380

His Val Gln  
1385

<210> 40  
<211> 1386  
<212> PRT  
<213> virut gây bệnh dịch tiêu chảy ở lợn

<400> 40

Met Lys Ser Leu Thr Tyr Phe Trp Leu Phe Leu Pro Val Leu Ser Thr  
1 5 10 15

Leu Ser Leu Pro Gln Asp Val Thr Arg Cys Ser Ala Asn Thr Asn Phe  
20 25 30

Arg Arg Phe Phe Ser Lys Phe Asn Val Gln Ala Pro Ala Val Val Val  
35 40 45

Leu Gly Gly Tyr Leu Pro Ile Gly Glu Asn Gln Gly Val Asn Ser Thr  
50 55 60

Trp Tyr Cys Ala Gly Gln His Pro Thr Ala Ser Gly Val His Gly Ile  
65 70 75 80

Phe Val Ser His Ile Arg Gly Gly His Gly Phe Glu Ile Gly Ile Ser  
85 90 95

Gln Glu Pro Phe Asp Pro Ser Gly Tyr Gln Leu Tyr Leu His Lys Ala

```

100              105              110

Thr Asn Gly Asn Thr Asn Ala Thr Ala Arg Leu Arg Ile Cys Gln Phe
    115              120              125

Pro Ser Ile Lys Thr Leu Gly Pro Thr Ala Asn Asn Asp Val Thr Thr
    130              135              140

Gly Arg Asn Cys Leu Phe Asn Lys Ala Ile Pro Ala Tyr Met Ser Glu
145              150              155              160

His Ser Val Val Gly Ile Thr Trp Asp Asn Asp Arg Val Thr Val Phe
    165              170              175

Ser Asp Lys Ile Tyr Tyr Phe Tyr Phe Lys Asn Asp Trp Ser Arg Val
    180              185              190

Ala Thr Lys Cys Tyr Asn Ser Gly Gly Cys Ala Met Gln Tyr Val Tyr
    195              200              205

Glu Pro Thr Tyr Tyr Met Leu Asn Val Thr Ser Ala Gly Glu Asp Gly
    210              215              220

Ile Ser Tyr Gln Pro Cys Thr Ala Asn Cys Ile Gly Tyr Ala Ala Asn
225              230              235              240

Val Phe Ala Thr Glu Pro Asn Gly His Ile Pro Glu Gly Phe Ser Phe
    245              250              255

Asn Asn Trp Phe Leu Leu Ser Asn Asp Ser Thr Leu Val His Gly Lys
    260              265              270

Val Val Ser Asn Gln Pro Leu Leu Val Asn Cys Leu Leu Ala Ile Pro
    275              280              285

Lys Ile Tyr Gly Leu Gly Gln Phe Phe Ser Phe Asn Gln Thr Ile Asp
    290              295              300

Gly Val Cys Asn Gly Ala Ala Val Gln Arg Ala Pro Glu Ala Leu Arg
305              310              315              320

Phe Asn Ile Asn Asp Thr Ser Val Ile Leu Ala Glu Gly Ser Ile Val
    325              330              335

Leu His Thr Ala Leu Gly Thr Asn Phe Ser Phe Val Cys Ser Asn Ser
    340              345              350

Ser Gly Pro His Leu Ala Thr Phe Ala Ile Pro Leu Gly Ala Thr Gln

```

```

355                               360                               365

Val Pro Tyr Tyr Cys Phe Leu Lys Val Asp Thr Tyr Asn Ser Thr Val
370                               375                               380

Tyr Lys Phe Leu Ala Val Leu Pro Pro Thr Val Arg Glu Ile Val Ile
385                               390                               395                               400

Thr Lys Tyr Gly Asp Val Tyr Val Asn Gly Phe Gly Tyr Leu His Leu
405                               410                               415

Gly Leu Leu Asp Ala Val Thr Ile Asn Phe Thr Gly His Gly Thr Asp
420                               425                               430

Gly Asp Val Ser Gly Phe Trp Thr Ile Ala Ser Thr Asn Phe Val Asp
435                               440                               445

Ala Leu Ile Glu Val Gln Gly Thr Ala Ile Gln Arg Ile Leu Tyr Cys
450                               455                               460

Asp Asp Pro Val Ser Gln Leu Lys Cys Ser Gln Val Ala Phe Asp Leu
465                               470                               475                               480

Asp Asp Gly Phe Tyr Pro Ile Ser Ser Arg Asn Leu Leu Ser His Glu
485                               490                               495

Gln Pro Ile Ser Phe Val Thr Leu Pro Ser Phe Asn Asp His Ser Phe
500                               505                               510

Val Asn Ile Thr Val Ser Ala Ser Phe Gly Gly His Ser Gly Ala Asn
515                               520                               525

Leu Ile Ala Ser Asp Thr Thr Ile Asn Gly Phe Ser Ser Phe Cys Val
530                               535                               540

Asp Thr Arg Gln Phe Thr Ile Ser Leu Phe Tyr Asn Val Thr Asn Ser
545                               550                               555                               560

Tyr Gly Tyr Val Ser Asn Ser Gln Asp Ser Asn Cys Pro Phe Thr Leu
565                               570                               575

Gln Ser Val Asn Asp Tyr Leu Ser Phe Ser Lys Phe Cys Val Ser Thr
580                               585                               590

Ser Leu Leu Ala Ser Ala Cys Thr Ile Asp Leu Phe Gly Tyr Pro Glu
595                               600                               605

Phe Gly Ser Gly Val Lys Phe Thr Ser Leu Tyr Phe Gln Phe Thr Lys

```

```

610                               615                               620

Gly Glu Leu Ile Thr Gly Thr Pro Lys Pro Leu Glu Gly Val Thr Asp
625                               630                               635                               640

Val Ser Phe Met Thr Leu Asp Val Cys Thr Lys Tyr Thr Ile Tyr Gly
645                               650                               655

Phe Lys Gly Glu Gly Ile Ile Thr Leu Thr Asn Ser Ser Phe Leu Ala
660                               665                               670

Gly Phe Tyr Tyr Thr Ser Asp Ser Gly Gln Leu Leu Ala Phe Lys Asn
675                               680                               685

Val Thr Ser Gly Ala Val Tyr Ser Val Thr Pro Cys Ser Phe Ser Glu
690                               695                               700

Gln Ala Ala Tyr Val Asp Asp Asp Ile Val Gly Val Ile Ser Ser Leu
705                               710                               715                               720

Ser Ser Ser Thr Phe Asn Ser Thr Arg Glu Leu Pro Gly Phe Phe Tyr
725                               730                               735

His Ser Asn Asp Gly Ser Asn Cys Thr Glu Pro Val Leu Val Tyr Ser
740                               745                               750

Asn Ile Gly Val Cys Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Val Pro Ser Gln
755                               760                               765

Ser Gly Gln Val Lys Ile Ala Pro Thr Val Thr Gly Asn Ile Ser Ile
770                               775                               780

Pro Thr Asn Phe Ser Met Ser Ile Arg Thr Glu Tyr Leu Gln Leu Tyr
785                               790                               795                               800

Asn Thr Pro Val Ser Val Asp Cys Ala Thr Tyr Val Cys Asn Gly Asn
805                               810                               815

Ser Arg Cys Lys Gln Leu Leu Thr Gln Tyr Thr Ala Ala Cys Lys Thr
820                               825                               830

Ile Glu Ser Ala Leu Gln Leu Ser Ala Arg Leu Glu Ser Val Glu Val
835                               840                               845

Asn Ser Met Leu Thr Ile Ser Glu Glu Ala Leu Gln Leu Ala Thr Ile
850                               855                               860

Ser Ser Phe Asn Gly Asp Gly Tyr Asn Phe Thr Asn Val Leu Gly Val

```

```

865                               870                               875                               880

Ser Val Tyr Asp Pro Ala Ser Gly Arg Val Val Gln Lys Arg Ser Phe
      885                               890                               895

Ile Glu Asp Ala Ala Phe Asn Lys Val Val Thr Asn Gly Leu Gly Thr
      900                               905                               910

Val Asp Glu Asp Tyr Lys Arg Cys Ser Asn Gly Arg Ser Val Ala Asp
      915                               920                               925

Leu Val Cys Ala Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Met Val Leu Pro Gly Val
      930                               935                               940

Val Asp Ala Glu Lys Leu His Met Tyr Ser Ala Ser Leu Ile Gly Gly
      945                               950                               955                               960

Met Val Leu Gly Gly Phe Thr Ser Ala Ala Ala Leu Pro Phe Ser Tyr
      965                               970                               975

Ala Val Gln Ala Arg Leu Asn Tyr Leu Ala Leu Gln Thr Asp Val Leu
      980                               985                               990

Gln Arg Asn Gln Gln Leu Leu Ala Glu Ser Phe Asn Ser Ala Ile Gly
      995                               1000                               1005

Asn Ile Thr Ser Ala Phe Glu Ser Val Lys Glu Ala Ile Ser Gln
      1010                               1015                               1020

Thr Ser Lys Gly Leu Asn Thr Val Ala His Ala Leu Thr Lys Val
      1025                               1030                               1035

Gln Glu Val Val Asn Ser Gln Gly Ala Ala Leu Thr Gln Leu Thr
      1040                               1045                               1050

Val Gln Leu Gln His Asn Phe Gln Ala Ile Ser Ser Ser Ile Asp
      1055                               1060                               1065

Asp Ile Tyr Ser Arg Leu Asp Ile Leu Ser Ala Asp Val Gln Val
      1070                               1075                               1080

Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Ser Ala Leu Asn Ala Phe Val
      1085                               1090                               1095

Ala Gln Thr Leu Thr Lys Tyr Thr Glu Val Gln Ala Ser Arg Lys
      1100                               1105                               1110

Leu Ala Gln Gln Lys Val Asn Glu Cys Val Lys Ser Gln Ser Gln

```

|                                                             |  |      |  |      |
|-------------------------------------------------------------|--|------|--|------|
| 1115                                                        |  | 1120 |  | 1125 |
| Arg Tyr Gly Phe Cys Gly Gly Asp Gly Glu His Ile Phe Ser Leu |  |      |  |      |
| 1130                                                        |  | 1135 |  | 1140 |
| Val Gln Ala Ala Pro Gln Gly Leu Leu Phe Leu His Thr Val Leu |  |      |  |      |
| 1145                                                        |  | 1150 |  | 1155 |
| Val Pro Gly Asp Phe Val Asp Val Ile Ala Ile Ala Gly Leu Cys |  |      |  |      |
| 1160                                                        |  | 1165 |  | 1170 |
| Val Asn Asp Glu Ile Ala Leu Thr Leu Arg Glu Pro Gly Leu Val |  |      |  |      |
| 1175                                                        |  | 1180 |  | 1185 |
| Leu Phe Thr His Glu Leu Gln Asn His Thr Ala Thr Glu Tyr Phe |  |      |  |      |
| 1190                                                        |  | 1195 |  | 1200 |
| Val Ser Ser Arg Arg Met Phe Glu Pro Arg Lys Pro Thr Val Ser |  |      |  |      |
| 1205                                                        |  | 1210 |  | 1215 |
| Asp Phe Val Gln Ile Glu Ser Cys Val Val Thr Tyr Val Asn Leu |  |      |  |      |
| 1220                                                        |  | 1225 |  | 1230 |
| Thr Arg Asp Gln Leu Pro Asp Val Ile Pro Asp Tyr Ile Asp Val |  |      |  |      |
| 1235                                                        |  | 1240 |  | 1245 |
| Asn Lys Thr Leu Asp Glu Ile Leu Ala Ser Leu Pro Asn Arg Thr |  |      |  |      |
| 1250                                                        |  | 1255 |  | 1260 |
| Gly Pro Ser Leu Pro Leu Asp Val Phe Asn Ala Thr Tyr Leu Asn |  |      |  |      |
| 1265                                                        |  | 1270 |  | 1275 |
| Leu Thr Gly Glu Ile Ala Asp Leu Glu Gln Arg Ser Glu Ser Leu |  |      |  |      |
| 1280                                                        |  | 1285 |  | 1290 |
| Arg Asn Thr Thr Glu Glu Leu Gln Ser Leu Ile Tyr Asn Ile Asn |  |      |  |      |
| 1295                                                        |  | 1300 |  | 1305 |
| Asn Thr Leu Val Asp Leu Glu Trp Leu Asn Arg Val Glu Thr Tyr |  |      |  |      |
| 1310                                                        |  | 1315 |  | 1320 |
| Ile Lys Trp Pro Trp Trp Val Trp Leu Ile Ile Phe Ile Val Leu |  |      |  |      |
| 1325                                                        |  | 1330 |  | 1335 |
| Ile Phe Val Val Ser Leu Leu Val Phe Cys Cys Ile Ser Thr Gly |  |      |  |      |
| 1340                                                        |  | 1345 |  | 1350 |
| Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Cys Phe Ser Gly Cys |  |      |  |      |

|                                                                   |                   |      |     |
|-------------------------------------------------------------------|-------------------|------|-----|
| 1355                                                              | 1360              | 1365 |     |
| Cys Arg Gly Pro Arg Leu Gln Pro Ala Glu Ala Phe Glu Lys Val       |                   |      |     |
| 1370                                                              | 1375              | 1380 |     |
| Arg Val Gln                                                       |                   |      |     |
| 1385                                                              |                   |      |     |
|                                                                   |                   |      |     |
| <210>                                                             | 41                |      |     |
| <211>                                                             | 29                |      |     |
| <212>                                                             | ADN               |      |     |
| <213>                                                             | Trình tự nhân tạo |      |     |
| <220>                                                             |                   |      |     |
| <223>                                                             | trình tự mẫu dò   |      |     |
| <400>                                                             | 41                |      |     |
| acagagcctg tgttggtgta tagtaacat                                   |                   |      | 29  |
|                                                                   |                   |      |     |
| <210>                                                             | 42                |      |     |
| <211>                                                             | 23                |      |     |
| <212>                                                             | ADN               |      |     |
| <213>                                                             | Trình tự nhân tạo |      |     |
| <220>                                                             |                   |      |     |
| <223>                                                             | trình tự đoạn mỗi |      |     |
| <400>                                                             | 42                |      |     |
| tatagtgggt gttatttcta gtt                                         |                   |      | 23  |
|                                                                   |                   |      |     |
| <210>                                                             | 43                |      |     |
| <211>                                                             | 21                |      |     |
| <212>                                                             | ADN               |      |     |
| <213>                                                             | Trình tự nhân tạo |      |     |
| <220>                                                             |                   |      |     |
| <223>                                                             | trình tự đoạn mỗi |      |     |
| <400>                                                             | 43                |      |     |
| gccaaactg ccagatttac a                                            |                   |      | 21  |
|                                                                   |                   |      |     |
| <210>                                                             | 44                |      |     |
| <211>                                                             | 170               |      |     |
| <212>                                                             | ADN               |      |     |
| <213>                                                             | Trình tự nhân tạo |      |     |
| <220>                                                             |                   |      |     |
| <223>                                                             | trình tự ultrame  |      |     |
| <400>                                                             | 44                |      |     |
| tgatgatata gtgggtgtta tttctagttt gtctagctcc acttttaaca gtactaggga |                   |      | 60  |
| gttgctggt ttcttctacc attctaataa tggctctaata tgtacagagc ctgtgttggt |                   |      | 120 |
| gtatagtaac ataggtgttt gtaaactctgg cagtattggc tatgtcccat           |                   |      | 170 |

1/2

Fig. 1

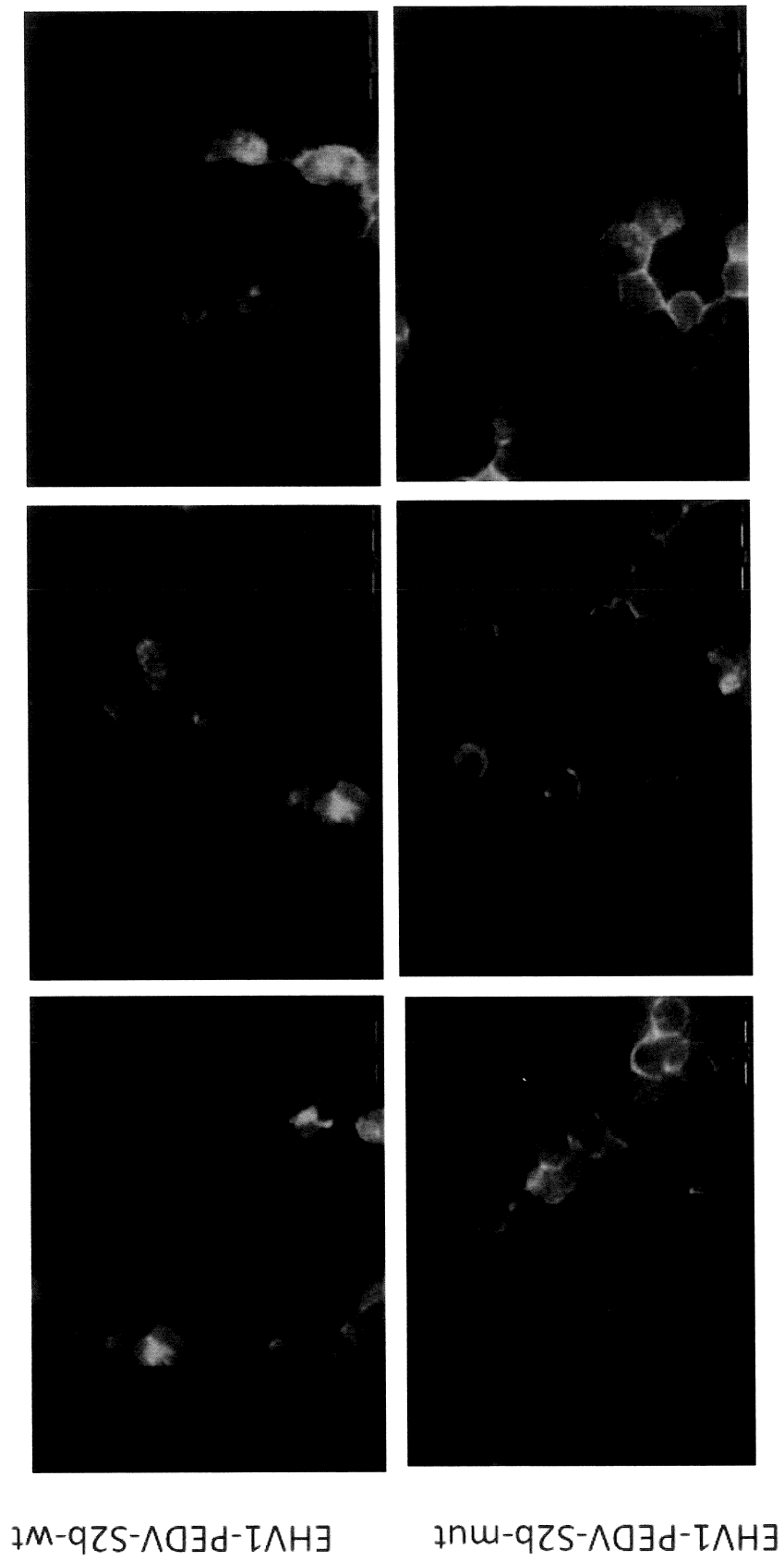


Fig. 2

Tế bào Vero EU

