



(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)



1-0025919

(51)⁷ A61K 39/15

(13) B

(21) 1-2014-02715

(22) 14/02/2013

(86) PCT/US2013/026179 14/02/2013

(87) WO2013/123219 22/08/2013

(30) 61/598,624 14/02/2012 US

(45) 26/10/2020 391

(43) 25/11/2014 320A

(73) Merial, Inc. (US)

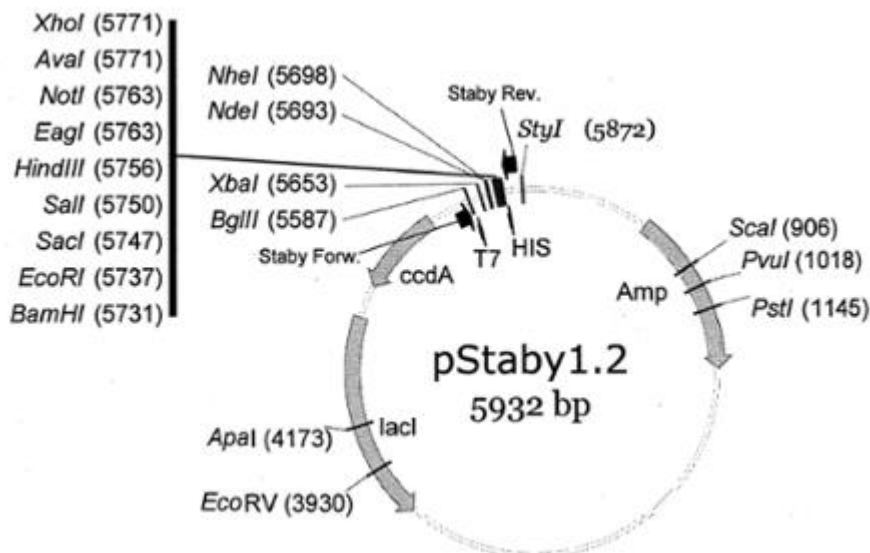
3239 Statellite Blvd., Bldg. 500, Duluth, Georgia 30096, United States of America

(72) BEY, Russell, F. (US); SIMONSON, Randy, R. (US); SIRIGIREDDY, Kamesh, Reddy (IN); HAUSE, Benjamin, Matthew (US).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) CHẾ PHẨM MIỄN DỊCH VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT CHẾ PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến polypeptit kháng nguyên hoặc kháng nguyên rotavirus gây ra đáp ứng miễn dịch ở động vật hoặc người kháng rotavirus, chế phẩm bao gồm polypeptit rotavirus này, phương pháp chủng ngừa kháng rotavirus, và kit sử dụng các phương pháp và chế phẩm này. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến vector biểu hiện mới để tạo ra polypeptit kháng nguyên vaccin.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến vacxin tiêu phân, đặc biệt là vacxin bao gồm các peptit rotavirut được thiết kế để thu được tính di truyền và tính kháng nguyên gần giống với các peptit biểu hiện bởi các virut gây nhiễm quần thể động vật đích. Các plasmit biểu hiện peptit kháng nguyên hoặc (các) protein tiêu phân được giữ trong quần thể tế bào vi khuẩn bởi hệ chọn lọc gây độc/thải độc. Các tế bào vi khuẩn này tạo ra protein độc tính, kháng lại protein thải độc mã hóa bởi plasmit mang các peptit này, làm cho các tế bào không biến nạp không sống sót được.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Rotavirut là nguyên nhân chủ yếu gây ra bệnh tiêu chảy trầm trọng ở trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ (Dennehy PH, 2000), và là một trong các virut gây nhiễm bệnh thường được gọi là bệnh cúm dạ dày, cho dù nó không có liên quan tới bệnh cúm. Nó là một chi của virut ARN sợi kép trong họ Reoviridae. Virut này có năm loại, được gọi là A, B, C, D, và E (ICTV Virus Taxonomy: 2009 Release). Bảng 1 tóm tắt các loại protein rotavirut đã biết. Rotavirut A là loại phổ biến nhất, gây nhiễm hơn 90% số ca ở người. Virut này được truyền theo đường phân-miệng, và gây nhiễm và tổn thương các tế bào nằm ở ruột non và gây ra chứng viêm dạ dày ruột. Không những ảnh hưởng đến sức khỏe của con người, rotavirut còn gây nhiễm cho động vật, và là nguồn gây bệnh cho vật nuôi (Dubovi EJ, 2010).

Ví dụ, theo nghiên cứu mới đây, rotavirut được tìm thấy chủ yếu (65%) ở phân hoặc ruột từ lợn mắc bệnh tiêu chảy. Phần lớn động vật bị nhiễm một nhóm (A, B, C), nhưng trường hợp nhiễm đồng thời nhiều hơn một nhóm rotavirut cũng thường xảy ra (Yoon, KJ, Epidemiology of rotaviruses, ISUVDL submissions, 2010-2011, Iowa State). Gần một phần ba số động vật bị nhiễm ít nhất rotavirut nhóm C. Cho đến nay, phương pháp phòng ngừa rotavirut ở lợn còn tương đối lạ, như cho lợn khỏe mạnh ăn mô của lợn con bị nhiễm bệnh. Phương pháp này là bắt buộc vì rotavirut nhóm C không thể phát triển *in vitro*, khiến cho không thể tạo ra được các vacxin chứa virut bị bất hoạt/bị suy yếu toàn bộ. Do đó, rất cần có biện pháp phòng ngừa bệnh an toàn và hiệu quả hơn.

Bảng 1. Tóm tắt về protein rotavirut

Phân đoạn ARN (Gen)	Kích cỡ (bp, dựa trên chủng Rota C của người)	Protein	Khối lượng phân tử kDa	Vị trí	Số bản sao trên một hạt	Chức năng
1	3309	VP1	125	Ở đỉnh của nhân	<25	Polymeaza ARN phụ thuộc ARN

2	2736	VP2	102	Tạo ra vỏ bên trong nhân	120	Kích thích replicaza ARN của virut
3	2283	VP3	88	Ổ định của nhân	<25	Enzym bắt giữ guanylyl transferaza mARN
4	2166	VP4	87	Gai bề mặt	120	Gắn vào tế bào, gây độc
5	1353	NSP1	59	Không có cấu trúc	0	Gắn kết 5'ARN
6	1350	VP6	45	Capsit ở bên trong	780	Kháng nguyên cấu trúc và đặc hiệu loài
7	1270	NSP3	37	Không có cấu trúc	0	Tăng cường hoạt tính mARN virut và dùng quá trình tổng hợp protein tế bào
8	1063	NSP2	35	Không có cấu trúc	0	NTPaza tham gia vào việc đóng gói ARN
9	1037	VP7, VP7	38, 34	Bề mặt	780	Kháng nguyên cấu trúc và trung hòa
10	730	NSP4	20	Không có cấu trúc	0	Độc tố trong ruột
11	613	NSP5 NSP6	22	Không có cấu trúc	0	Gen điều biến gắn kết ssRNA và dsARN của NSP2

Một phương pháp thay thế là tạo ra vaccin chứa protein tiểu phần hoặc kháng nguyên rotavirus miễn dịch. Vào thời điểm nộp đơn này, các tác giả sáng chế không thấy có tài liệu nào mô tả phương pháp tạo ra vaccin tiểu phần rotavirus (tự sinh hoặc theo cách khác) để gây miễn dịch cho lợn kháng rotavirus, cụ thể là biến thể nhóm C. Các patent và đơn sáng chế dưới đây tóm lược tình trạng kỹ thuật có liên quan đến rotavirus, đặc biệt là vaccin trên cơ sở tiểu phần.

US7790178 (cấp cho Intervet) mô tả vaccin hóa trị ba, chứa rotavirus bất hoạt của chó.

US7311918 & US6589529 (cấp cho Children's Hospital Ohio) mô tả protein dung hợp rotavirus tái tổ hợp bao gồm mảnh protein VP6, dự định dùng để chủng ngừa cho người. Dữ liệu thử nghiệm trên chuột chỉ ra rằng vaccin này tạo ra đáp ứng miễn dịch kháng trực tiếp protein dung hợp VP6.

US6867353 (cấp cho Exploregen) mô tả sự biểu hiện mảnh cADN mã hóa protein cấu trúc rotavirus của người bằng cách sử dụng cả chưa biến tính.

US6716431 (cấp cho Wyeth, bây giờ là Pfizer) mô tả các dạng khác của NSP4 (tức là SNP làm biến đổi axit amin), vẫn giữ được tính kháng nguyên, nhưng tính gây

độc tế bào đã giảm.

US6673355 & US6210682 (cấp cho Baylor College of Medicine) đề cập đến việc sử dụng NSP4 và các mảnh của nó (NSP4 114-135, NSP4 120-147, NSP4 112-174, hoặc NSP4 112-150) để phòng ngừa và/hoặc điều trị bệnh do rotavirus gây ra. Chế phẩm chứa chất bổ trợ độc tố trong ruột cũng được mô tả. US5891676 & US5827696 (cũng được cấp cho Baylor) mô tả sự biểu hiện baculovirus của rotavirus VP2 và VP7, tương ứng.

US6187319 (cấp cho University of Mass.) đề cập đến phương pháp tạo ra đáp ứng miễn dịch ở động vật kháng rotavirus thứ nhất bằng cách dùng polypeptit VP6 đã phân lập của rotavirus thứ hai nhiễm các loài khác không phải động vật đã được chủng ngừa.

US5298244 (cấp cho University of Saskatchewan) mô tả nhóm các hạt virus chứa VP4, VP6, và VP7.

US20110171316 (cấp cho US Health and Human Service) mô tả rotavirus nhóm C tái tổ hợp người giống như các hạt.

US20100047763 (cấp cho Goes *et al.*) bộc lộ plasmid ADN mã hóa protein rotavirus để sử dụng trong kit chẩn đoán.

US5186933 (cấp cho Baylor College of Medicine) bộc lộ việc biểu hiện gen rotavirus, cụ thể là VP3 và VP7, bằng cách sử dụng hệ baculovirus.

Trước sáng chế này, các tác giả sáng chế chưa từng biết về vaccin tiểu phần rotavirus ở lợn được bào chế bằng cách biểu hiện kháng nguyên rotavirus loại C ở *E. coli*. Hơn nữa, trước đây chưa từng có phương pháp nào để tạo ra vaccin an toàn và hiệu quả để dùng cho lợn, và do đó mục đích của sáng chế này là nhằm tạo ra các vaccin như vậy.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là nhằm tìm ra vaccin tiểu phần cũng như phương pháp điều trị và phòng ngừa lây nhiễm rotavirus.

Sáng chế còn đề xuất vector mới và sử dụng chúng để sản xuất protein dị loại hoặc gen quan tâm có thể được dùng, ví dụ, trong lĩnh vực miễn dịch. Theo các phương án cụ thể, protein dị loại là protein rotavirus. Theo các phương án cụ thể hơn, protein là protein rotavirus của lợn được chọn từ NSP4, VP4, hoặc VP6. Theo phương án khác, protein rotavirus là protein dung hợp ba thành phần NSP4-VP4-VP6.

Mục đích khác của sáng chế là nhằm tạo ra vector có thể được sử dụng ở quy mô công nghiệp, có lợi trong việc tạo ra năng suất biểu hiện cao, trong trường hợp không sử dụng các chất kháng sinh bất kỳ, và từ đó có thể được sử dụng ở quy mô nhỏ hoặc lớn

(ví dụ, 1-10000L môi trường).

Từ đó, sáng chế đề xuất vector tự sao chép không chứa gen kháng kháng sinh bất kỳ, bao gồm: (a) trình tự mã hóa protein ccdA đã liên kết chức năng với gen khởi đầu thứ nhất; và (b) trình tự dị loại đã liên kết chức năng với gen khởi đầu thứ hai. Theo một phương án cụ thể, gen khởi đầu thứ nhất là gen khởi đầu cơ định. Theo phương án khác, gen khởi đầu thứ hai là gen khởi đầu cảm ứng, cụ thể gen khởi đầu thứ hai là gen khởi đầu T7. Theo phương án khác, gen khởi đầu là gen khởi đầu T5.

Theo một phương án cụ thể, trình tự dị loại mã hóa kháng nguyên vacxin.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất tế bào chứa có nhân điển hình biểu hiện protein ccdB, bao gồm vector như được xác định trên đây.

Theo một khía cạnh cụ thể, tế bào chứa có nhân điển hình này là tế bào *E. coli*.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra protein dị loại, bao gồm các bước:

(a) cấy các tế bào chứa có nhân điển hình biểu hiện protein ccdB và chứa vector như được xác định trên đây vào môi trường nuôi cấy thích hợp;

(b) nuôi cấy lên men các tế bào được biến nạp như vậy trong điều kiện không có mặt chất kháng sinh; và

(c) thu hồi protein dị loại được tạo ra ở bước (b) từ dịch nổi trên bề mặt hoặc từ hạt tế bào.

Theo một phương án cụ thể, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra peptit rotavirus tái tổ hợp.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra vector tự sao chép như được xác định trên đây, bao gồm các bước:

(a) cấy các tế bào chứa có nhân điển hình biểu hiện protein ccdB và chứa vector như được xác định trên đây vào môi trường nuôi cấy thích hợp;

(b) nuôi cấy lên men các tế bào được biến nạp như vậy trong điều kiện không có mặt chất kháng sinh; và

(c) thu hồi vector đã tạo ra ở bước (b).

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp thiết kế vector tự sao chép như được xác định trên đây, bao gồm các bước:

(a) chuẩn bị vector tự sao chép bao gồm gen kháng kháng sinh chức năng và gen ccdA;

(b) tiến hành PCR đảo để khuếch đại trình tự plasmit của gen kháng không chứa chất kháng sinh;

(c) phosphoryl hóa và nối sản phẩm PCR để tạo ra phiên bản không chứa gen

kháng kháng sinh của vectơ nêu ở bước (a);

(d) biến nạp tế bào chưa có nhân điển hình biểu hiện protein ccdB; và

(e) thu hồi các tế bào chưa có nhân điển hình bao gồm vectơ tự sao chép.

Theo khía cạnh khác, các mẫu sinh học được lấy từ các quần thể sinh động vật, bao gồm lợn. ARN được thu thập từ đó, và tiến hành quá trình sao chép ngược, bằng cách sử dụng đoạn mã đặc hiệu gen rotavirus. Các sản phẩm PCR tiếp đó được tách dòng thành plasmid tự sao chép như đã nêu trên, và các plasmid mới này ở dạng tập hợp và hoặc gen rotavirus đặc hiệu vùng đã biến nạp vào các tế bào chưa có nhân điển hình biểu hiện ccdB. Các peptit rotavirus được thu thập từ các tế bào và tạo ra các vaccin tự sinh theo sáng chế và/hoặc vaccin thương mại.

Theo phương án cụ thể, vaccin tiểu phần rotavirus tự sinh bao gồm chất bổ trợ. Chất bổ trợ này có thể là dầu, nhũ tương, muối kim loại (ví dụ, $Al(OH)_3$), hoặc dạng kết hợp của chúng. Theo một phương án, chất bổ trợ là TRIGEN[®] hoặc ULTRAGEN[®] hoặc PrimaVant[®] (TRIGEN + Quil A), TS6 (đã mô tả trong US 7,371,395 US của Merial), LR4 (đã mô tả trong US 7,691,368, của Merial), hoặc chế phẩm bất kỳ đã mô tả trong US 2011-0129494 A1 (của Merial).

Theo một phương án, vaccin có thể bao gồm hỗn hợp chứa VP4, VP6, và NSP4 rotavirus, và lượng bảo toàn của formaldehyt và/hoặc chất diệt khuẩn.

Sáng chế còn mô tả phương pháp cảm ứng đáp ứng miễn dịch hoặc đáp ứng bảo vệ kháng rotavirus, cũng như phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị rotavirus hoặc tình trạng bệnh gây ra bởi rotavirus, bao gồm bước dùng các tiểu phần, hoặc chế phẩm bao gồm các tiểu phần này.

Sáng chế cũng đề xuất sản phẩm biểu hiện từ plasmid cũng như các kháng thể được tạo ra từ sản phẩm biểu hiện này và mô tả việc sử dụng các sản phẩm và kháng thể này, ví dụ, trong các ứng dụng chẩn đoán.

Sáng chế còn đề xuất kit bao gồm ít nhất một polypeptit rotavirus hoặc mảnh hoặc biến thể của nó và hướng dẫn sử dụng.

Các phương án này và phương án khác được bộc lộ và là hiển nhiên từ và bao hàm trong phần mô tả chi tiết dưới đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Các phương án của sáng chế, kể cả các phương án tốt nhất của nó, sẽ được mô tả đầy đủ cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này trong phần sau đây của bản mô tả, có viện dẫn tới các hình vẽ kèm theo, trong đó:

Fig. 1 là bản đồ endonucleaza giới hạn của pStaby1.2 (tài liệu của nhà cung cấp);

Fig. 2 là sơ đồ thể hiện việc loại bỏ gen kháng ampicillin ra khỏi pStaby1.2;

Fig. 3 là sơ đồ thể hiện việc cài xen gen GST vào pNPL1 để tạo ra pNPL2;

Fig. 4 là bản đồ vùng bên và các vị trí cài xen gen rotavirus của pNPL2;

Fig. 5 là biểu đồ minh họa kỹ thuật phục hồi ADN nhận;

Fig. 6 là sơ đồ minh họa quá trình phân lập các gen rotavirus của vaccin tự sinh dự tuyển từ các mẫu lâm sàng;

Fig. 7 là sơ đồ minh họa quá trình cài xen ADN pNPL2 nhận để thu được pNPL2-Rota;

Fig. 8 thể hiện gel PAGE xác nhận mức biểu hiện và kích cỡ của các protein VP4, VP6 và NSP4 rotavirus;

Fig. 9A thể hiện sự sắp hàng trình tự nucleotit và peptit (kèm theo bảng thể hiện tỷ lệ tương đồng) cho các thể phân lập NSP4;

Fig. 9B thể hiện sự sắp hàng trình tự nucleotit và peptit (kèm theo bảng thể hiện tỷ lệ tương đồng) cho các thể phân lập VP4;

Fig. 9C thể hiện sự sắp hàng trình tự nucleotit và peptit (kèm theo bảng thể hiện tỷ lệ tương đồng) cho các thể phân lập VP6;

Fig. 10 là biểu đồ thể hiện kết quả huyết thanh toàn phần để nghiên cứu hiệu lực vaccin;

Fig. 11 là các biểu đồ thể hiện huyết thanh đặc hiệu VP4, VP6, và NSP4 như được xác định bởi ELISA;

Fig. 12 thể hiện gel PAGE xác nhận mức biểu hiện protein dung hợp ba thành phần NSP4-VP4-VP6 của Rota C. L có nghĩa là dạng bậc thang; 1 có nghĩa là trước khi cảm ứng (OD=0,6); 2 có nghĩa là môi trường trong quá trình cảm ứng (OD=1,5); 3 có nghĩa là môi trường đã được cảm ứng (OD=1,5);

Fig. 13 thể hiện kỹ thuật thẩm tách Western (bên trái) và gen PAGE (bên phải) xác nhận sự biểu hiện protein dung hợp. L có nghĩa là dạng bậc thang, 1 có nghĩa là BSA 1,5 μ g, 2 có nghĩa là protein dung hợp đã pha loãng theo tỷ lệ 1:20, 3 có nghĩa là protein dung hợp đã pha loãng theo tỷ lệ 1:40, 4-GST 0,5 μ g.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế bao hàm các tiểu phần rotavirus (như được xác định trong bản mô tả, ví dụ, là polypeptit rotavirus, protein, kháng nguyên, epitop hoặc chất sinh miễn dịch) gây ra đáp ứng miễn dịch ở động vật, cụ thể là các tiểu phần rotavirus gây ra, cảm ứng hoặc gây bệnh thử nghiệm đáp ứng ở lợn.

Các tiểu phần rotavirus quan tâm cụ thể là VP4, VP6, và NSP4, cụ thể là các tiểu phần được mã hóa bởi các trình tự axit nucleic từ lợn bị nhiễm rotavirus nhóm C. Nhận

thấy rằng các tiền chất của các kháng nguyên bất kỳ này có thể được sử dụng trong sáng chế.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp khuếch đại các trình tự rotavirus từ lợn bị nhiễm, và sử dụng các kỹ thuật phân tử đã biết để đưa các trình tự đã khuếch đại này vào vector biểu hiện. Theo phương án cụ thể, quá trình khuếch đại được thực hiện bởi PCR bằng cách sử dụng đoạn môi bổ sung với các vùng bảo toàn ở mức cao của gen rotavirus, sao cho các gen từ nhiều chủng rotavirus khác nhau có thể được khuếch đại bằng cách sử dụng cùng loại đoạn môi. Theo một phương án, các đoạn môi được bổ sung với trình tự axit nucleic rotavirus mã hóa VP4, VP6, và/hoặc NSP4, và có trình tự như nêu trong các SEQ ID NO:8-13).

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra vector biểu hiện, chứa và biểu hiện ở gen thải độc của vật chủ chưa có nhân điển hình, làm cho các tế bào vi khuẩn biểu hiện độc tố protein có khả năng sống sót. Theo một phương án, gen thải độc là *ccdA* và gen gây độc là *ccdB*.

Theo khía cạnh khác, các trình tự rotavirus mới được đưa vào các vector biểu hiện để tạo ra các tiểu phần rotavirus cần sử dụng trong quá trình bào chế vaccin tiểu phần.

Theo một phương án, vaccin tiểu phần còn bao gồm chất bổ trợ. Theo phương án cụ thể, chất bổ trợ là chất bổ trợ dầu trong nước. Theo một số phương án, chất bổ trợ là TRIGEN, ULTRAGEN, PrimaVant, TS6, LR4, hoặc dạng kết hợp của chúng. Theo một phương án, các vaccin còn bao gồm lượng bổ trợ của muối nhôm. Các hợp chất bổ trợ khác cũng có thể được bổ sung vào vaccin tiểu phần, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở saponin và nhôm hydroxit. Các hợp chất bổ trợ bổ sung này có thể làm cải thiện độ ổn định khi bảo quản, hiệu lực của vaccin, cả hai đặc tính này.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra tính miễn dịch bảo vệ cho lợn con kháng rotavirus, bao gồm bước dùng vaccin tiểu phần theo sáng chế cho lợn nái và lợn nái con, lợn nái.

Bảng 1. Danh sách các đoạn môi sử dụng trong cấu trúc vector và gen tạo dòng

SEQ ID #	#	Mô tả
2	650	GST xuôi NdeI
3	651	GST ngược BamHI
4	644	Khuyết gen AMP ^R xuôi
5	645	Khuyết gen AMP ^R ngược
6	660	Kiểm tra PCR xuôi
7	661	Kiểm tra PCR ngược
8	652	NSP4 xuôi với vị trí BamHI
9	653	NSP4 ngược với vị trí HindIII
10	654	VP4 xuôi với vị trí BamHI
11	655	VP4 ngược với vị trí HindIII

12	656	VP6 xuôi với vị trí BamHI
13	657	VP6 ngược với vị trí HindIII
73	760	KSN760 - VP4 ngược
74	761	KSN761 - VP4 xuôi
75	762	KSN762 - VP4 ngược
76	763	KSN763 - VP4 xuôi
77	772	Đoạn mồi 1 để cài xen His Tag vào pNPL1
78	773	Đoạn mồi 2 để cài xen His Tag vào pNPL1
79	774	Rota C NSP4 FOR cho pNPL3
80	775	Rota C NSP4 REV cho pNPL3 hoặc pNPL1
81	776	Rota C VP4 FOR cho pNPL3
82	777	Rota C VP4 REV cho pNPL3 hoặc pNPL1
83	778	Rota C VP6 FOR cho pNPL3
84	779	Rota C VP6 REV cho pNPL3 hoặc pNPL1
85	780	Rota C NSP4 FOR cho pNPL1
86	781	Rota C VP4 FOR cho pNPL1
87	782	Rota C VP6 FOR cho pNPL1
88	783	Rota C VP7 FOR cho pNPL3
89	784	Rota C VP7 REV cho pNPL3 hoặc pNPL1

Các polypeptit hoặc protein kháng nguyên theo sáng chế có khả năng bảo vệ kháng rotavirut. Tức là chúng có khả năng gây bệnh thử nghiệm đáp ứng miễn dịch ở động vật. “Kháng nguyên” hoặc “chất sinh miễn dịch” có nghĩa là chất cảm ứng đáp ứng miễn dịch đặc hiệu ở động vật chủ. Kháng nguyên có thể bao gồm toàn bộ vi sinh vật bị giết, bị suy yếu hoặc sống sót; tiểu phần hoặc một phần vi sinh vật; vectơ tái tổ hợp chứa đoạn cài xen có đặc tính sinh miễn dịch; đoạn hoặc mảnh ADN có khả năng đáp ứng đáp ứng miễn dịch trong khi biểu hiện ở động vật chủ; polypeptit, epitop, hapten, hoặc dạng kết hợp bất kỳ của chúng. Theo cách khác, chất sinh miễn dịch hoặc kháng nguyên có thể bao gồm độc tố hoặc kháng độc tố.

Các thuật ngữ “protein”, “peptit”, “polypeptit” và “mảnh polypeptit” được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả dùng để chỉ polyme của các gốc axit amin có chiều dài bất kỳ. Polyme này có thể là mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nó có thể bao gồm axit amin đã cải biến hoặc các gen tương tự axit amin, và nó có thể bị gián đoạn bởi các gốc hóa học không phải axit amin. Các thuật ngữ này cũng bao hàm polyme của axit amin được cải biến một cách tự nhiên hoặc bằng cách can thiệp; ví dụ, tạo liên kết disulfua, glycosyl hóa, lipit hóa, axetyl hóa, phosphoryl hoá, hoặc bằng các thao tác hoặc cải biến khác bất kỳ, như tiếp hợp với thành phần dán nhãn hoặc có hoạt tính sinh học.

Thuật ngữ “polypeptit sinh miễn dịch hoặc kháng nguyên” được sử dụng trong bản mô tả bao gồm các polypeptit có hoạt tính miễn dịch theo hướng sao cho ngay khi dùng cho vật chủ, thì nó có thể tạo ra đáp ứng miễn dịch kiểu thể dịch và/hoặc tế bào trực tiếp kháng lại protein. Tốt hơn, nếu mảnh protein là mảnh sao cho nó hầu như có hoạt tính miễn dịch như protein toàn phần. Do đó, mảnh protein theo sáng chế bao gồm

hoặc cầu thành chủ yếu từ hoặc cầu thành từ ít nhất một epitop hoặc yếu tố quyết định kháng nguyên. Protein hoặc polypeptit "sinh miễn dịch", như được sử dụng trong bản mô tả, bao gồm trình tự có protein chiều dài đầy đủ, các gen tương tự của chúng, hoặc mảnh sinh miễn dịch của chúng. "Mảnh sinh miễn dịch" có nghĩa là mảnh protein chứa một hoặc nhiều epitop và nhờ đó gây ra đáp ứng miễn dịch như đã nêu trên. Các mảnh như vậy có thể được xác định bằng cách sử dụng nhiều kỹ thuật vẽ bản đồ epitop bất kỳ, là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Xem, ví dụ, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66 (Glenn E. Morris, Ed., 1996). Ví dụ, các epitop tuyến tính có thể được xác định bằng cách ví dụ, nhiều quá trình tổng hợp peptit đồng thời trên chất mang rắn, các peptit tương ứng với các phần của phân tử protein, và cho peptit phản ứng với các kháng thể trong khi đó các peptit này vẫn được gắn vào các chất mang. Các kỹ thuật như vậy là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và đã mô tả trong, ví dụ, patent US số 4,708,871; Geysen et al., 1984; Geysen et al., 1986. Tương tự, các epitop cấu dạng được nhận diện một cách dễ dàng bằng cách xác định cấu dạng không gian của các axit amin như bằng cách, ví dụ, tinh thể tia X và cộng hưởng từ hạt nhân 2 chiều. Xem, ví dụ, Epitope Mapping Protocols, supra. Các phương pháp đặc biệt thích hợp với các protein của *T. parva* được mô tả đầy đủ trong PCT/US2004/022605, được kết hợp toàn bộ vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn.

Như đã nêu trong bản mô tả, sáng chế bao hàm các mảnh hoạt tính và các biến thể củ polypeptit kháng nguyên. Do đó, thuật ngữ "polypeptit sinh miễn dịch hoặc kháng nguyên" còn được xem là các đoạn khuyết, bổ sung, thay thế cho trình tự, với điều kiện polypeptit có chức năng tạo ra đáp ứng miễn dịch như được xác định trong bản mô tả. Thuật ngữ "biến đổi bảo toàn" dùng để chỉ việc thế gốc axit amin bằng gốc sinh học tương tự khác, hoặc việc thế nucleotit trong trình tự axit nucleic sao cho gốc axit amin đã mã hóa không bị thay đổi hoặc là gốc sinh học tương tự khác. Liên quan tới vấn đề này, các đoạn thế được ưu tiên đặc biệt thường được bảo toàn trong tự nhiên, tức là các đoạn thế này thuộc họ axit amin. Ví dụ, axit amin thường được chia thành bốn họ: (1) aspartat và glutamat có tính axit; (2) lysin, arginin, histidin có tính bazơ; (3) alanin, valin, leuxin, isoleuxin, prolin, phenylalanin, metionin, tryptophan không phân cực; và (4) glyxin, asparagin, glutamin, xystin, serin, threonin, tyrosin phân cực không mang điện tích. Phenylalanin, tryptophan, và tyrosin đôi khi được phân loại là axit amin thơm. Ví dụ về các đoạn biến đổi bảo toàn bao gồm đoạn thế chứa một gốc kỵ nước như isoleuxin, valin, leuxin hoặc metionin cho gốc kỵ nước khác, hoặc đoạn thế chứa một gốc phân cực cho gốc phân cực khác, như đoạn thế của arginin cho lysin, axit glutamic cho axit aspartic, hoặc glutamin cho asparagin, và các đoạn tương tự; hoặc đoạn thế bảo

toàn tương tự của axit amin bằng axit amin có cấu trúc liên quan sẽ không ảnh hưởng lớn tới hoạt tính sinh học. Các protein hầu như có cùng trình tự axit amin như phân tử tham chiếu nhưng có đoạn thể axit amin nhỏ, mà hầu như không ảnh hưởng tới tính sinh miễn dịch của protein, do đó nằm trong định nghĩa về polypeptit tham chiếu. Toàn bộ polypeptit đã tạo ra bằng cách cải biến như vậy là nằm trong bản mô tả. Thuật ngữ "biến đổi bảo toàn" cũng bao gồm việc sử dụng axit amin đã thế thay cho axit amin không được thế miễn là các kháng thể này tạo ra polypeptit đã thế cũng được phản ứng miễn dịch với polypeptit không được thế.

Thuật ngữ "epitop" dùng để chỉ vị trí trên kháng nguyên hoặc hapten mà tế bào B và/hoặc tế bào T đặc hiệu đáp ứng với nó. Thuật ngữ này cũng được sử dụng thay thế cho "yếu tố quyết định kháng nguyên" hoặc "vị trí quyết định kháng nguyên". Các kháng thể nhận biết cùng một epitop có thể được xác định trong thử nghiệm miễn dịch đơn giản chứng tỏ một kháng thể có khả năng phong bế khả năng gắn kết của kháng thể khác với kháng nguyên đích.

"Đáp ứng miễn dịch" với chế phẩm hoặc vaccin là diễn biến trong vật chủ của đáp ứng miễn dịch qua tế bào và/hoặc kháng thể khác với chế phẩm hoặc vaccin quan tâm. Thông thường, "đáp ứng miễn dịch" bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở một hoặc nhiều tác dụng sau: sản sinh kháng thể, tế bào B, tế bào hỗ trợ T, và/hoặc tế bào gây độc T, đặc biệt hướng tới kháng nguyên hoặc kháng nguyên nằm trong chế phẩm hoặc vaccin quan tâm. Tốt hơn, nếu vật chủ sẽ biểu hiện đáp ứng miễn dịch trị liệu hoặc bảo vệ sao cho tính kháng với việc nhiễm mới được gia tăng và/hoặc mức độ trầm trọng của bệnh trên lâm sàng được giảm xuống. Khả năng bảo vệ như vậy sẽ được chứng tỏ bởi việc giảm hoặc không có triệu chứng và/hoặc dấu hiệu bệnh trên lâm sàng được biểu hiện thông thường bởi vật chủ đã nhiễm virus, thời gian phục hồi nhanh hơn và/hoặc nồng độ virus giảm trong vật chủ đã nhiễm virus.

"Động vật" có nghĩa là động vật có vú, chim, và các loài tương tự. Động vật hoặc vật chủ được sử dụng trong bản mô tả bao gồm động vật có vú và người. Động vật có thể được chọn từ nhóm gồm giống ngựa (ví dụ, ngựa), giống chó (ví dụ, chó nhà, chó sói, cáo, chó sói đồng cỏ, chó rừng), giống mèo (ví dụ, sư tử, hổ, mèo nhà, mèo hoang, các loài mèo lớn khác, và các giống mèo khác bao gồm báo gêpa và linh miêu), giống cừu (ví dụ, cừu), giống bò (ví dụ, bò), giống lợn (ví dụ, lợn), loài chim (ví dụ, gà, vịt, ngỗng, gà tây, chim cút, gà lôi, vẹt, chim bảy màu finch, điều hâu, quạ, đà điểu châu Phi, đà điểu sa mạc Úc và đà điểu Úc đầu mèo), loài linh trưởng (ví dụ, bộ bán hầu, khỉ nhỏ culi, khỉ, vượn, khỉ không đuôi), chồn sương, chó biển, và cá. Thuật ngữ "động vật" cũng bao gồm các cá thể động vật ở tất cả các giai đoạn phát triển, bao gồm giai đoạn sơ

sinh, phôi và bào thai.

Trừ khi có chỉ dẫn khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học sử dụng trong bản mô tả có nghĩa tương đương như được hiểu thông thường bởi chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này mà bản mô tả bộc lộ. Các thuật ngữ số ít “một” bao gồm cả các từ số nhiều nếu không được chỉ ra một cách rõ ràng theo cách khác. Tương tự, từ “hoặc” được dự định bao hàm “và” nếu không được chỉ ra một cách rõ ràng theo cách khác.

Cần lưu ý rằng phần mô tả này và cụ thể là phần yêu cầu bảo hộ và/hoặc các đoạn, thuật ngữ như “bao gồm”, “được bao gồm”, “gồm” và các thuật ngữ tương tự có thể có nghĩa liên quan tới Luật Sáng chế Mỹ; ví dụ, chúng có thể có nghĩa “bao hàm”, “được bao hàm”, “kể cả”, và các thuật ngữ tương tự; và thuật ngữ như “về cơ bản cấu thành từ” và “về cơ bản được cấu thành từ” có nghĩa liên quan tới Luật Sáng chế Mỹ, ví dụ, chúng cho phép các yếu tố không được đề cập rõ ràng, nhưng các yếu tố loại trừ được tìm thấy trong tình trạng kỹ thuật đã biết hoặc có ảnh hưởng tới đặc tính cơ bản hoặc mới theo sáng chế.

Chế phẩm

Sáng chế đề xuất vacxin hoặc chế phẩm rotavirut có thể bao gồm polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất sinh miễn dịch rotavirut và chất mang, tá dược, hoặc chất dẫn thuốc được dụng hoặc dùng được trong thú y. Polypeptit, protein, kháng nguyên, epitop hoặc chất sinh miễn dịch rotavirucó thể là polypeptit, protein, kháng nguyên, epitop hoặc chất sinh miễn dịch rotavirut bất kỳ, như, nhưng không chỉ giới hạn ở protein, peptit hoặc mảnh của chúng, gây ra, cảm ứng hoặc gây bệnh thử nghiệm đáp ứng ở động vật.

Sáng chế đề xuất vacxin hoặc chế phẩm rotavirut có thể bao gồm polypeptit VP1, VP2, VP3, VP4, NSP1, VP6, NSP3, NSP2, VP7, NSP4, NSP5, hoặc NSP6 rotavirut và chất mang, tá dược, hoặc chất dẫn thuốc được dụng hoặc dùng được trong thú y. Theo một phương án, vector biểu hiện có thể còn bao gồm polynucleotit mã hóa polypeptit VP4, VP6, hoặc NSP4, hoặc dạng kết hợp của chúng. Theo phương án cụ thể, polynucleotit bao gồm trình tự như nêu trong SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, hoặc dạng kết hợp của chúng.

Theo phương án khác, chất mang, tá dược, hoặc chất dẫn thuốc được dụng hoặc dùng được trong thú y có thể là nhũ tương nước trong dầu. Vẫn theo phương án khác, nhũ tương nước trong dầu có thể là nhũ tương ba thành phần nước/dầu/nước (W/O/W).

Theo một phương án, polypeptit, kháng nguyên hoặc mảnh rotavirut hoặc biến thể của nó bao gồm polypeptit hoặc mảnh rotavirut hoặc biến thể của nó. Theo khía

cạnh của phương án này, polypeptit hoặc mảnh rotavirus hoặc biến thể của nó là polypeptit tái tổ hợp được tạo ra bởi gen rotavirus. Theo khía cạnh khác của phương án này, gen rotavirus có mức tương đồng trình tự ít nhất bằng 70% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO: 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, hoặc dạng kết hợp của chúng. Theo khía cạnh khác của phương án này, polypeptit rotavirus hoặc mảnh hoặc biến thể của nó có mức tương đồng trình tự ít nhất bằng 80% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO: 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, hoặc 71, trong đó polypeptit hoặc mảnh hoặc biến thể của nó có cùng vai trò chức năng (tức là polypeptit là polypeptit VP4, VP6, hoặc NSP4 rotavirus thuộc chủng khác của rotavirus nhóm C).

Các kháng nguyên tổng hợp cũng bao hàm trong định nghĩa này, ví dụ, polypeptit, epitop bên, và các kháng nguyên tái tổ hợp hoặc có nguồn gốc tổng hợp khác. Xem, ví dụ, Bergmann et al., 1993; Bergmann et al., 1996; Suhrbier, 1997; Gardner et al., 1998. Các mảnh sinh miễn dịch, nhằm mục đích theo sáng chế, thường chứa ít nhất khoảng 3 axit amin, ít nhất khoảng 5 axit amin, ít nhất khoảng 10-15 axit amin, hoặc khoảng 15-25 axit amin hoặc nhiều axit amin, của phân tử. Không có giới hạn trên tối hạn cho chiều dài của mảnh, có thể bao gồm chiều dài gần như đầy đủ của trình tự protein, hoặc thậm chí protein dung hợp bao gồm ít nhất một epitop của protein.

Do đó, cấu trúc tối thiểu củapolynucleotit biểu hiện epitop bao gồm hoặc về cơ bản được cấu thành từ hoặc cấu thành từ các nucleotit mã hóa epitop hoặc yếu tố quyết định kháng nguyên của polypeptit rotavirus. Polynucleotit mã hóa mảnh polypeptit rotavirus có thể bao gồm hoặc về cơ bản cấu thành từ hoặc cấu thành từ tối thiểu 15 nucleotit, khoảng 30-45 nucleotit, khoảng 45-75, hoặc ít nhất 57, 87 hoặc 150 nucleotit liên tiếp hoặc liền kề của trình tự mã hóa polypeptit. Quá trình xác định epitop, như, thư viện peptit trùng khớp tái tạo (Hemmer et al., 1998), Pepscan (Geysen et al., 1984; Geysen et al., 1985; Van der Zee R. et al., 1989; Geysen, 1990; Multipin.RTM. Peptide Synthesis Kits de Chiron) và các thuật toán (De Groot et al., 1999; PCT/US2004/022605) có thể được sử dụng theo sáng chế.

Thuật ngữ “axit nucleic” và “polynucleotit” dùng để chỉ ARN hoặc ADN là mạch thẳng hoặc mạch nhánh, sợi đơn hoặc kép, hoặc dạng lai của chúng. Thuật ngữ này cũng bao gồm cả các dạng lai ARN/ADN. Ví dụ không hạn chế dưới đây về polynucleotit: gen hoặc mảnh gen, exon, intron, mARN, tRNA, rRNA, ribozym, cADN, polynucleotit tái tổ hợp, polynucleotit mạch nhánh, plasmit, vectơ, ADN phân lập của trình tự bất kỳ, ARN phân lập của trình tự bất kỳ, đoạn dò và đoạn môi axit nucleic.

Polynucleotit có thể bao gồm nucleotit cải biến, như nucleotit được metyl hóa và các gen tương tự nucleotit, uraxyl, các đường khác và các nhóm liên kết như flororiboza và thiolat, và các nhánh nucleotit. Trình tự nucleotit có thể còn được cải biến sau khi polyme hoá, như bằng cách tiếp hợp, với thành phần đánh dấu. Các loại cải biến khác bao hàm trong định nghĩa này là dạng mũ, thể một hoặc nhiều nucleotit xuất hiện trong tự nhiên bằng gen tương tự, và đưa ra các phương pháp gắn kết polynucleotit với protein, ion kim loại, thành phần đánh dấu, polynucleotit hoặc chất mang rắn khác. Polynucleotit có thể thu được bằng cách tổng hợp hóa học hoặc có nguồn gốc từ vi sinh vật.

Thuật ngữ “gen” được sử dụng rộng rãi để chỉ phân đoạn bất kỳ của polynucleotit liên quan tới chức năng sinh học. Do đó, các gen bao gồm intron và exon như trong trình tự bộ gen, hoặc chỉ là các trình tự mã hóa như trong cADN và/hoặc trình tự điều hòa cần để biểu hiện. Ví dụ, gen cũng dùng để chỉ mảnh axit nucleic biểu hiện mRNA hoặc ARN chức năng, hoặc mã hóa protein đặc hiệu, và bao hàm cả trình tự điều hòa.

Sáng chế còn bao gồm sợi bổ sung cho polynucleotit mã hóa kháng nguyên, epitop hoặc chất sinh miễn dịch rotavirut. Sợi bổ sung này có thể là polyme và có chiều dài bất kỳ, và có thể chứa deoxyribonucleotit, ribonucleotit, và các gen tương tự ở dạng kết hợp bất kỳ.

Thành phần sinh học “được phân lập” (như axit nucleic hoặc protein hoặc bào quan) dùng để chỉ thành phần về cơ bản được tách riêng hoặc tinh chế ra khỏi các thành phần sinh học khác trong tế bào của vi sinh vật trong đó thành phần xuất hiện trong tự nhiên, chẳng hạn, ADN và ARN nhiễm sắc thể và ngoài nhiễm sắc thể, protein, và bào quan khác. Axit nucleic và protein đã “được phân lập” bao gồm axit nucleic và protein được tinh chế bằng các phương pháp tinh chế tiêu chuẩn. Thuật ngữ này cũng bao gồm axit nucleic và protein đã được điều chế bằng kỹ thuật tái tổ hợp cũng như tổng hợp hóa học.

Thuật ngữ “tinh chế” được sử dụng trong bản mô tả không yêu cầu độ tinh khiết tuyệt đối; tốt hơn là dự định được dùng là thuật ngữ tương đối. Do đó, ví dụ, chế phẩm polypeptit tinh chế một phần là chế phẩm trong đó polypeptit được làm giàu hơn so với polypeptit ở trong môi trường tự nhiên của nó. Đây là polypeptit được tách riêng từ các thành phần tế bào. “Về cơ bản được tinh chế” có nghĩa là ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 80%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 98%, hoặc nhiều thành phần hoặc vật liệu tế bào đã được loại bỏ. Tương tự, polypeptit có thể tinh chế một phần. “Tinh chế một phần” có nghĩa là ít hơn 60% thành phần hoặc vật liệu tế bào đã được loại bỏ.

Thuật ngữ này cũng được áp dụng cho polynucleotit. Polypeptit nêu trong bản mô tả có thể được tinh chế bằng cách bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Hơn nữa, các gen tương đồng của polypeptit rotavirus được dự định cũng nằm trong phạm vi của sáng chế. Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ “gen tương đồng” bao gồm gen trực giao, gen tương tự và gen đẳng giao. Thuật ngữ “gen tương tự” dùng để chỉ hai polynucleotit hoặc polypeptit có cùng một chức năng hoặc có chức năng tương tự, nhưng có nguồn gốc riêng rẽ từ các vi sinh vật không liên quan. Thuật ngữ “gen trực giao” dùng để chỉ hai polynucleotit hoặc polypeptit từ các loài khác nhau, nhưng có nguồn gốc từ gen gốc thông thường bằng cách hình thành loài. Thông thường, gen trực giao mã hóa polypeptit có cùng chức năng hoặc có chức năng tương tự. Thuật ngữ “gen đẳng giao” dùng để chỉ hai polynucleotit hoặc polypeptit có liên quan với nhau bằng cách nhân đôi trong bộ gen. Gen đẳng giao thường có các chức năng khác nhau, nhưng các chức năng này có thể liên quan đến nhau. Ví dụ, các gen tương tự, gen trực giao, và gen đẳng giao của polypeptit rotavirus kiểu hoang có thể khác so với polypeptit rotavirus kiểu hoang bằng cách cải biến sau dịch mã, bởi sự khác nhau về trình tự axit amin, hoặc bằng cả hai cách. Cụ thể, các gen tương đồng theo sáng chế thường có mức tương đồng trình tự ít nhất nằm trong khoảng từ 80% đến 85%, nằm trong khoảng từ 85% đến 90%, nằm trong khoảng từ 90% đến 95%, hoặc bằng 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, so với toàn bộ hoặc một phần của trình tự polypeptit hoặc polynucleotit rotavirus kiểu hoang, và có chức năng tương tự.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập tới polypeptit có mức tương đồng trình tự bằng ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO: 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, hoặc 71. Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề cập tới các mảnh và biến thể của polypeptit rotavirus như được xác định nêu trên (SEQ ID NO:17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, hoặc 71), có thể được điều chế một cách dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này bằng cách sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử đã biết.

Các biến thể là polypeptit tương đồng có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất bằng 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự axit amin như đã nêu trong SEQ ID NO:17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, hoặc 71.

Các biến thể bao gồm các biến thể alen. Thuật ngữ "biến thể alen" dùng để chỉ polynucleotit hoặc polypeptit chứa các dạng đa hình, làm thay đổi trình tự axit amin của

protein và tồn tại trong quần thể tự nhiên (ví dụ, loài hoặc thứ của virut). Các dạng biến đổi alen tự nhiên như vậy có thể thường làm biến đổi 1-5% trong polynucleotit hoặc polypeptit. Các biến thể alen có thể được xác định bằng cách tạo trình tự axit nucleic quan tâm ở nhiều loài khác nhau, có thể được thực hiện một cách dễ dàng bằng cách sử dụng đoạn dò lai hóa để xác định locut di truyền của cùng một gen trong các loài này. Các dạng biến đổi axit nucleic bất kỳ và toàn bộ các dạng biến đổi axit nucleic như vậy và các dạng đa hình hoặc biến đổi axit amin thu được là kết quả của quá trình biến đổi alen tự nhiên và không làm thay đổi hoạt tính chức năng của gen quan tâm, được dự định nằm trong phạm vi của sáng chế.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "dẫn xuất" hoặc "biến thể" dùng để chỉ polypeptit, hoặc axit nucleic mã hóa polypeptit, có một hoặc nhiều dạng biến đổi axit amin bảo toàn hoặc các cải biến không đáng kể khác sao cho (1) polypeptit tương ứng về cơ bản có chức năng tương đương so với polypeptit kiểu hoang hoặc (2) kháng thể được tạo ra để kháng polypeptit, phản ứng miễn dịch với polypeptit kiểu hoang. Các biến thể hoặc dẫn xuất này bao gồm polypeptit có các cải biến không đáng kể của trình tự axit amin sơ cấp của polypeptit rotavirut, từ đó tạo ra các peptit về cơ bản có hoạt tính tương đương so với polypeptit đối chiếu không được cải biến. Các cải biến như vậy có thể được tính toán cẩn thận, như bằng cách tạo đột biến trực tiếp tại vị trí, hoặc có thể diễn ra tự phát. Thuật ngữ "biến thể" còn bao hàm đoạn khuyết, đoạn bổ sung và đoạn thể vào trình tự, với điều kiện các chức năng polypeptit để tạo ra đáp ứng miễn dịch như được xác định trong bản mô tả.

Thuật ngữ "biến đổi bảo toàn" dùng để chỉ việc thế gốc axit amin bằng gốc sinh học tương tự khác, hoặc việc thế nucleotit trong trình tự axit nucleic sao cho gốc axit amin đã mã hóa không bị biến đổi hoặc là gốc sinh học tương tự khác. Về vấn đề này, cụ thể là các đoạn thể thường được bảo toàn trong tự nhiên, như đã nêu trên.

Mảnh sinh miễn dịch của polypeptit rotavirut bao gồm ít nhất 8, 10, 13, 14, 15, hoặc 20 axit amin liên tiếp, ít nhất 21 axit amin, ít nhất 23 axit amin, ít nhất 25 axit amin, hoặc ít nhất 30 axit amin của polypeptit rotavirut có trình tự như nêu trong SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, hoặc các biến thể hoặc các mảnh chức năng của nó.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập tới polynucleotit mã hóa polypeptit rotavirut, như polynucleotit mã hóa polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO:16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, hoặc các biến thể hoặc các mảnh chức năng của nó. Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề cập tới polynucleotit mã hóa polypeptit có mức tương đồng trình

tự bằng ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO: 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, hoặc biến thể bảo toàn, biến thể alen, gen tương đồng hoặc mảnh sinh miễn dịch bao gồm ít nhất tám hoặc ít nhất mười axit amin liên tiếp của một trong số các polypeptit này, hoặc dạng kết hợp của các polypeptit này.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập tới polynucleotit có trình tự nucleotit như đã nêu trong SEQ ID NO: 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, hoặc 71, hoặc biến thể hoặc mảnh chức năng của chúng. Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề cập tới polynucleotit có mức tương đồng trình tự bằng ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với polynucleotit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO: 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, hoặc 71, hoặc biến thể của nó.

Polynucleotit theo sáng chế bao gồm trình tự thoái biến là kết quả của mã di truyền, ví dụ, sử dụng codon tối ưu cho vật chủ đặc trưng. Như được sử dụng trong bản mô tả, “tối ưu” dùng để chỉ polynucleotit được tạo ra bằng cách di truyền để làm tăng mức biểu hiện của nó trong các loài đã định. Để tạo ra quá trình mã hóa polynucleotit tối ưu cho polypeptit rotavirus, trình tự ADN của gen rotavirus có thể được cải biến thành 1) bao gồm các codon được ưu tiên bởi các gen biểu hiện ở mức cao trong hệ biểu hiện tế bào vật chủ cụ thể (ví dụ, tế bào vật chủ của vi khuẩn); 2) bao gồm thành phần A+T hoặc G+C trong chế phẩm bazơ nucleotit sao cho về cơ bản được tìm thấy ở tế bào vật chủ này; 3) tạo ra quá trình khởi đầu trình tự của tế bào vật chủ này; hoặc 4) loại trừ các trình tự gây ra quá trình làm mất ổn định, thoái biến và kết thúc ARN, hoặc tạo ra vòng gấp kẹp tóc có cấu trúc bậc hai. Mức biểu hiện gia tăng của protein rotavirus trong hệ biểu hiện tế bào vật chủ này có thể thu được bằng cách sử dụng tần số phân bố của codon sử dụng trong sinh vật chưa có nhân điển hình.

Mức tương đồng trình tự giữa hai trình tự axit amin có thể được thiết lập bởi blast sóng đôi NCBI (Trung tâm quốc gia về thông tin sinh học - National Center for Biotechnology Information) và ma trận blosum62, bằng cách sử dụng các thông số tiêu chuẩn (xem, ví dụ, thuật toán BLAST hoặc BLASTX có sẵn trên máy chủ "National Center for Biotechnology Information" (NCBI, Bethesda, Md., USA), cũng như trong Altschul *et al.*; và do đó, tài liệu này sử dụng thuật toán hoặc ma trận BLAST hoặc BLASTX và BLOSUM62 bởi thuật ngữ “blast”).

“Mức tương đồng” cho các trình tự có thể dùng để chỉ số vị trí có nucleotit hoặc

axit amin giống nhau được chia cho số nucleotit hoặc axit amin trong trình tự ngắn hơn trong số hai trình tự trong đó sự sắp hàng của hai trình tự có thể được xác định theo thuật toán Wilbur và Lipman (Wilbur và Lipman), chẳng hạn, bằng cách sử dụng kích cỡ cửa sổ là 20 nucleotit, chiều dài từ là 4 nucleotit, và khe nhỏ bằng 4, và phân tích có sự hỗ trợ của máy tính và thể hiện dữ liệu trình tự bao gồm sự sắp hàng có thể được thực hiện thông thường bằng cách sử dụng các chương trình có sẵn trên thị trường (ví dụ, Intelligenetics™ Suite, Intelligenetics Inc. CA). Khi trình tự ARN được coi là tương tự, hoặc có mức tương đồng trình tự hoặc mức tương đồng gen với trình tự ADN, thymidin (T) trong trình tự ADN được xem là tương đương với uraxil (U) trong trình tự ARN này. Do đó, trình tự ARN là nằm trong phạm vi của sáng chế và có thể có nguồn gốc từ trình tự ADN, bởi thymidin (T) trong trình tự ADN được coi là tương đương với uraxil (U) trong trình tự ARN.

Mức tương đồng trình tự hoặc mức tương tự trình tự của hai trình tự axit amin, hoặc mức tương đồng trình tự giữa hai trình tự nucleotit có thể được xác định bằng cách sử dụng gói phần mềm Vector NTI (Invitrogen, 1600 Faraday Ave., Carlsbad, CA).

Các tài liệu dưới đây đưa ra các thuật toán để so sánh mức tương đồng hoặc giống nhau tương đối của các trình tự, và ngoài ra hoặc theo cách khác so với các cách đã nêu trên, việc bộc lộ trong các tài liệu này có thể được sử dụng để xác định tỷ lệ tương đồng hoặc tương tự: Needleman SB và Wunsch CD; Smith TF và Waterman MS; Smith TF, Waterman MS và Sadler JR; Feng DF và Dolittle RF; Higgins DG và Sharp PM; Thompson JD, Higgins DG và Gibson TJ; và, Devereux J, Haeberlie P và Smithies O. Cũng như vậy, mà không cần thử nghiệm quá mức, chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể tham khảo nhiều chương trình hoặc tài liệu viện dẫn khác để xác định tỷ lệ tương đồng.

Các phản ứng lai hóa có thể được thực hiện trong các điều kiện “nghiêm ngặt” khác nhau. Các điều kiện làm tăng cường tính nghiêm ngặt của phản ứng lai hóa là đã biết. Xem ví dụ, “Molecular Cloning: A Laboratory Manual”, second edition (Sambrook et al., 1989).

Sáng chế còn bao gồm polynucleotit rotavirut chứa trong phần tử vector hoặc vector biểu hiện và được liên kết điều khiển với yếu tố khởi đầu và thường liên kết điều khiển với yếu tố tăng cường.

“Vecto” dùng để chỉ plasmit hoặc virut chứa ADN hoặc ARN tái tổ hợp bao gồm polynucleotit khác loại được đưa tới tế bào đích, ở *in vitro* hoặc *in vivo*. Polynucleotit khác loại có thể bao gồm trình tự quan tâm nhằm mục đích phòng ngừa hoặc trị liệu, và tùy ý có thể ở dạng catxet biểu hiện. Như được sử dụng trong bản mô

tả, vector không cần có khả năng sao chép trong tế bào đích hoặc đối tượng cuối cùng. Thuật ngữ này bao hàm cả vector tạo dòng và vector virus.

Thuật ngữ “tái tổ hợp” có nghĩa là polynucleotit có nguồn gốc bán tổng hợp, hoặc tổng hợp, không có trong tự nhiên hoặc được liên kết với polynucleotit khác với cách sắp xếp không tìm thấy được trong tự nhiên.

“Khác loại” có nghĩa là có nguồn gốc từ thực thể khác biệt về mặt di truyền so với phần thực thể mà nó cần được so sánh. Ví dụ, bằng kỹ thuật công nghệ gen, polynucleotit có thể được đưa vào plasmit hoặc vector có nguồn gốc từ nguồn khác nhau, và là polynucleotit khác loại. Gen khởi đầu được loại ra khỏi trình tự mã hóa tự nhiên của nó và được liên kết điều khiển với trình tự mã hóa khác so với trình tự tự nhiên, là gen khởi đầu khác loại.

Polynucleotit theo sáng chế có thể bao gồm các trình tự bổ sung, như trình tự mã hóa bổ sung nằm trong cùng đơn vị phiên mã, các yếu tố kiểm soát như gen khởi đầu, vị trí gắn kết ribosom, 5'UTR, 3'UTR, gen kết thúc phiên mã, vị trí polyadenyl hóa, đơn vị phiên mã bổ sung trong quá trình kiểm soát cùng một gen khởi đầu hoặc gen khởi đầu khác nhau, các trình tự cho phép tạo dòng, biểu hiện, tái tổ hợp tương đồng, và biến nạp tế bào vật chủ, và cấu trúc bất kỳ như vậy là có thể mong muốn để tạo ra các phương án theo sáng chế.

Các yếu tố để biểu hiện polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất sinh miễn dịch rotavirus là có mặt theo cách có lợi trong vector theo sáng chế. Theo cách tối thiểu, nó bao gồm codon khởi đầu (ATG), codon kết thúc và gen khởi đầu, và tùy ý cũng bao gồm trình tự polyadenyl hóa cho một số vector nhất định như plasmit và một số vector virus nhất định, ví dụ, vector virus không phải poxvirus. Khi polynucleotit mã hóa mảnh polypeptit, ví dụ, polypeptit rotavirus, theo cách có lợi, trong vector ATG ở đầu 5' của khung đọc và codon kết thúc ở đầu 3'. Các yếu tố khác để kiểm soát sự biểu hiện có thể có mặt, như yếu tố tăng cường trình tự, ổn định trình tự, như intron và trình tự báo hiệu cho phép tiết protein.

Sáng chế cũng đề cập đến các chế phẩm chứa vector, như vector biểu hiện, ví dụ, chế phẩm điều trị. Các chế phẩm này có thể bao gồm một hoặc nhiều vector, ví dụ, vector biểu hiện, như vector biểu hiện *in vivo*, bao gồm và biểu hiện một hoặc nhiều polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất sinh miễn dịch rotavirus. Theo một phương án, vector chứa và biểu hiện polynucleotit bao gồm polynucleotit mã hóa và/hoặc biểu hiện kháng nguyên, epitop hoặc chất sinh miễn dịch rotavirus, trong chất mang, tá dược hoặc chất dẫn thuốc được dụng hoặc dùng được trong thú y. Do đó, theo phương án của sáng chế, các vector khác trong chế phẩm này bao gồm, về cơ bản được cấu thành từ hoặc cấu

thành từ polynucleotit mã hóa, và trong các trường hợp thích hợp, vector biểu hiện một hoặc nhiều protein khác của polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất sinh miễn dịch rotavirut (ví dụ, hemagglutinin, capsit, neuraminidaza, nucleoprotein, protein không có cấu trúc, độc tố trong ruột) hoặc mảnh của chúng.

Theo phương án khác, vector hoặc các vector trong chế phẩm bao gồm, hoặc về cơ bản cấu thành từ, hoặc cấu thành từ polynucleotit mã hóa một hoặc nhiều protein hoặc mảnh polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất sinh miễn dịch rotavirut. Theo phương án khác, chế phẩm bao gồm một, hai, hoặc nhiều vector bao gồm polynucleotit mã hóa và biểu hiện, có lợi ở *in vivo*, polypeptit, kháng nguyên, protein dung hợp hoặc epitop rotavirut của chúng. Sáng chế cũng đề cập tới hỗn hợp vector bao gồm polynucleotit mã hóa và biểu hiện các polypeptit, kháng nguyên, epitop, protein dung hợp, hoặc chất sinh miễn dịch rotavirut khác nhau, ví dụ, polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất sinh miễn dịch rotavirut từ các loài khác nhau như, nhưng không chỉ giới hạn ở, người, lợn, bò hoặc ngựa, chó, mèo, và loài chim.

Theo phương án khác nữa, vector biểu hiện là vector plasmit, cụ thể là vector biểu hiện *in vivo*. Theo ví dụ cụ thể, không giới hạn, plasmit pVR1020 hoặc 1012 (VICAL Inc.; Luke et al., 1997; Hartikka et al., 1996, xem, ví dụ, Patent Mỹ số 5,846,946 và 6,451,769) có thể được sử dụng làm vector để cài xen trình tự polynucleotit. Plasmit pVR1020 có nguồn gốc từ pVR1012 và chứa trình tự báo hiệu tPA của người. Theo một phương án, trình tự báo hiệu tPA của người bao gồm trình tự từ axit amin M(1) đến axit amin S(23) trong Ngân hàng gen với số truy nhập HUMTPA14. Trong ví dụ cụ thể, không hạn chế khác, plasmit được sử dụng làm vector để cài xen trình tự polynucleotit có thể chứa trình tự peptit báo hiệu của IGF1 của ngựa từ axit amin M(24) đến axit amin A(48) trong Ngân hàng gen với số truy nhập U28070. Thông tin bổ sung trên plasmit ADN có thể được tham khảo hoặc ứng dụng trong sáng chế, được tìm thấy, ví dụ, trong các Patent Mỹ số 6,852,705; 6,818,628; 6,586,412; 6,576,243; 6,558,674; 6,464,984; 6,451,770; 6,376,473 và 6,221,362.

Thuật ngữ plasmit bao hàm đơn vị phiên mã ADN bao gồm polynucleotit theo sáng chế và các yếu tố cần cho sự biểu hiện *in vivo* của nó trong tế bào của vật chủ hoặc đích mong muốn; và, về vấn đề này, cần lưu ý rằng plasmit siêu xoắn hoặc không siêu xoắn, vòng, cũng như dạng thẳng, được dự định nằm trong phạm vi của sáng chế.

Mỗi plasmit bao gồm hoặc chứa hoặc về cơ bản được cấu thành từ, ngoài polynucleotit mã hóa polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất sinh miễn dịch rotavirut, tùy ý được dung hợp với trình tự, biến thể, gen tương tự hoặc mảnh peptit khác loại, được liên kết điều khiển với gen khởi đầu hoặc trong quá trình kiểm soát gen

khởi đầu hoặc tùy thuộc vào gen khởi đầu. Nói chung, có lợi nếu dùng nhóm chức gen khởi đầu bền vững trong tế bào có nhân điển hình. Gen khởi đầu bền vững có thể, nhưng không chỉ giới hạn ở, gen khởi đầu xytomegalovirut (CMV-IE) trung gian ở giai đoạn sớm của người hoặc có nguồn gốc từ loài gặm nhấm, hoặc tùy ý có nguồn gốc khác như chuột hoặc chuột lang.

Trong các thuật ngữ chung, gen khởi đầu có nguồn gốc virut, hoặc tế bào. Gen khởi đầu bền vững của virut không phải CMV-IE có thể được ứng dụng hữu ích trong sáng chế là gen khởi đầu sớm/muộn của virut SV40 hoặc gen khởi đầu LTR của virut Rous sarcoma. Gen khởi đầu bền vững của tế bào có thể được ứng dụng hữu ích trong sáng chế là gen khởi đầu của gen của khung tế bào, ví dụ, như gen khởi đầu desphút (Kwissa et al., 2000), hoặc gen khởi đầu actin (Miyazaki et al., 1989).

Gen báo hiệu polyadenyl (polyA) cho các plasmit và vector virut không phải poxvirut, việc sử dụng có thể được thực hiện từ gen báo hiệu poly(A) của gen hormon tăng trưởng của bò (bGH) (xem U.S. 5,122,458), hoặc gen báo hiệu poly(A) của gen β -globin thỏ hoặc gen báo hiệu poly(A) của virut SV40.

“Tế bào vật chủ” dùng để chỉ tế bào chưa có nhân điển hình hoặc có nhân điển hình được biến đổi di truyền, hoặc có khả năng biến đổi di truyền bằng cách dùng polynucleotit ngoại sinh, như plasmit hoặc vector tái tổ hợp. Khi đề cập tới tế bào biến đổi di truyền, thì thuật ngữ này dùng để chỉ cả tế bào thay đổi về nguồn gốc và thế hệ con cháu của chúng.

Phương pháp sử dụng và vật phẩm sản xuất

Sáng chế bao gồm các phương án về phương pháp dưới đây. Theo một phương án, sáng chế mô tả phương pháp chủng ngừa cho động vật bao gồm bước dùng chế phẩm chứa vector bao gồm polypeptit rotavirut hoặc mảnh hoặc biến thể của nó và chất mang, tá dược, hoặc chất dẫn thuốc được dùng hoặc dùng được trong thú y cho động vật. Theo một khía cạnh của phương án này, động vật là lợn.

Theo một phương án của sáng chế, phác đồ dùng liều gia cường có thể được áp dụng, bao gồm ít nhất một liều dùng chủ yếu và ít nhất một liều dùng tăng cường bằng cách sử dụng ít nhất một polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất sinh miễn dịch thông thường. Thông thường, chế phẩm miễn dịch hoặc vaccin sử dụng trong liều dùng chủ yếu là khác về bản chất so với chế phẩm miễn dịch hoặc vaccin sử dụng ở liều dùng tăng cường. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng cùng một loại chế phẩm có thể được sử dụng làm liều dùng chủ yếu và liều dùng tăng cường. Tiến trình dùng liều này được gọi là “chủ yếu-tăng cường”.

Phác đồ dùng liều gia cường bao gồm ít nhất một liều dùng chủ yếu và ít nhất

một liều dùng tăng cường bằng cách sử dụng ít nhất một polypeptit thông thường và/hoặc các biến thể hoặc mảnh của nó. Vacxin sử dụng trong liều dùng chủ yếu có thể khác về bản chất so với vacxin sử dụng làm vacxin tăng cường sau. Liều dùng chủ yếu có thể bao gồm một hoặc nhiều liều dùng. Tương tự, liều dùng tăng cường có thể bao gồm một hoặc nhiều liều dùng.

Thể tích liều của chế phẩm cho các loài đích là động vật có vú, ví dụ, thể tích liều của chế phẩm dùng cho giống lợn hoặc lợn, dựa trên vector virus, ví dụ, chế phẩm dựa trên vector virus không phải poxvirus, thường nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2,0 ml, nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1,0 ml, và nằm trong khoảng từ 0,5 ml đến 1,0 ml.

Hiệu lực của vacxin có thể được thử nghiệm trong khoảng từ 2 đến 4 tuần sau khi tạo miễn dịch cuối cùng bằng cách gây bệnh thử nghiệm động vật, như lợn, bằng chủng của rotavirus. Chủng tương đồng lẫn chủng khác loại được sử dụng để gây bệnh thử nghiệm nhằm thử nghiệm hiệu lực của vacxin. Động vật có thể được gây bệnh thử nghiệm bằng cách tiêm IM hoặc SC, phun xịt, trong mũi, trong mắt, nội khí quản, và/hoặc đường miệng. Virus gây bệnh thử nghiệm có thể có mức tương đồng bộ gen bằng khoảng 10^{5-8} EID₅₀, TCID₅₀ hoặc 10^{3-8} như được xác định bằng cách qPCR theo thể tích phụ thuộc vào đường dùng. Ví dụ, nếu đường dùng là bằng cách phun xịt, huyền phù chứa virus được tạo sol khí để tạo ra các giọt có kích cỡ nằm trong khoảng 1 đến 100 µm, nếu đường dùng là đường trong mũi, nội khí quản hoặc đường miệng, thì thể tích của virus gây bệnh thử nghiệm lần lượt bằng khoảng 0,5 ml, 1-2 ml, và 5-10 ml. Các động vật có thể được quan sát hàng ngày trong 14 ngày sau khi gây bệnh thử nghiệm cho các dấu hiệu lâm sàng, ví dụ, mất nước, tiêu chảy, phân từ sền sệt đến lỏng, tử vong, và/hoặc giảm cân, chậm lớn, giải phóng virus. Ngoài ra, các nhóm động vật có thể đem giết và được đánh giá để tìm nguồn gây bệnh như bệnh đường ruột, chứng rụng lông. Ruột già hoặc phân có thể được thu gom từ tất cả các động vật sau khi gây bệnh thử nghiệm để phân lập hoặc định lượng, hoặc loại bỏ virus. Sự có mặt hoặc vắng mặt của kháng nguyên virus trong các mô ruột hoặc phân có thể được đánh giá bằng phản ứng định lượng mạch transcriptaza polymeraza đạo theo thời gian thực (qRT-PCR). Các mẫu máu có thể được thu gom trước và sau khi gây bệnh thử nghiệm và có thể được phân tích về sự có mặt của kháng thể đặc hiệu rotavirus khác.

Các chế phẩm bao gồm polypeptit tái tổ hợp kháng nguyên theo sáng chế sử dụng trong liệu trình chủ yếu-tăng cường được chứa trong chất dẫn thuốc, chất pha loãng hoặc tá dược được dùng hoặc dùng trong thú y. Các liệu trình theo sáng chế bảo vệ động vật khỏi tiến triển bệnh do rotavirus và/hoặc ngăn ngừa bệnh ở động vật đã nhiễm.

Tốt hơn nếu các liều dùng khác nhau được tiến hành riêng rẽ trong thời gian từ 1 đến 6 tuần. Tốt hơn, nếu khoảng thời gian nằm trong khoảng từ 3 đến 5 tuần, và tối ưu là 4 tuần. Theo một phương án, liều tăng cường hàng năm cũng có thể bao gồm. Động vật, ví dụ, lợn, có thể ít nhất 8 tuần tuổi ở thời điểm liều dùng đầu tiên.

Cần hiểu rằng người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này được tạo ra bằng cách ví dụ và sáng chế không bị giới hạn bởi các ví dụ này. Từ phần bộc lộ dưới đây và kiến thức đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể xác định được số lần dùng, đường dùng, và liều cần dùng với mỗi liệu trình tiêm, mà không cần bất kỳ thử nghiệm quá mức nào.

Sáng chế bao hàm ít nhất một lần dùng cho động vật với lượng hữu hiệu của chế phẩm điều trị theo sáng chế. Ví dụ, lượng hữu hiệu có thể nằm trong khoảng từ 10 μ g đến 300 μ g protein. Theo một phương án, khoảng 100 μ g của mỗi protein trong số ba protein rotavirus nhóm C khác nhau có mặt trong lượng hữu hiệu của chế phẩm điều trị. Động vật có thể con đực, con cái, con cái mang thai và con mới sinh. Việc dùng này có thể thông qua các đường khác nhau bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tiêm trong cơ (IM), trong da (ID), trong màng bụng (IP) hoặc dưới da (SC) hoặc qua mũi hoặc đường miệng. Chế phẩm điều trị theo sáng chế cũng có thể được dùng bằng các thiết bị không cần kim tiêm (ví dụ, tạo nhịp không cần kim tiêm Pulse Needle Free, Pulse Needlefree, Lenexa, KS, USA, Pigjet, Dermojet, Biojector, Avijet (Merial, GA, USA), thiết bị Vetjet hoặc Vitajet (Bioject, Oregon, USA)). Phương pháp khác để dùng chế phẩm plasmid là cần sử dụng xung điện (xem, ví dụ Tollefsen et al., 2002; Tollefsen et al., 2003; Babiuk et al., 2002; PCT Application No. WO99/01158). Theo phương án khác, chế phẩm điều trị được phân phối cho động vật bằng súng bắn gen hoặc bắn hạt vàng. Theo phương án có lợi, động vật là lợn, chó nhà, chồn sương hoặc hải cẩu.

Phương án khác theo sáng chế đề xuất kit để tiến hành phương pháp gây ra hoặc cảm ứng đáp ứng miễn dịch hoặc đáp ứng bảo vệ kháng rotavirus ở động vật bao gồm chế phẩm miễn dịch hoặc vaccin tiểu phần rotavirus và hướng dẫn sử dụng để tiến hành phương pháp phân phối lượng hữu hiệu để gây ra đáp ứng miễn dịch ở động vật.

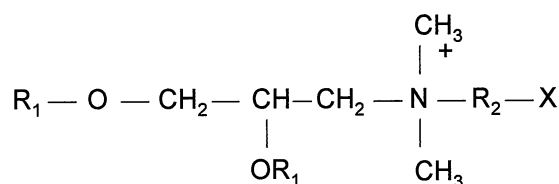
Phương án khác theo sáng chế là đề xuất kit để tiến hành phương pháp cảm ứng đáp ứng miễn dịch hoặc đáp ứng bảo vệ kháng rotavirus ở động vật bao gồm chế phẩm hoặc vaccin bao gồm polypeptit hoặc kháng nguyên rotavirus theo sáng chế, và hướng dẫn sử dụng để tiến hành phương pháp phân phối lượng hữu hiệu để gây ra đáp ứng miễn dịch ở động vật.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất kit để chủng ngừa liều chủ yếu-tăng cường theo sáng chế như đã nêu trên. Kit này có thể bao gồm ít nhất hai lọ nhỏ: lọ thứ

nhất chứa vacxin hoặc chế phẩm để chủng ngừa liều chủ yếu theo sáng chế, và lọ thứ hai chứa vacxin hoặc chế phẩm để chủng ngừa liều tăng cường theo sáng chế. Có lợi nếu kit này có thể chứa lọ nhỏ thứ nhất hoặc lọ nhỏ thứ hai bổ sung để chủng ngừa liều chủ yếu bổ sung hoặc chủng ngừa liều tăng cường bổ sung.

Chất mang hoặc chất dẫn thuốc hoặc tá dược được dụng hoặc dùng được trong thú y là đã biết cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, chất mang hoặc chất dẫn thuốc hoặc tá dược được dụng hoặc dùng được trong thú y có thể là dung dịch NaCl 0,9% (ví dụ, nước muối) hoặc đệm phosphat. Chất mang hoặc chất dẫn thuốc hoặc tá dược được dụng hoặc dùng được trong thú y khác có thể được sử dụng cho các phương pháp theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, poly-(L-glutamat) hoặc polyvinylpyrrolidon. Các chất mang hoặc chất dẫn thuốc hoặc tá dược được dụng hoặc dùng được trong thú y có thể là hợp chất bất kỳ hoặc kết hợp các hợp chất để thuận tiện cho việc dùng vector (hoặc protein được biểu hiện từ vector *in vitro* theo sáng chế); có lợi nếu chất mang, chất dẫn thuốc hoặc tá dược có thể dễ chuyển nhiễm và/hoặc cải thiện quá trình bảo quản vector (hoặc protein). Liều dùng và thể tích của liều dùng được nêu trong bản mô tả và cũng có thể được xác định bằng chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này từ phần bộc lộ này kết hợp với kiến thức trong lĩnh vực kỹ thuật này, và không cần bất kỳ thử nghiệm quá mức nào.

Các lipid cation chứa muối amoni bậc bốn là có lợi nếu không thích hợp theo cách loại trừ cho các plasmit, có lợi nếu chúng có công thức sau:



trong đó R₁ là gốc béo bão hoà hoặc không bão hòa có từ 12 đến 18 nguyên tử cacbon, R₂ là gốc béo khác chứa 2 hoặc 3 nguyên tử cacbon và X là nhóm amin hoặc hydroxyl, ví dụ, DMRIE. Theo phương án khác, lipid cation có thể liên quan tới lipid trung tính, ví dụ, DOPE.

Trong số các lipid cation này, lipid cation minh họa là DMRIE (N-(2-hydroxyethyl)-N,N-dimethyl-2,3-bis(tetradexyloxy)-1-propan amoni; WO96/34109), có lợi nếu liên quan tới lipid trung tính, có lợi nếu DOPE (dioleoyl-phosphatidyl-etanol amin; Behr, 1994), để tạo ra DMRIE-DOPE.

Khi DOPE có mặt, có lợi nếu tỷ lệ mol DMRIE:DOPE nằm trong khoảng từ 95:5 đến 5:95, có lợi hơn nếu bằng khoảng 1:1, ví dụ, 1:1.

Theo phương án khác, chất mang, tá dược, hoặc chất dẫn thuốc được dụng hoặc

dùng được trong thú y có thể là nhũ tương nước trong dầu. Ví dụ về nhũ tương nước trong dầu thích hợp bao gồm nước trong dầu nhũ tương vacxin trên cơ sở dầu là thích hợp và dịch lỏng ở 4°C chứa: nằm trong khoảng từ 6 đến 50% thể tích/thể tích của pha nước chứa kháng nguyên, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 12 đến 25% thể tích/thể tích, nằm trong khoảng từ 50 đến 94% thể tích/thể tích của pha dầu chứa toàn bộ hoặc một phần dầu không chuyển hóa (ví dụ, dầu khoáng như dầu parafin) và/hoặc dầu chuyển hóa (ví dụ, dầu thực vật, hoặc axit béo, polyol hoặc este rượu), nằm trong khoảng từ 0,2 đến 20% p/v chất hoạt động bề mặt, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 3 đến 8% p/v, sau đó là toàn bộ hoặc một phần, hoặc trong hỗn hợp este polyglyxerol, tốt hơn nếu este polyglyxerol này là polyglyxerol (poly)rixinoleat, hoặc dầu polyoxyetylen rixin hoặc dầu polyoxyetylen rixin được hydro hóa. Ví dụ về chất hoạt động bề mặt có thể được sử dụng trong nhũ tương nước trong dầu bao gồm các este sorbitan được etoxylat (ví dụ, polyoxyetylen (20) sorbitan monooleat (TWEEN 80®), do AppliChem, Inc., Cheshire, CT cung cấp) và este sorbitan (ví dụ, sorbitan monooleat (SPAN 80®), do Sigma Aldrich, St. Louis, MO cung cấp). Ngoài ra, liên quan tới nhũ tương nước trong dầu, cũng xem US 6,919,084. Theo một số phương án, pha nước chứa kháng nguyên bao gồm dung dịch nước muối bao gồm một hoặc nhiều chất đệm. Ví dụ về dung dịch đệm thích hợp là nước muối được tạo đệm phosphat. Theo phương án có lợi, nhũ tương nước trong dầu có thể nhũ tương ba thành phần nước/dầu/nước (W/O/W) (U.S. 6,358,500). Ví dụ về nhũ tương thích hợp khác đã mô tả trong U.S. 7,371,395.

Các chế phẩm miễn dịch và vacxin theo sáng chế có thể bao gồm hoặc về cơ bản cấu thành từ một hoặc nhiều chất bổ trợ. Các chất bổ trợ thích hợp để sử dụng theo sáng chế là (1) polyme của acrylic hoặc axit metacrylic, anhydrit của axit maleic và polyme dẫn xuất của alkenyl, (2) trình tự kích thích miễn dịch (ISS), như trình tự oligodeoxyribonucleotit có một hoặc nhiều đơn vị CpG không được metyl hóa (Klinman et al., 1996; WO98/16247), (3) nhũ tương dầu trong nước, như nhũ tương SPT đã được mô tả ở trang 147 của “Vaccine Design, The Subunit and Adjuvant Approach” được công bố bởi M. Powell, M. Newman, Plenum Press 1995, và nhũ tương MF59 đã được mô tả ở trang 183 của cùng tài liệu, (4) lipid cation chứa muối amoni bậc bốn, ví dụ, DDA (5) xytokin, (6) nhôm hydroxit hoặc nhôm phosphat, (7) saponin hoặc (8) các chất bổ trợ khác đã thảo luận trong tài liệu bất kỳ đã nêu và được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn, hoặc (9) dạng kết hợp bất kỳ hoặc hỗn hợp của chúng.

Nhũ tương dầu trong nước (3), là đặc biệt thích hợp cho vector virus, có thể được dựa trên: dầu paraffin lỏng mạch nhẹ (loại theo Dược điển châu Âu), dầu isoprenoit như

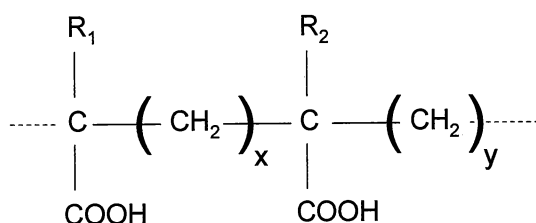
squalan, squalen, dầu thu được từ quá trình oligome hóa alken, ví dụ, isobuten hoặc đexen, các este của axit hoặc rượu có nhóm alkyl mạch thẳng, như dầu thực vật, etyl oleat, propylen glycol, di(caprylat/caprat), glyxerol tri(caprylat/caprat) và propylen glycol dioleat, hoặc các este của các rượu hoặc axit béo, mạch nhánh, đặc biệt là este của axit isostearic.

Dầu được sử dụng kết hợp với chất tạo nhũ tương để tạo ra nhũ tương. Chất tạo nhũ tương có thể là chất hoạt động bề mặt không ion, như: các este của sorbitan, manit (ví dụ, anhydromannitol oleat), glyxerol, polyglyxerol hoặc propylen glycol và mặt khác este của axit oleic, isostearic, rixinoleic hoặc hydroxystearic, các este này tùy ý được etoxylat, hoặc chất phong bế copolyme polyoxypropylen-polyoxyetylen, như Pluronic, ví dụ, L121.

Trong số các polyme hỗ trợ loại (1), polymer làm ví dụ là polyme của axit acrylic hoặc metacrylic liên kết ngang, đặc biệt là liên kết ngang bởi polyalkenyl ete của đường hoặc rượu đa chức. Các hợp chất này đã biết theo tên gọi carbome (Dược điển châu Âu, cột 8, số 2, tháng 6 năm 1996). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể viện dẫn tới U.S. 2,909,462, đưa ra polyme acrylic liên kết ngang như vậy bằng hợp chất polyhydroxyl có ít nhất ba nhóm hydroxyl, tốt hơn nếu không nhiều hơn tám nhóm như vậy, nguyên tử hydro của ít nhất ba nhóm hydroxyl được thế bằng các gốc không bão hòa, béo có ít nhất hai nguyên tử cacbon. Tốt hơn, nếu các gốc này chứa từ 2 đến 4 nguyên tử cacbon, ví dụ, vinyl, alyl và nhóm ether etylen không bão hòa. Các gốc không bão hòa cũng có thể chứa phần tử thế khác, như methyl. Các sản phẩm được bán dưới tên Carbopol (BF Goodrich, Ohio, USA) là đặc biệt thích hợp. Chúng được liên kết ngang bằng alyl sacaroza hoặc alyl pentaerythritol. Trong số chúng, các sản phẩm lấy làm ví dụ là Carbopol 974P, 934P và 971P.

Copolyme dẫn xuất từ anhydrit-alkenyl của axit maleic, ví dụ là EMA (Monsanto), là copolyme anhydrit etylen-maleic mạch thẳng hoặc liên kết ngang và ví dụ, chúng được tạo liên kết ngang bằng divinyl ete. Tài liệu viện dẫn cũng được đề cập là J. Fields et al., 1960.

Liên quan tới cấu trúc, tốt hơn nếu polyme acrylic hoặc axit metacrylic và EMA được tạo ra bằng các đơn vị bazơ có công thức dưới đây:



trong đó:

- R_1 và R_2 , có thể là giống hoặc khác nhau, là H hoặc CH_3
- $x = 0$ hoặc 1, tốt hơn nếu $x = 1$
- $y = 1$ hoặc 2, với $x + y = 2$.

Cho EMA, $x = 0$ và $y = 2$ và cho các carbome $x = y = 1$.

Các polyme này tan trong nước hoặc dung dịch muối sinh lý (20 g/l NaCl) và giá trị pH có thể được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 7,3 đến 7,4, ví dụ, bằng nước xô-đa (NaOH), để tạo ra dung dịch hỗ trợ trong đó vector biểu hiện có thể được kết hợp vào. Nồng độ polyme trong chế phẩm miễn dịch hoặc chế phẩm vaccin cuối cùng có thể nằm trong khoảng từ 0,01 đến 1,5% khối lượng/thể tích, nằm trong khoảng 0,05 đến 1% khối lượng/thể tích, và nằm trong khoảng 0,1 đến 0,4% khối lượng/thể tích.

Xytokin hoặc các xytokin (5) có thể ở dạng protein trong chế phẩm miễn dịch hoặc chế phẩm vaccin, hoặc có thể được đồng biểu hiện trong vật chủ với chất sinh miễn dịch hoặc các chất sinh miễn dịch hoặc (các) epitop của chúng. Ví dụ về quá trình đồng biểu hiện xytokin hoặc các xytokin, bởi cùng vector mà nó biểu hiện chất sinh miễn dịch hoặc các chất sinh miễn dịch hoặc (các) epitop của chúng, hoặc bằng vector riêng biệt của chúng.

Sáng chế bao hàm quá trình bào chế chế phẩm kết hợp như vậy; chẳng hạn bằng cách phối trộn hoạt chất, có lợi nếu phối trộn cùng nhau và cùng với chất hỗ trợ, chất mang, xytokin, và/hoặc chất pha loãng.

Xytokin có thể được sử dụng trong sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, yếu tố kích thích khuẩn lạc tạo bạch cầu hạt (G-CSF), bào yếu tố kích thích khuẩn lạc bạch cầu hạt/đại thực (GM-CSF), interferon α (IFN γ), interferon β (IFN β), interferon γ , (IFN γ), interleukin-1 α (IL-1 α), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-2 (IL-2), interleukin-3 (IL-3), interleukin-4 (IL-4), interleukin-5 (IL-5), interleukin-6 (IL-6), interleukin-7 (IL-7), interleukin-8 (IL-8), interleukin-9 (IL-9), interleukin-10 (IL-10), interleukin-11 (IL-11), interleukin-12 (IL-12), yếu tố gây chết hoại khối u α (TNF α), yếu tố gây chết hoại khối u β (TNF β), và yếu tố tăng trưởng biến nạp β (TGF β). Cần hiểu rằng xytokin có thể được dùng đồng thời và/hoặc dùng liên tiếp với chế phẩm miễn dịch hoặc chế phẩm vaccin theo sáng chế. Do đó, chẳng hạn, vaccin theo sáng chế cũng có thể chứa phân tử axit nucleic ngoại sinh biểu hiện xytokin thích hợp *in vivo*, ví dụ, xytokin tương xứng với vật chủ này cần được chủng ngừa hoặc trong đó đáp ứng miễn dịch cần được gây ra (chẳng hạn, xytokin của chó cho chế phẩm cần được dùng cho chó).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế được mô tả tiếp bằng các ví dụ không giới hạn phạm vi của sáng chế

dưới đây.

Tóm tắt: Vacxin virus thường được tạo ra bằng cách sử dụng toàn bộ virus đã tách ra từ các mẫu lâm sàng từ động vật đã nhiễm, bằng cách làm phù hợp và nhân giống virus trong phôi trứng hoặc môi trường nuôi cấy in vitro. Các rotavirus nhóm C của lợn thường khó phục hồi bằng các kỹ thuật virus học thông thường, và các rotavirus thường có xu hướng tạo tính kháng nguyên không chính xác trong quá trình làm phù hợp với môi trường phát triển phôi trứng hoặc tế bào, kết quả là tạo ra vacxin cận tối ưu từ toàn bộ virus đã phân lập. Do đó, vector biểu hiện (pNPL2, SEQ ID NO:15) được tạo cấu trúc để có khả năng tạo ra vacxin bao gồm rotavirus nhóm C của lợn VP4, VP6 và/hoặc protein tái tổ hợp NSP4. Vật liệu gen rotavirus được lấy lại bằng PCR từ vật liệu lâm sàng đã được nộp bởi thầy thuốc thú y. Gen mã hóa VP4 (18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, hoặc 40), VP6 (42, 44, 46, 48, hoặc 50), hoặc NSP4 (52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, hoặc 72) polypeptit/tiểu phần được bổ sung vào pNPL2 (thông qua quá trình đã nêu và minh họa ở Fig. 7), để tạo ra vector pNPL2-RotaC, mỗi vector này mã hóa và có khả năng biểu hiện trong tế bào vật chủ của vi khuẩn, một phần của NSP4, VP4, hoặc VP6. Các vector này sau đó được phát triển trong tế bào SE1 E. coli, biểu hiện cơ định độc tố ccdB proteic, giết vi khuẩn khi không có mặt vector. Các tế bào được phát triển, bất hoạt, và sau đó các protein rotavirus biểu hiện tái tổ hợp được thu thập và được tạo với chất bổ trợ để sử dụng làm vacxin tự sinh chứa protein tiểu phần không sống sót được. Chế phẩm vacxin theo sáng chế gây ra tính miễn dịch bảo vệ kháng rotavirus cho lợn.

Ví dụ 1: Cấu trúc của vector cho quá trình tạo ra vacxin tiểu phần rotavirus tự sinh hoặc thương mại

Cấu trúc vector biểu hiện pNPL1 & 2: Vector biểu hiện pNPL2 (SEQ ID NO:15) được tạo cấu trúc từ vật truyền pStaby1.2 (SEQ ID NO:1) của Delphi Genetics (sổ tay hướng dẫn sử dụng pStaby1.2, như được công bố năm 2011), bằng cách làm khuyết gen kháng ampicillin và cài xen gen GST (glutathion S-transferaza), để thuận tiện cho quá trình xử lý protein ngược dòng trong khi tạo ra. Vector không chứa các thể biểu hiện không có đặc tính gây độc đã biết của động vật có vú, và ngoài ra, toàn bộ gen kháng kháng sinh được loại ra khỏi vector này trong quá trình tạo cấu trúc của nó. pNPL2 được phát triển trong SE1 E. coli, và chúng là hệ sản sinh vật chủ/vector E. coli chủng B (sổ tay hướng dẫn sử dụng pStaby).

Bản đồ giới hạn của pStaby1.2 có mặt ở Fig. 1, và như được chỉ ra, chứa gen khởi đầu T7 để biểu hiện gen mã hóa protein tái tổ hợp. Plasmid cũng chứa gen *ccdA*, mã hóa protein thải độc không ổn định, ức chế sự biểu hiện protein kháng gyraza (*ccdB*)

gây độc tế bào *Enterobacteriaceae*. Protein *ccdB* được mã hóa bởi gen *ccdB* có mặt trong nhiễm sắc thể của tế bào vật chủ SE1 *E. coli* (gen *ccdB* không có mặt trong plasmid pStaby1.2). Sau khi biến nạp, sự có mặt của gen *ccdA* trong plasmid đảm bảo cho các tế bào đã biến nạp thành công có khả năng sống sót được, đồng thời tế bào SE1 mang không phải plasmid tạo ra độc tố không thải ra độc tính và do đó không sống sót được.

Gen kháng ampicillin của vector pStaby1.2 được xem là không thích hợp để sử dụng trong quá trình bào chế vaccin tiểu phần rotavirus, và từ đó được loại bỏ bằng cách sử dụng kỹ thuật PCR đảo (Fig. 2). Danh sách các đoạn mồi được sử dụng cho toàn bộ các thao tác đã nêu được thể hiện trong Bảng 1. Thành phẩm PCR được phosphoryl hoá và tự nối để thu được pNPL1 (SEQ ID NO:14). Tiếp đó, GST được bổ sung vào pNPL1 để làm tăng kích cỡ của protein biểu hiện bất kỳ, và để cải thiện phân tích xử lý/trong dòng ngược dòng. GST là PCR đã khuếch đại từ GEX4T.1 (GE Life Sciences) bằng cách sử dụng các đoạn mồi #650 (SEQ ID NO:2) và #651 (SEQ ID NO:3), và tiếp đó amplicon (SEQ ID NO:16) được tiêu và được tạo dòng vào NdeI-BamHI-linearized pNPL1 để thu được pNPL2 (FIGs. 2-4). pNPL2 được tiêu bằng *BamHI* và *HindIII* để tạo ra hai dải có khả năng sống sót trên gel agarosa (5682 bp và 25 bp).

Cấu trúc của pNPL3: PCR được thực hiện bằng cách sử dụng các đoạn mồi KSN772 (SEQ ID NO:77) và KSN773 (SEQ ID NO:78), và pNPL1 làm khuôn mẫu. Sản phẩm PCR được phosphoryl hoá và tự nối để tạo ra pNPL3, hiện chứa hexa-HIS Tag. Các gen NSP4, VP4, VP6 hoặc VP7 có thể được tạo dòng vào vector pNPL3 đã tiêu BamHI và HindIII bằng phản ứng dung hợp nhờ sử dụng các sản phẩm PCR đã tạo ra bằng cách sử dụng các đoạn mồi như đã nêu trong các SEQ ID NO:79-89. pNPL3 là tương tự như pNPL2, ngoại trừ pNPL3 không có trình tự mã hóa gen GST. Thực vậy, pNPL3 có trình tự mã hóa His Tag, tạo ra peptit dung hợp gắn His ở đầu N.

Ví dụ 2: Bào chế vaccin tiểu phần tự sinh rotavirus

Các ARN rotavirus được phân lập, tinh chế trực tiếp từ các mẫu lâm sàng được thu gom từ lợn bị nhiễm virus, và được dùng để sao chép ngược-PCR (RT-PCR) bằng cách sử dụng các đoạn mồi đặc hiệu với các gen mã hóa VP4 (các đoạn mồi có các trình tự SEQ ID NO:10, 11), VP6 (các đoạn mồi có các trình tự SEQ ID NO:12, 13), và NSP4 (các đoạn mồi có các trình tự SEQ ID NO:8, 9). Mỗi cặp đoạn mồi được thiết kế để gắn kết với vùng bảo toàn ở mức cao trên mỗi đầu gen đích (Fig. 5), có khả năng khuếch đại các gen rotavirus nhóm C từ nhiều thể virus khác nhau. Nếu các gen không thể khuếch đại bằng cách sử dụng các đoạn mồi đặc hiệu gen rotavirus C như đã nêu trong các SEQ ID NO:8, 9, 10, 11, 12, và 13, các đoạn mồi khác có thể được thiết kế và

sử dụng bởi các người có hiểu biết trung bình bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, các đoạn mỗi thoái biến có thể được dùng, sao cho các vị trí đoạn mỗi tới hạn (ví dụ, nucleotit đầu 3') có thể được biến đổi để phù hợp với độ lệch của khuôn mẫu so với các trình tự bảo toàn. Các đoạn mỗi có trình tự như nêu trong các SEQ ID NO:73, 74, 75, và 76 có thể được sử dụng để khuếch đại và tạo dòng các trình tự VP4 vào pNPL1 và/hoặc pNPL2. Các SEQ ID NO:73 và 74 có thể được sử dụng để khuếch đại trình tự VP4 và tạo dòng nó vào vector TOPO. Sau đó, các SEQ ID NO:75 và 76 có thể được sử dụng để cài xen trình tự VP4 vào vector pNPL2, để bào chế vacxin tiểu phần tiếp theo.

Đầu 5' của mỗi đoạn mỗi nằm trong trình tự 15-nucleotit để cài xen vào pNPL2 trong quá trình phản ứng dung hợp tiếp theo. Quá trình phân lập và khuếch đại các gen rotavirus có nguồn gốc trường để tạo ra ADN cho cần sử dụng trong hệ biểu hiện đã thể hiện ở các FIG. 4, 5 và 6. Sự có mặt của gen *ccdA* (vector đã mã hóa) lẫn gen *ccdB* (bộ gen tế bào đã mã hóa) trong tế bào SE1 đã biến nạp tạo ra môi trường ổn định tồn tại biểu hiện gen rotavirus. Các tế bào không được biến nạp hoặc *chứa plasmit* bất kỳ là không có khả năng sống sót. Việc cài xen gen được đặc trưng và kiểm soát bằng cách tạo trình tự, và việc biểu hiện protein được kiểm soát bằng SDS PAGE (Fig. 8), chỉ ra rằng khối lượng phân tử bằng khoảng 36 kDa (NSP4), 52 kDa (VP4), và 68 kDa (VP6). Phương pháp này có thể áp dụng cho chủng trường rotavirus bất kỳ có mức tương đồng gen đủ để các đoạn mỗi tạo dòng trong vùng bảo toàn.

Để bào chế ở quy mô lớn, các dòng đơn lẻ hoặc nhiều khuẩn lạc đồng nhất được chuyển vào môi trường 10mL-200,000mL LB. Khi mật độ quang, được đo ở 600 nm, đạt 0,4-1,0, IPTG ([Isopropyl β -D-thiogalactopyranosid] Mục Sigma Aldrich số I5502 hoặc loại tương đương) được bổ sung ở nồng độ cuối bằng 1 mM. Các môi trường nuôi cấy được ủ thêm trong 2-6 giờ. Môi trường nuôi cấy có thể phát triển trong thùng lên men, như sau:

- Nhiệt độ của môi trường nuôi cấy được duy trì ở $36^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$.
- Dòng khí nén đã lọc được duy trì ở 0,1-300 L/phút.
- pH của môi trường nuôi cấy được duy trì ở $7,4 \pm 0,3$.
- Khi mật độ quang đo ở 600 nm đạt 0,4-1,0, thì IPTG được bổ sung ở nồng độ cuối bằng 1 mM. Các môi trường nuôi cấy được ủ thêm trong 2-6 giờ.

Kỹ thuật thu thập: Môi trường nuôi cấy đã suy yếu được tách riêng các tế bào *E. coli* bằng cách lọc hoặc ly tâm, và các tế bào được cô đặc bằng cách lọc nhờ sử dụng thiết bị lọc 0,1-0,45 micron. Các tế bào cô đặc tiếp đó được dung giải bằng cách sử dụng chất phản ứng B-PER (Thermo Scientific, Mục số 78248 hoặc loại tương đương),

tiếp đó khuấy hoặc lắc dung dịch này trong 0,5-2 giờ. Các tế bào đã dung giải được cô đặc bằng cách ly tâm ở 5000-10000g trong 15-30 phút hoặc bằng cách lọc nhờ sử dụng thiết bị lọc 0,1-0,45 micron và dịch nổi trên bề mặt/thấm được gạn bỏ. Hạt/dạng cô đặc được tạo huyền phù lại trong dung dịch đệm rửa A (20mM Tris-HCL, 2 mM EDTA và 0,1% TritonX-100, điều chỉnh giá trị pH tới 7,5-8,5) bằng cách khuấy hoặc lắc trong 0,1-0,5 giờ, và huyền phù thu được được cô bằng cách ly tâm ở 5000-10000g trong 15-30 phút hoặc bằng cách lọc nhờ sử dụng thiết bị lọc 0,1-0,45 micron. Hạt/dạng cô đặc được tạo huyền phù lại trong dung dịch đệm rửa B (20mM Tris-HCL và 2 mM EDTA, điều chỉnh giá trị pH tới 7,5-8,5) bằng cách khuấy hoặc lắc trong 0,1-0,5 giờ, tiếp đó huyền phù được cô bằng cách ly tâm ở 5000-10000g trong 15-30 phút hoặc bằng cách lọc nhờ sử dụng thiết bị lọc 0,1-0,4 micron. Sau khi tạo huyền phù trong dung dịch ure 8M (Sigma-Aldrich, Mục số U6504 hoặc loại tương đương) và khuấy hoặc lắc trong 0,5-2 giờ, huyền phù cuối cùng được pha loãng bằng PBS vô trùng.

Bào chế vaccin: Sau khi thu thập, các tiểu phần rotavirut được tạo ra với TRIGEN (dầu trong nước) và các chất bảo quản (gentamixin ở nồng độ < 30,0 µg/mL và amphotericin B ở nồng độ < 2,50 µg/mL hoặc polymyxin B ở nồng độ < 30 µg/mL). Bổ sung a) gel nhôm hydroxit (ALHYDROGEL® “85”, được sản xuất bởi Brenntag Biosector, Cat. No. EMS 2485-2 hoặc REHYDRAGEL HPA, Reheis Cat. No. 203130070600, REHYDRAGEL LV, Reheis Cat. No. 203120070602 hoặc loại tương đương) vào hỗn hợp này để thu được Al₂O₃ với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,5% trong thành phẩm. Theo cách khác, chất bổ trợ Quil A có mặt trong các chế phẩm với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 2,5% dịch lỏng bất hoạt với chất bổ trợ dầu trong nước. Các chất bổ trợ chiếm từ 10 đến 50% thành phẩm.

Ví dụ 3: Tạo miễn dịch cho lợn nái bằng cách sử dụng vaccin tiểu phần tự sinh rotavirut

Tóm tắt: 48 con lợn nái đem nghiên cứu, đã nhiễm Rotavirut C mạn tính và các con tương tự được đưa vào nghiên cứu hiệu lực vaccin. Hai mươi sáu (26) con vật được chủng ngừa vaccin đối chứng giả được, đồng thời 22 con vật đã nhận vaccin tiểu phần rotavirut bao gồm hỗn hợp chứa VP4, VP6, NSP4, và nhũ tương/chất bổ trợ bổ sung. Vaccin được bào chế sao cho có khoảng 100 microgam mỗi protein (tổng là 300 microgam protein) và 10% Trigen trên mỗi liều vaccin. Các vaccin được dùng trong cơ thể cho lợn nái đã sinh từ 3 đến 6 tuần trước khi đẻ. Huyết thanh lợn nái được thu gom trước khi chủng ngừa và sinh con, và huyết thanh của lợn con được thu gom tiếp theo vào ngày thứ 7 ngày sau khi sinh.

Kết quả: Các con lợn con sinh ra từ lợn nái không được chủng ngừa có tỷ lệ tử vong là 21%, so với các con lợn con sinh ra từ lợn nái đã được chủng ngừa, có tỷ lệ tử

vong là 14% (tức là giảm 33%). Khả năng mắc bệnh cũng giảm đáng kể ở các con lợn sinh ra từ lợn nái đã được chủng ngừa. Các con lợn con sinh ra từ lợn nái đã được chủng ngừa cũng có nồng độ kháng thể cao hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với các con lợn con đối chứng (Fig. 9).

Ví dụ 4: Hiệu lực của vacxin rotavirus C mới làm giảm tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy của lợn cho bú và cải thiện sự biểu hiện

Tóm tắt: 3600 con lợn nái đẻ sinh sản tới thời bú được chọn để đánh giá hiệu lực của vacxin rotavirus C mới. Đàn lợn gồm các con cái PIC L03 được cho phối giống với lợn đực Dòng 02. Toàn bộ chế độ ăn uống cung cấp trong nông trại được chế biến để đáp ứng hoặc vượt quá yêu cầu dinh dưỡng (NRC, 1998). Lợn nái và lợn nái con được chia ngẫu nhiên vào một trong hai nhóm điều trị (đối chứng (CON) hoặc vacxin RS Rota C (VACC) dựa vào ngày sinh sản và trong mức tương đương. Các động vật trong nhóm VACC đã chia được nhận 2 ml vacxin trong cơ ở tuần thứ 3 tuần; tuần từ thứ 3 đến thứ 5; hoặc tuần thứ 3, 5, và 8 tuần trước khi sinh. Toàn bộ lứa thu được từ các động vật này được nuôi dưỡng trong vòng 24 giờ sinh bằng cách điều trị. Thang điểm về mức độ tiêu chảy được xác định hàng ngày từ ngày sinh đến ngày thứ 5. Số điểm được đưa ra như sau 0 (không tiêu chảy), 1 (tiêu chảy với số lượng nhỏ), 2 (50% lứa lợn bị tiêu chảy), hoặc 3 (50% lứa lợn bị tiêu chảy). Lợn được loại ra khỏi lứa ban đầu do khả năng tử vong liên quan tới bệnh tiêu chảy được ghi nhận. Không có sự khác biệt ở thang điểm về mức độ tiêu chảy hoặc khả năng tử vong liên quan tới bệnh tiêu chảy khi sử dụng chương trình chủng ngừa ở tuần thứ 3 hoặc tuần thứ 3, 5, và 8. Tuy nhiên, số điểm về mức độ tiêu chảy được giảm xuống giữa các lần điều trị CON và VACC (tuần thứ 3 và 5) (0,56 so với 0,41, $P < 0,05$). Ngoài ra, tỷ lệ các lứa bị tiêu chảy được giảm xuống từ ngày thứ 1 đến ngày thứ 5 khi điều trị VACC (tuần thứ 3 và 5) so với khi điều trị CON. Kết luận, vacxin Rotavirus C mới không làm thay đổi tỷ lệ hoặc khả năng tử vong ở lợn cho bú mắc bệnh tiêu chảy khi lợn nái được chủng ngừa một lần hoặc ba thành phần. Tuy nhiên, việc sử dụng vacxin mới làm giảm mức độ tiêu chảy khi chúng được dùng cho lợn trước khi sinh 3 và 5 tuần.

Điều trị: Lợn nái và lợn nái con được chia ngẫu nhiên vào một trong bốn nhóm điều trị (đối chứng (CON) hoặc vacxin điều trị Newport 1-3 (VACC) dựa vào ngày sinh và nằm trong mức tương đương. Chế phẩm chứa 100 microgam mỗi loại polypeptit: VP4 (SEQ ID NO:42), VP6 (SEQ ID NO:52) và NSP4 (SEQ ID NO:18), có nguồn gốc từ thể phân lập 1. Các tiểu phần protein này được kết hợp với 10% TRIGEN (bao gồm khoảng 1,6% polyoxyetylen sorbitan monooleat, 10% gel nhôm hydroxit, 38% nước/nước muối, 45% dầu kháng tinh khiết, và 5% sorbitan monooleat) để tạo ra liều

2cc. Các động vật trong nhóm điều trị VACC 1 đã chia được nhận 2 ml vacxin trong cơ ở 3 tuần trước khi sinh, các động vật trong nhóm điều trị VACC 2 đã chia được nhận 2 ml vacxin trong cơ ở 5 tuần trước khi sinh và sau đó chúng ngừng lại 3 tuần trước khi sinh, các động vật trong nhóm điều trị VACC 3 được nhận 2 ml vacxin trong cơ ở 7 tuần trước khi sinh, 5 tuần trước khi sinh, và sau đó chúng ngừng lại 3 tuần trước khi sinh. Toàn bộ các lứa từ các con vật được nuôi dưỡng trong 24 giờ sau sinh để điều trị.

Thu thập dữ liệu: Thang điểm về mức độ tiêu chảy được xác định hàng ngày từ ngày sinh đến ngày thứ 5. Việc thu thập riêng rẽ toàn bộ dữ liệu được làm từ các nhóm điều trị ban đầu. Lợn được loại ra khỏi lứa ban đầu do khả năng tử vong liên quan tới bệnh tiêu chảy được lưu ý vào ngày loại bỏ và được đưa vào khả năng tử vong/khả năng mắc bệnh trong bộ dữ liệu.

Phân tích dữ liệu: Khả năng tử vong/khả năng mắc bệnh và thang điểm về mức độ tiêu chảy được phân tích bằng cách sử dụng quy trình GLM. Buồng và mức tương đương cũng bao gồm trong mô hình.

Kết quả: Khả năng tử vong và khả năng mắc bệnh của lợn con được giảm xuống trong nhóm đã nhận hai liều vacxin trước khi sinh so với nhóm đối chứng mặc dù không có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, trong các nhóm đã nhận một hoặc ba liều vacxin, thì không có sự khác biệt. Thang điểm về mức độ tiêu chảy chỉ khác biệt đáng kể vào Ngày thứ 1 sau sinh cho hai liều chúng ngừng điều trị. Lưu ý rằng không có sự khác biệt khác trong thang điểm về mức độ tiêu chảy ở thời điểm khác bất kỳ hoặc với chương trình một hoặc ba liều. Đáng bất ngờ là trong nghiên cứu này, vacxin làm giảm bằng cách sử dụng hai chương trình chúng ngừng hai liều mà không phải chương trình đơn liều hoặc ba liều.

Bảng 2. Dữ liệu thể hiện xác định bằng cách chúng ngừng 2 liều.

	CON	VACC	Giá trị P
Số lượng tử vong do bệnh tiêu chảy, n	37	23	
Tỷ lệ tử vong do bệnh tiêu chảy, %	1,72	1,02	.19
Tác dụng phụ, %	.69	.92	.53

Bảng 3. Số điểm về mức độ tiêu chảy trung bình theo ngày sau khi sinh bằng cách chúng ngừng 2 liều.

	CON	VACC	SEM	Giá trị P
Ngày thứ 1	.56	.41	.06	.05
Ngày thứ 2	.87	.84	.07	.77
Ngày thứ 3	1,01	1,00	.08	.98
Ngày thứ 4	.51	.40	.10	.41
Ngày thứ 5	.29	.24	.04	.37

Bảng 4. Số điểm về mức độ tiêu chảy trung bình theo ngày sau khi sinh bằng cách chúng ngừng 3 liều.

	CON	VACC	SEM	Giá trị P
Ngày thứ 1	.30	.32	.10	.84
Ngày thứ 2	.61	.40	.12	.15
Ngày thứ 3	.80	.76	.13	.79
Ngày thứ 4	.25	.15	.09	.32
Ngày thứ 5	.02	.00	.02	.31

Ví dụ 5: Bào chế vaccin rotavirus C dung hợp ba thành phần

Tóm tắt: Như đã nêu trên, quá trình bào chế vaccin tiểu phần Rota C được thực hiện bằng cách tách dòng ba gen khác nhau (NSP4, VP4 và VP6) vào ba vector khác nhau và phát triển trong ba môi trường *E. coli* khác nhau. Để đơn giản quá trình này, toàn ba thành phần gen được đặt vào một vector plasmit, lần lượt và trong khung, từ đó có thể tạo ra vaccin bằng cách sử dụng lô đơn lẻ chứa môi trường nuôi cấy *E. coli*. Cấu trúc này được tạo ra bằng cách tách dòng các gen Rota C (thể phân lập 12-1260-5) vào pNPL2 (thể GST trong khung ở đầu N). Thể dung hợp ba gen (không bao gồm thể GST) có trình tự như nêu trong SEQ ID NO:94. Polyprotein đã mã hóa has trình tự như nêu trong SEQ ID NO:95.

Vật liệu và phương pháp: ARN được chiết từ mẫu lâm sàng bằng cách sử dụng kit chiết Qiagen Viral ARN theo quy trình của nhà sản xuất. Nồng độ và độ tinh khiết của ARN được kiểm tra bằng cách đo độ hấp thụ ở 260 và 280 bằng cách sử dụng Nanodrop. ARN được định lượng nếu tỷ lệ 260/280 ít nhất bằng 1,7 và nồng độ ARN ít nhất bằng 50 ng/μl. Các gen rotavirus được khuếch đại (các đoạn mỗi như nêu ở Bảng 5) và các sản phẩm PCR được tinh chế bằng cách sử dụng kit tinh chế Qiagen PCR. Kích cỡ của các sản phẩm được xác nhận bằng cách chạy gel ADN (NSP4-300 bp, VP4-750 bp, VP6-1200 bp) và nồng độ được dự đoán bằng cách sử dụng nanodrop.

Bảng 5. Các đoạn mỗi dung hợp ba thành phần Rota C

SEQ ID	Tên	Hướng	Trình tự
8	KSN652	NSP4 xuôi	GGTTCCGCGTGGATCCATCACCTCAAAACTG
13	KSN657	VP6 ngược	GTGCGGCCGCAAGCTTCTACATCACCATTCTCTTC
96	KSN859	NSP4 đảo	AAGTGAGGACGCCCTTAGACAAACTTCCGTCTCC
97	KSN860	VP4 ngược	AGGGCGTCCTCACTTTATC
98	KSN861	VP4 ngược	TGAAAACAGCACGTCTAACACCATCATTTCTC
99	KSN862	VP6 xuôi	GACGTGCTGTTTTCAATTGC

Tạo dòng các sản phẩm PCR vào pNPL2: Toàn ba thành phần sản phẩm được tạo dòng vào vector biểu hiện. Phản ứng được thiết lập như sau và được ủ ở 50°C trong 15 phút sau khi giữ ở 4°C. Khoảng 5 ul sản phẩm phản ứng được sử dụng để biến nạp tế bào CYS21 *E. coli* (Cat # GE-STCB-22) theo khuyến cáo của nhà sản xuất (Delphi Genetics). *E. coli* tái tổ hợp chứa plasmid được phát triển trong môi trường LB và ADN

plasmid được tạo trình tự bằng cách sử dụng các đoạn môi liệt kê trong Bảng 5 cùng với gen khởi đầu T7 và đoạn môi của gen kết thúc T7 (các đoạn môi tự do tiêu chuẩn). Các trình tự được sắp hàng để tạo ra khung đọc mở lớn và được kiểm tra về độ chính xác của nó; ORF chứa toàn bộ thành phần gen trong khung với thể GST (GST-NSP4-VP4-VP6; khoảng 2,9 kb).

Bảng 6. Hỗn hợp phản ứng nối dung hợp ba thành phần

Nhân	Thể tích
BamH I và Hind III cắt pNPL2 (~50 ng/ul)	3 μ l
Sản phẩm NSP4 PCR (~50 ng/ul)	0,5 μ l
sản phẩm VP4 PCR (~50 ng/ul)	1 μ l
sản phẩm VP6 PCR (~50 ng/ul)	1,5 μ l
hỗn hợp tách dòng 5X Infusion HD (Cat # 639646, Clontech)	2 μ l
Nước không chứa nucleaza	2 μ l

Phân tích biểu hiện polyprotein NSP4-VP4-VP6: Việc biểu hiện protein được cảm ứng ở chủng SE1 của *E. coli* bằng cách bổ sung IPTG theo quy trình tiêu chuẩn. Dịch lỏng của môi trường nuôi cấy được dung giải trên gel PAGE để kiểm tra sự biểu hiện của protein dung hợp (Fig. 12). Protein dung hợp này có mặt trong phân đoạn ure tan của dịch lỏng, nhưng không có trong phân đoạn dung dịch B (PAGE, dữ liệu không thể hiện). Protein dung hợp tan ure được pha loãng bằng nước theo tỷ lệ 1:20 và 1:40, và chạy trên PAGE để tiến hành thẩm phươg Tây tiếp theo. Các điểm được thăm dò bằng cách sử dụng kháng thể đơn dòng kháng GST (Genscript Cat A00866) ở nồng độ cuối 0,1 μ g/mL nhờ sử dụng quy trình tiêu chuẩn (Fig. 13).

Do đó, trong các phương án ưu tiên đã nêu chi tiết theo sáng chế, cần hiểu rằng sáng chế được xác định bởi các đoạn nêu trên là không nhằm giới hạn ở các chi tiết cụ thể đã nêu do nhiều dạng biến đổi hiển nhiên của chúng có thể xuất hiện nhưng vẫn không nằm ngoài phạm vi và nội dung của sáng chế.

Tài liệu viện dẫn

- Dennehy PH (2000). "Transmission of rotavirus and other enteric pathogens in the home". *Pediatr. Infect. Dis. J.* 19 (10 Suppl): S103–5. doi:10.1097/00006454-200010001-00003. PMID 11052397.
- Bernstein DI (March 2009). "Rotavirus overview". *The Pediatric Infectious Disease Journal* 28 (3 Suppl): S50–3.
- Grimwood K, Lambert SB (February 2009). "Rotavirus vaccines: opportunities and challenges". *Human Vaccines* 5 (2): 57–69. PMID 18838873.
- Bishop R (October 2009). "Discovery of rotavirus: Implications for child health". *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 24 Suppl 3: S81–5.
- Rheingans RD, Heylen J, Giaquinto C (2006). "Economics of rotavirus gastroenteritis and vaccination in Europe: what makes sense?". *Pediatr. Infect. Dis. J.* 25 (1 Suppl): S48–55.
- Simpson E, Wittet S, Bonilla J, Gamazina K, Cooley L, Winkler JL (2007). "Use of formative research in developing a knowledge translation approach to rotavirus vaccine introduction in developing countries". *BMC Public Health* 7: 281.
- Edward J Dubovi; Nigel James MacLachlan (2010). *Fenner's Veterinary Virology*, Fourth Edition. Boston: Academic Press. p. 288. ISBN 0-12-375158-6.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm miễn dịch bao gồm:
 - a) các polypeptit NSP4, VP4 và VP6 của rotavirus; và
 - b) chất dẫn thuốc, chất pha loãng hoặc tá dược được dụng hoặc dùng trong thú y.
2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này bao gồm polypeptit dung hợp ba thành phần NSP4-VP4-VP6 mà bao gồm các polypeptit NSP4, VP4 và VP6 của rotavirus.
3. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó polypeptit dung hợp ba thành phần tái tổ hợp bao gồm hoặc về cơ bản chỉ bao gồm polypeptit dung hợp ba thành phần NSP4-VP4-VP6 của rotavirus C.
4. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó chế phẩm này còn bao gồm chất bổ trợ.
5. Chế phẩm theo điểm 4, trong đó chất bổ trợ là dầu trong nước.
6. Chế phẩm theo điểm 2 hoặc điểm 4, trong đó polypeptit có mức độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 80%, trên mỗi polypeptit NSP4, VP4 và VP6, so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO: 95.
7. Chế phẩm theo điểm 6, trong đó polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO: 95.
8. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó (các) polypeptit bao gồm một trình tự được mã hóa bởi một trong số các trình tự như nêu trong SEQ ID NO: 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, hoặc 71.
9. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 8, trong đó chế phẩm này còn bao gồm ít nhất một kháng nguyên bổ sung liên quan tới nguồn bệnh không phải là rotavirus.

10. Chế phẩm theo điểm 9, trong đó ít nhất một kháng nguyên bổ sung có khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch kháng *Mycoplasma hyopneumoniae* (M. hyo), Cirocvirot Typ 2 ở lợn (PCV2), hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (PRRSV), virut gây bệnh cúm lợn (SIV) hoặc các nguồn bệnh khác có khả năng gây nhiễm và gây bệnh hoặc dễ gây bệnh ở lợn.
11. Phương pháp sản xuất chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9 bao gồm các bước:
- (a) thu mẫu sinh học từ động vật không phải là người đã biết bị nhiễm hoặc nghi bị nhiễm một hoặc nhiều loại rotavirut;
 - (b) nếu tình trạng nhiễm bệnh là chưa biết, thì xác định xem động vật không phải là người này có bị nhiễm rotavirut hay không;
 - (c) thu thập ARN từ động vật không phải là người đã bị nhiễm một hoặc nhiều loại rotavirut;
 - (d) tiến hành PCR phiên mã ngược bằng cách sử dụng các đoạn mồi bổ sung với các gen NSP4, VP4 và VP6;
 - (e) cài xen sản phẩm PCR thu được ở bước (d) vào vector biểu hiện thích hợp;
 - (f) đưa vector thu được ở bước (e) vào hệ thống biểu hiện ở vật chủ thích hợp;
 - (g) thu thập các polypeptit của rotavirut; và
 - (h) bổ sung các thành phần vacxin bổ sung bất kỳ vào các polypeptit của rotavirut, từ đó tạo ra chế phẩm vacxin.
12. Phương pháp theo điểm 11, trong đó các thành phần bổ sung được chọn từ chất bổ trợ, chất mang, chất pha loãng, và kháng nguyên liên quan tới các nguồn bệnh không phải là rotavirut.
13. Phương pháp theo điểm 12, trong đó thành phần bổ sung là chất bổ trợ.
14. Phương pháp theo điểm 12, trong đó thành phần bổ sung là kháng nguyên hoặc kháng nguyên bổ sung có khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch kháng *Mycoplasma hyopneumoniae* (M. hyo), Cirocvirot Typ 2 ở lợn (PCV2), hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (PRRSV), virut gây bệnh cúm lợn (SIV) hoặc các nguồn bệnh khác có khả năng gây nhiễm và gây bệnh hoặc dễ gây bệnh ở lợn.

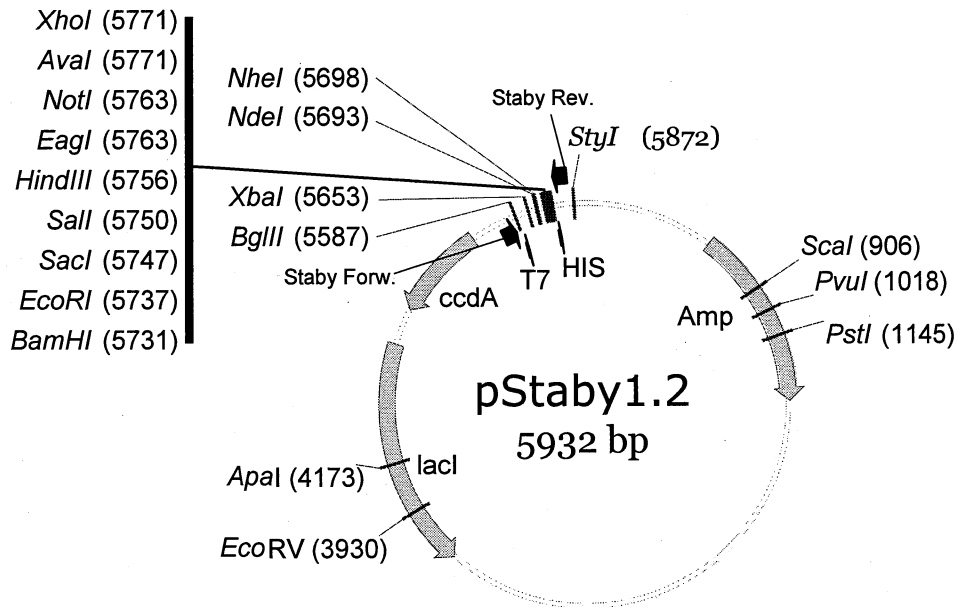


FIG. 1

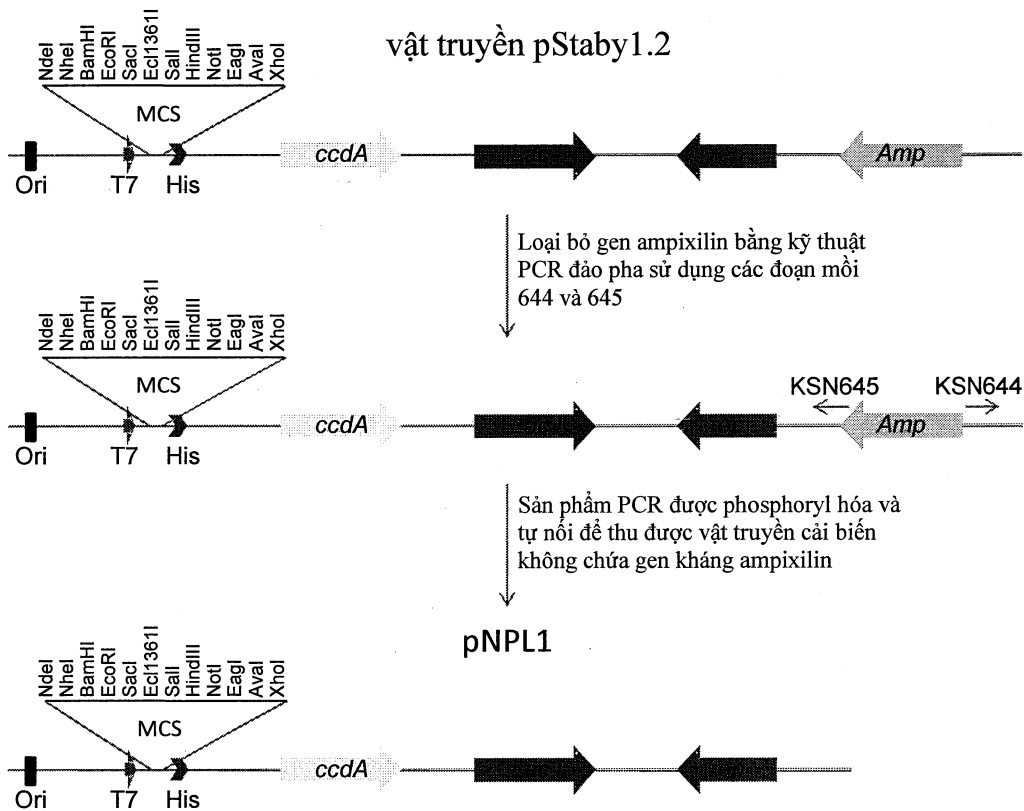


FIG. 2

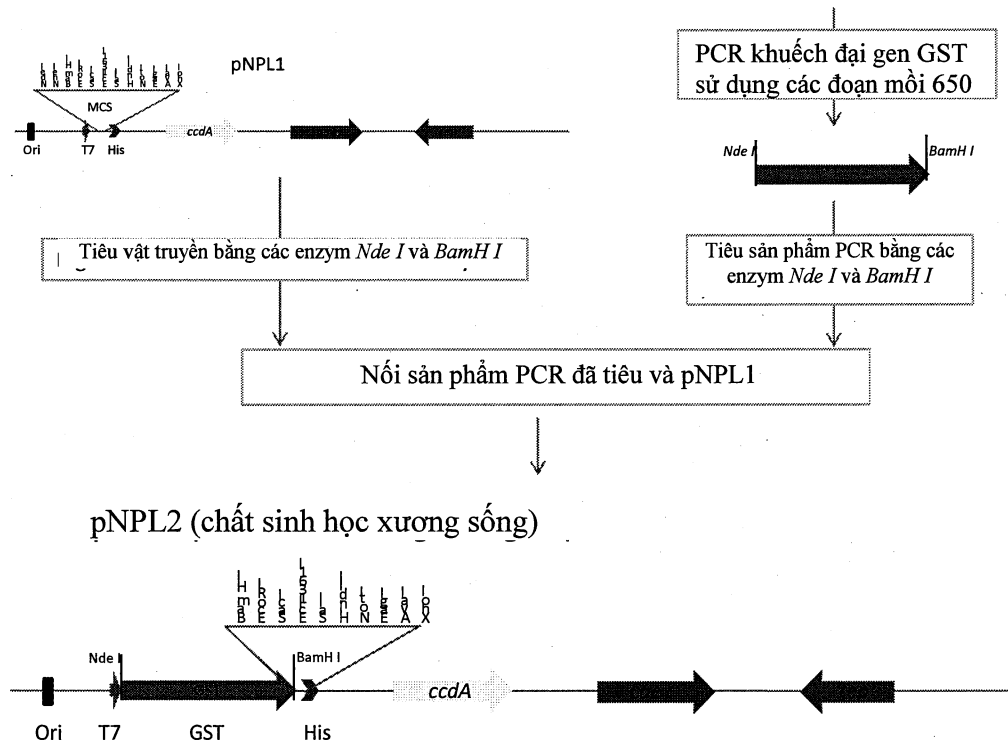


FIG. 3

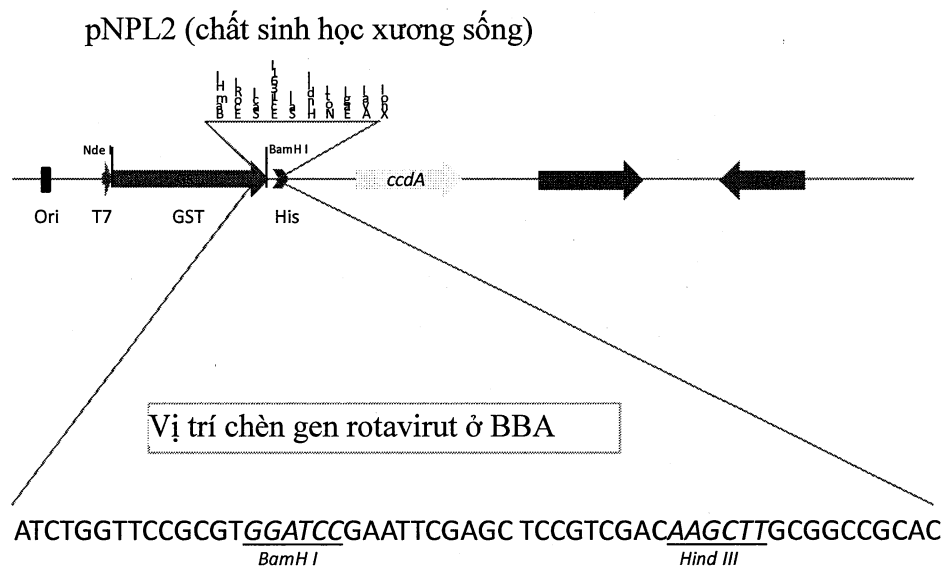


FIG. 4

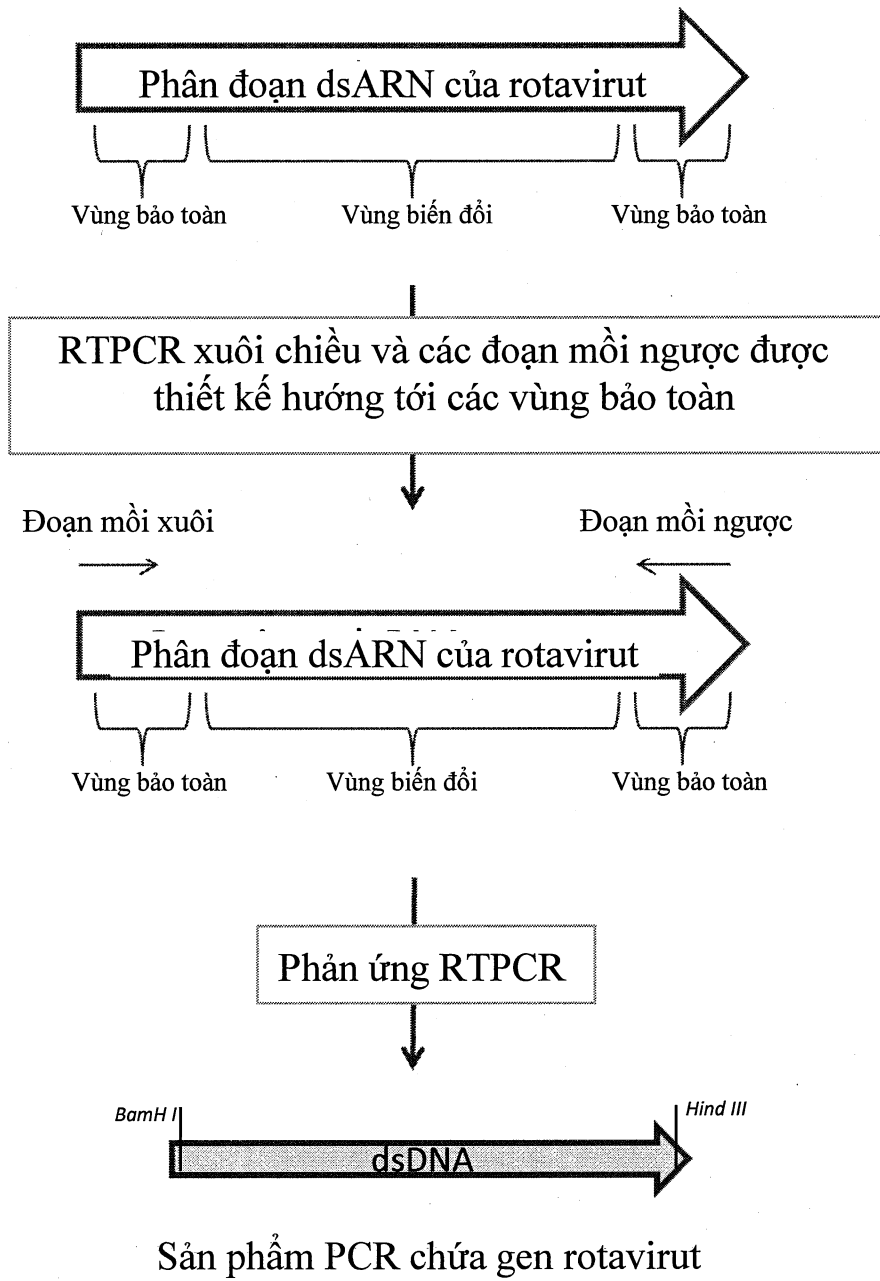


FIG. 5

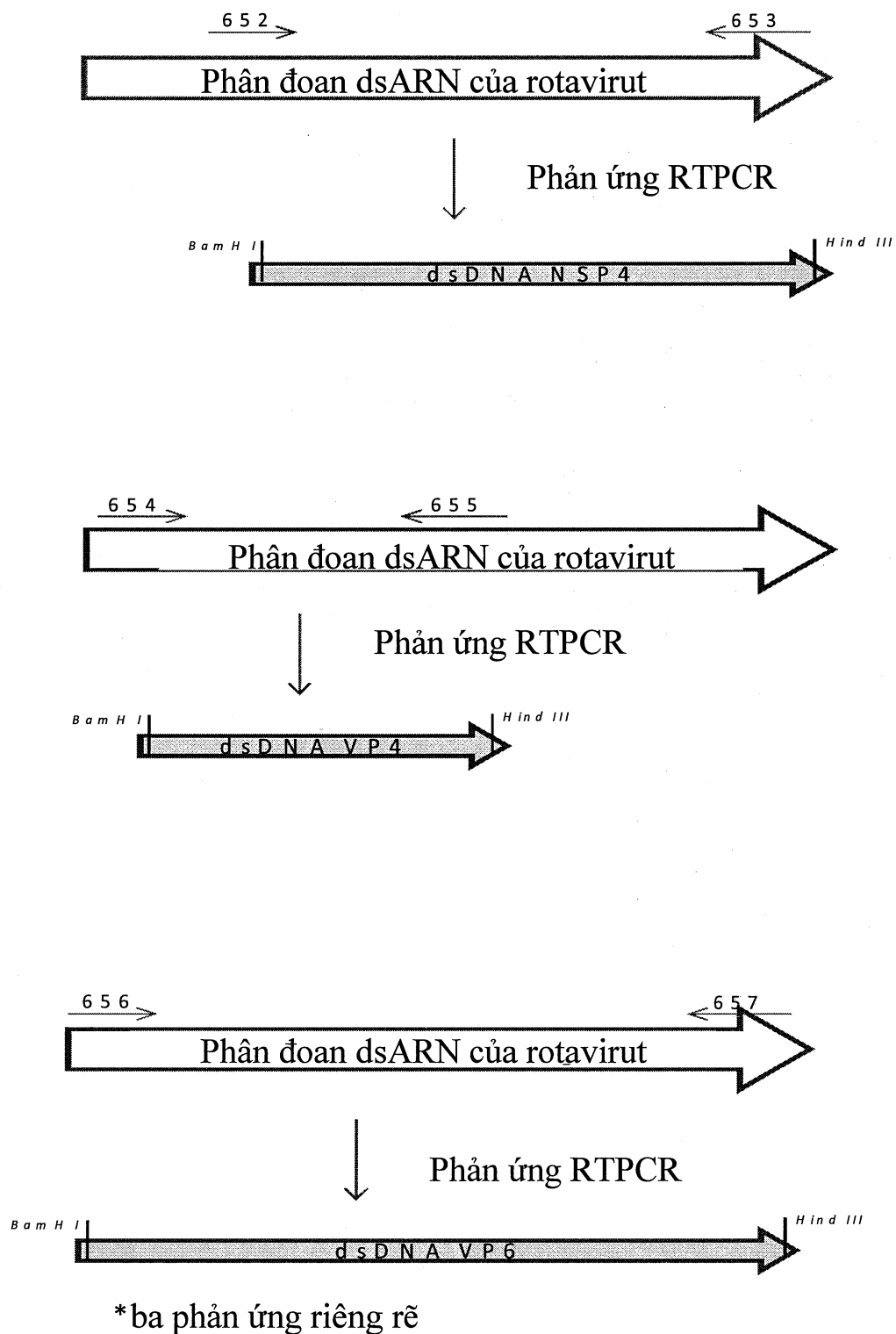


FIG. 6

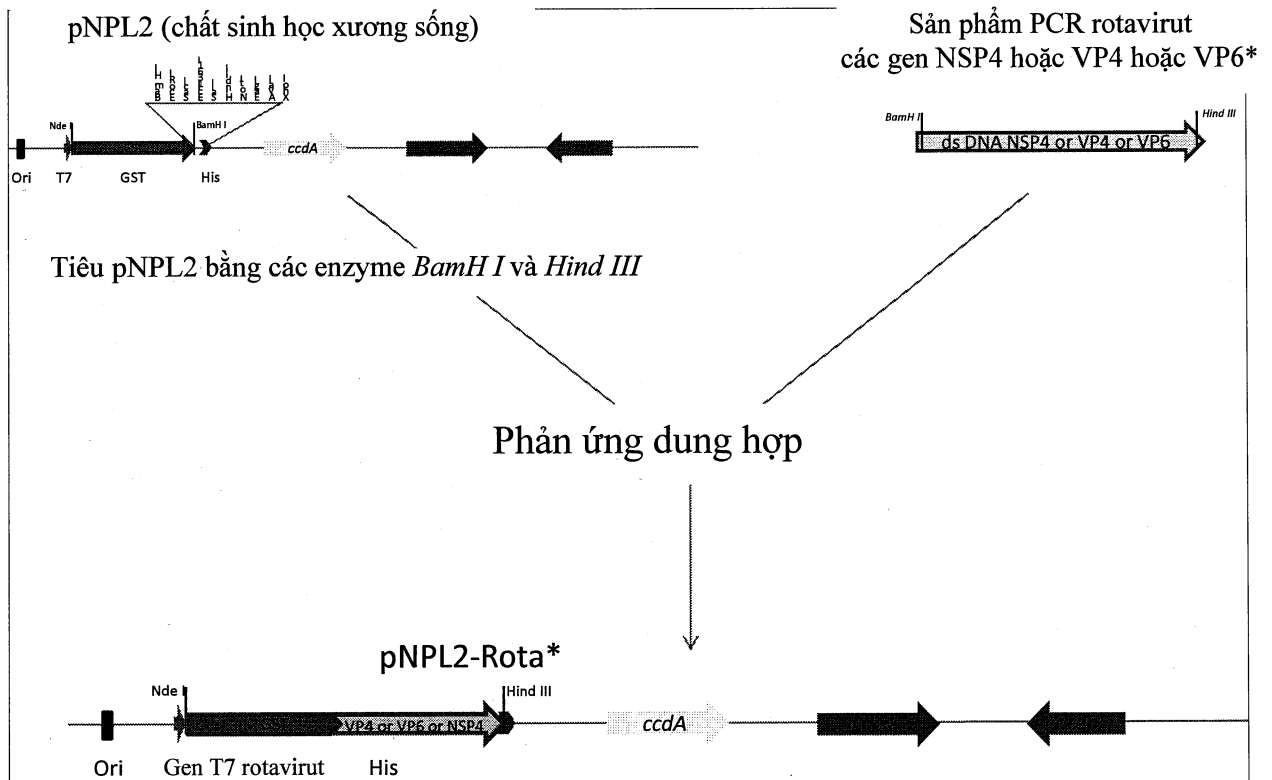


FIG. 7

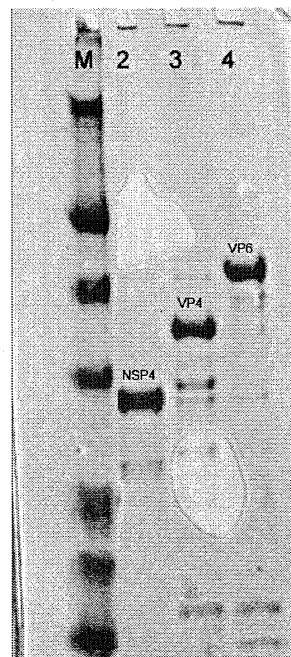


FIG. 8

		1	50
SEQ ID 17	(1)	ATCACCTCAAAAAGCTGTGATTGGTAAATTCAAGACTGAAAAAATATTAG	
SEQ ID 19	(1)	ATCACCTCAAAGACTGTGATTAGTAAGTTCAAGACTGAAAAATGACATTAG	
SEQ ID 21	(1)	ATCACCTCAAAGACTGTGATTAGTAAGTTCAAGACTGAAAAATGACATTAG	
SEQ ID 23	(1)	ATCACCTCAAAGACTGTGATTAGTAAGTTCAAGACTGAAAAATGACATTAG	
SEQ ID 25	(1)	ATCACCTCAAAGACTGTGATTAGTAAGTTCAAGACTGAAAAATGACATTAG	
SEQ ID 27	(1)	ATCACCTCAAAGACTGTGATTAGTAAGTTCAAGACTGAAAAATGACATTAG	
SEQ ID 29	(1)	ATCACCTCAAAGACTGTGATTAGTAAGTTCAAGACTGAAAAATGACATTAG	
SEQ ID 31	(1)	ATCACCTCAAAGACTGTGATTAGTAAGTTCAAGACTGAAAAATGACATTAG	
SEQ ID 33	(1)	ATCACCTCAAAGACTGTGATTAGTAAGTTCAAGACTGAAAAATGACATTAG	
SEQ ID 35	(1)	ATCACCTCAAAGACTGTGATTAGTAAGTTCAAGACTGAAAAATGACATTAG	
SEQ ID 37	(1)	ATCACCTCAAAAAGCTGTGATTGGTAAATTCAAGACTGAAAAAATATTAG	
SEQ ID 39	(1)	ATCACCTCAAAAAGCTGTGATTGGTAAATTCAAGACTGAAAAATGACATTAG	
		51	100
SEQ ID 17	(51)	TCATCAGAATGACGACATTCATAAAGAATATGAAGAGGTGATGAAACAAA	
SEQ ID 19	(51)	CCACCAGAACAAATGATATCAATAAGGAATATGAAGAGGTGATGAAACAAA	
SEQ ID 21	(51)	CCACCAGAACAAACGATATCAATAAGGAATATGAAGAGGTGATGAAACAAA	
SEQ ID 23	(51)	CCACCAGAACCAACGATATCAATAAGGAATATGAAGAGGTGATGAAACAAA	
SEQ ID 25	(51)	CCACCAGAACCAACGATATCAATAAGGAATATGAAGAGGTGATGAAACAAA	
SEQ ID 27	(51)	CCACCAGAACCAACGATATCAATAAGGAATATGAAGAGGTGATGAAACAAA	
SEQ ID 29	(51)	CCACCAGAACCAACGATATCAATAAGGAATATGAAGAGGTGATGAAACAAA	
SEQ ID 31	(51)	CCACCAGAACCAACGATATCAATAAGGAATATGAAGAGGTGATGAAACAAA	
SEQ ID 33	(51)	CCACCAGAACCAACGATATCAATAAGGAATATGAAGAGGTGATGAAACAAA	
SEQ ID 35	(51)	CCACCAGAACCAACGATATCAATAAGGAATATGAAGAGGTGATGAAACAAA	
SEQ ID 37	(51)	TCATCAGAATGACGACATTCATAAAGAATATGAAGAGGTGATGAAACAAA	
SEQ ID 39	(51)	CCACCAGAACCAACGATATCAATAAGGAATATGAAGAGGTGATGAAACAAA	
		101	150
SEQ ID 17	(101)	TGCGTGACATGAGAGTTCATGTAACCTGCCTATTTAATAGTATACATAAG	
SEQ ID 19	(101)	TGCGTGAAATGAGAGTTCAT---ACTGCATTATTTAATAGTATACATAAA	
SEQ ID 21	(101)	TGCGTGAAATGAGAGTTCAT---ACTGCATTATTTAATAGTATACATAAA	
SEQ ID 23	(101)	TGCGTGAAATGAGAGTTCAT---ACTGCATTATTTAATAGTATACATAAA	
SEQ ID 25	(101)	TGCGTGAAATGAGAGTTCAT---ACTGCATTATTTAATAGTATACATAAA	
SEQ ID 27	(101)	TGCGTGAAATGAGAGTTCAT---ACTGCATTATTTAATAGTATACATAAA	
SEQ ID 29	(101)	TGCGTGAAATGAGAGTTCAT---ACTGCATTATTTAATAGTATACATAAA	
SEQ ID 31	(101)	TGCGTGAAATGAGAGTTCAT---ACTGCATTATTTAATAGTATACATAAA	
SEQ ID 33	(101)	TGCGTGAAATGAGAGTTCAT---ACTGCATTATTTAATAGTATACATAAA	
SEQ ID 35	(101)	TGCGTGAAATGAGAGTTCAT---ACTGCATTATTTAATAGTATACATAAA	
SEQ ID 37	(101)	TGCGTGACATGAGAGTTCATGTAACCTGCCTATTTAATAGTATACATAAG	
SEQ ID 39	(101)	TGCGTGAAATGAGAGTTCAT---ACTGCATTATTTAATAGTATACATAAA	
		151	200
SEQ ID 17	(151)	GATAATATGGAGTGGAGAATGAGTGAATCGATTCCGAGAGAAAAGAGCG	
SEQ ID 19	(148)	GATAATATGGAGTGGAGAATGAGTGAATCAATTCGCAGAGAAAAGAGCG	
SEQ ID 21	(148)	GATAATATGGAGTGGAGAATGAGTGAATCAATTCGCAGAGAAAAGAGCG	
SEQ ID 23	(148)	GATAATATGGAGTGGAGAATGAGTGAATCAATTCGCAGAGAAAAGAGCG	
SEQ ID 25	(148)	GATAATATGGAGTGGAGAATGAGTGAATCAATTCGCAGAGAAAAGAGCG	
SEQ ID 27	(148)	GATAATATGGAGTGGAGAATGAGTGAATCAATTCGCAGAGAAAAGAGCG	
SEQ ID 29	(148)	GATAATATGGAGTGGAGAATGAGTGAATCAATTCGCAGAGAAAAGAGCG	
SEQ ID 31	(148)	GATAATATGGAGTGGAGAATGAGTGAATCAATTCGCAGAGAAAAGAGCG	
SEQ ID 33	(148)	GATAATATGGAGTGGAGAATGAGTGAATCAATTCGCAGAGAAAAGAGCG	
SEQ ID 35	(148)	GATAATATGGAGTGGAGAATGAGTGAATCAATTCGCAGAGAAAAGAGCG	
SEQ ID 37	(151)	GATAATATGGAGTGGAGAATGAGTGAATCGATTCCGAGAGAAAAGAGCG	
SEQ ID 39	(148)	GATAATATGGAGTGGAGAATGAGTGAATCAATTCGCAGAGAAAAGAGCG	

FIG. 9A (1/3)

201 250

SEQ ID 17 (201) TGAAATGAAAACAAATACGGTCGAGAATGAAGTTAAGAATCACGTAGATG

SEQ ID 19 (198) TGAAATGAAATCAAATACAACCGGGAATGAAGTCAAGAATCACACCAATG

SEQ ID 21 (198) TGAAATGAAATCAAATGCAACCGGGAATGAAGTCAAGATTCACACCAATG

SEQ ID 23 (198) TGAAATGAAATCAAATGCAACCGGGAATGAAGTCAAGATTCACACCAATG

SEQ ID 25 (198) TGAAATGAAATCAAATGCAACCGGGAATGAAGTCAAGAATCACACCAATG

SEQ ID 27 (198) TGAAATGAAATCAAATGCAACCGGGAATGAAGTCAAGAATCACACGAATG

SEQ ID 29 (198) TGAAATGAAATCAAATGCAACCGGGAATGAAGTCAAGAATCACACCAATG

SEQ ID 31 (198) TGAAATGAAATCAAATGCAACCGGGAATGAAGTCAAGAATCACACCAATG

SEQ ID 33 (198) TGAAATGAAATCAAATGCAACCGGGAATGAAGTCAAGAATCACACCAATG

SEQ ID 35 (198) TGAAATGAAATCAAATGCAACCGGGAATGAAGTCAAGATTCACACCAATG

SEQ ID 37 (201) TGAAATGAAAACAAATACGGTCGAGAATGAAGTTAAGAATCACGTAGATG

SEQ ID 39 (198) TGAAATGAAATCAAATGCAACCGGGAATGAAGTCAAGATTCACACCAATG

251 297

SEQ ID 17 (251) ATGTAAATATATGTGGTACGTCTGGATTAGAGACGGAAGTTTGTCTA

SEQ ID 19 (248) ATGTAAATGTATGTGATACGTCTGGATTAGAGACGGAGGTTTGTCTA

SEQ ID 21 (248) ATGTAAATGTATGTGATACGTCTGGATTAGAGACGGAGGTTTGTCTA

SEQ ID 23 (248) ATGTAAATGTATGTGATACGTCTGGATTAGAGACGGAGGTTTGTCTA

SEQ ID 25 (248) ATGTAAATGTATGTGATACGTCTGGATTAGAGATGGAGGTTTGTCTA

SEQ ID 27 (248) ATGTAAATGTATGTGATACGTCTGGATTAGAGACGGAGGTTTGTCTA

SEQ ID 29 (248) ATGTAAATGTATGTGATACGTCTGGATTAGAGACGGAGGTTTGTCTA

SEQ ID 31 (248) ATGTAAATGTATGTGATACGTCTGGATTAGAGACGGAGGTTTGTCTA

SEQ ID 33 (248) ATGTAAATGTATGTGATACGTCTGGATTAGAGACGGAGGTTTGTCTA

SEQ ID 35 (248) ATGTAAATGTATGTGATACGTCTGGATTAGAGACGGAGGTTTGTCTA

SEQ ID 37 (251) ATGTAAATATATGTGATACGTCTGGATTAGAGACGGAAGTTTGTCTA

SEQ ID 39 (248) ATGTAAATGTATGTGATACGTCTGGATTAGAGACGGAAGTTTGTCTA

Trình tự NSP4	SEQ 17	SEQ 19	SEQ 21	SEQ 23	SEQ 25	SEQ 27	SEQ 29	SEQ 31	SEQ 33	SEQ 35	SEQ 37	SEQ 39
SEQ 17		89	88	89	88	89	88	89	89	89	100	90
SEQ 19			99	99	99	99	99	99	99	99	89	98
SEQ 21				100	99	99	99	99	99	100	89	98
SEQ 23					99	99	99	99	99	100	89	99
SEQ 25						99	99	99	99	99	89	98
SEQ 27							99	99	99	99	89	98
SEQ 29								99	99	99	89	98
SEQ 31									100	99	89	98
SEQ 33										99	89	98
SEQ 35											89	99
SEQ 37												90
SEQ 39												

FIG. 9A (2/3)

		1		50
SEQ ID 18	(1)	ITSKTVIGKFKTENNISHQNDIHKYEEVMKQMRDMRVHVTALFNSIHK		
SEQ ID 20	(1)	ITSKTVISKFKTENDISHQNDINKEYEEVMKQMRMRVHMTALFNSIHK		
SEQ ID 22	(1)	ITSKTVISKFKTENDISHQNDINKEYEEVMKQMRMRVHMTALFNSIHK		
SEQ ID 24	(1)	ITSKTVISKFKTENDISHQNDINKEYEEVMKQMRMRVHMTALFNSIHK		
SEQ ID 26	(1)	ITSKTVISKFKTENDISHQNDINKEYEEVMKQMRMRVHMTALFNSIHK		
SEQ ID 28	(1)	ITSKTVISKFKTENDISHQNDINKEYEEVMKQMRMRVHMTALFNSIHK		
SEQ ID 30	(1)	ITSKTVISKFKTENDISHQNDINKEYEEVMKQMRMRVHMTALFNSIHK		
SEQ ID 32	(1)	ITSKTVISKFKTENDISHQNDINKEYEEVMKQMRMRVHMTALFNSIHK		
SEQ ID 34	(1)	ITSKTVISKFKTENDISHQNDINKEYEEVMKQMRMRVHMTALFNSIHK		
SEQ ID 36	(1)	ITSKTVISKFKTENDISHQNDINKEYEEVMKQMRMRVHMTALFNSIHK		
SEQ ID 38	(1)	ITSKTVIGKFKTENNISHQNDIHKYEEVMKQMRDMRVHVTALFNSIHK		
SEQ ID 40	(1)	ITSKTVIGKFKTENDISHQNDINKEYEEVMKQMRMRVHMTALFNSIHK		
		51		99
SEQ ID 18	(51)	DNMEWRMSESIRREKKREMKTNVTENEVKNHVDDVNICGTSGLTEVCL		
SEQ ID 20	(51)	DNMEWRMSESIRREKKREMKSNTTGNEVKNHTNDVNVC DTSGLETEVCL		
SEQ ID 22	(51)	DNMEWRMSESIRREKKREMKSNATGNEVKIHTNDVNVC DTSGLETEVCL		
SEQ ID 24	(51)	DNMEWRMSESIRREKKREMKSNATGNEVKIHTNDVNVC DTSGLETEVCL		
SEQ ID 26	(51)	DNMEWRMSESIRREKKREMKSNATGNEVKNHTNDVNVC DTSGLEMEVCL		
SEQ ID 28	(51)	DNMEWRMSESIRREKKREMKSNATGNEVKNHTNDVNVC DTSGLETEVCL		
SEQ ID 30	(51)	DNMEWRMSESIRREKKREMKSNATGNEVKNHTNDVNVC DTSGLETEVCL		
SEQ ID 32	(51)	DNMEWRMSESIRREKKREMKSNATGNEVKNHTNDVNVC DTSGLETEVCL		
SEQ ID 34	(51)	DNMEWRMSESIRREKKREMKSNATGNEVKNHTNDVNVC DTSGLETEVCL		
SEQ ID 36	(51)	DNMEWRMSESIRREKKREMKSNATGNEVKIHTNDVNVC DTSGLETEVCL		
SEQ ID 38	(51)	DNMEWRMSESIRREKKREMKTNVTENEVKNHVDDVNICDTSGLETEVCL		
SEQ ID 40	(51)	DNMEWRMSESIRREKKREMKSNATGNEVKIHTNDVNVC DTSGLETEVCL		

Trình tự NSP4	SEQ 18	SEQ 20	SEQ 22	SEQ 24	SEQ 26	SEQ 28	SEQ 30	SEQ 32	SEQ 34	SEQ 36	SEQ 38	SEQ 40
SEQ 18		87	85	85	85	86	86	86	86	85	99	86
SEQ 20			98	98	98	99	99	99	99	98	88	97
SEQ 22				100	98	99	99	99	99	100	86	99
SEQ 24					98	99	99	99	99	100	86	99
SEQ 26						99	99	99	99	98	86	97
SEQ 28							100	100	100	99	87	98
SEQ 30								100	100	99	87	98
SEQ 32									100	99	87	98
SEQ 34										99	87	98
SEQ 36											86	99
SEQ 38												87
SEQ 40												

FIG. 9A (3/3)

```

1
50
SEQ ID 41 (1) AGGGCGTCCTCACTTTATCATCAATTAATTTCTCAGAATTATTATTCAAC
SEQ ID 43 (1) AGGGCGTCCTCACTTTATCAGCAATTAATTTACAGAATTATTATTCAAC
SEQ ID 45 (1) AGGGCGTCCTCACTTTATCAGCAATTAATCTCACAGAATTATTATTCAAC
SEQ ID 47 (1) AGGGCGTCCTCACTTTATCAGCAATTAATCTCACAGAATTATTATTCAAC
SEQ ID 49 (1) AGGGCGTCCTCACTTTATCAGCAATTAATCTCACAAAATTATTATTCAAC
51 100
SEQ ID 41 (51) TGGGAATGAGATCTTAAAGAGTTTACAAACGACTAAAACACTGTTTGACT
SEQ ID 43 (51) TGGAAATGATATTTTACTGGATCAGCAAAACAAATAACACAACACTGTTTGACT
SEQ ID 45 (51) TGGAAATGATATTTTACTGGATCAGCAAAACAAATAACACAACACTGTTTGACT
SEQ ID 47 (51) TGGAAATGATATTTTACTGGATCAGCAAAACAAATAACACAACACTGTTTGACT
SEQ ID 49 (51) TGGGAATGNTATATTATTGGATCAGCAAAACGAATAAAACAACACTGTTTGATT
101 150
SEQ ID 41 (101) ATGTAGATGCTGGGAATTATACATATGCTCAATTGCCGCCAACGAAGTGG
SEQ ID 43 (101) ATATAGATATAGGAAATTATTTCGTATACACAATTACCGCCGACATCATGG
SEQ ID 45 (101) ATATAGATATAGGAAATTACTCGTATACACAATTACCGCCGACATCATGG
SEQ ID 47 (101) ATATAGATATAGGAAATTATTTCGTATACACAATTACCGCCGACATCATGG
SEQ ID 49 (101) ATGTAGATGTGGGAAATTATTTCATATACACAATTACCACCAACATCATGG
151 200
SEQ ID 41 (151) GGAGCTGGAGCTACCTTCGAATCAGTCTTTAGCGCAGCTGAAATAACAGG
SEQ ID 43 (151) GGAGCAGGAATGACTTTTAAGTCTGCATTTAATGCAGAGGAAATACAGG
SEQ ID 45 (151) GGAGCAGGAATGACTTTTAAGTCTGCATTTAATGCAGAGGAAATACAGG
SEQ ID 47 (151) GGAGCAGGAATGACTTTTACGTCTGCATTTAATGCAGAGGAAATACAGG
SEQ ID 49 (151) GGAGCAGGAATGACTTTTAAGTCTGCATTTAATGCAGAAGAAATGACGGG
201 250
SEQ ID 41 (201) ACCGCACACAAATAGAGTTATAGAGTGGGAAGAATTTACTAAATTCGACC
SEQ ID 43 (201) ACCCAATACAGGT---GATATAGATTTGAATAATTTGACAAATGCGAATG
SEQ ID 45 (201) ACCCAATACGGGT---GATATAGATTTGAATAATTTGACAAATGCGAATG
SEQ ID 47 (201) ACCCAATACAGGT---GATATAGATTTGAATAATTTGACAAATGCGAATG
SEQ ID 49 (201) ACCTAACACAGGT---GATATAGATCTGAGTAATCTCACAACTGCGAATG
251 300
SEQ ID 41 (251) AGTGGTTGCTGTTTCCAAAACAGCTGACACAGTTAAATTACTTAAACAT
SEQ ID 43 (248) GGTGGATATTGTATGACAAACCAACTGATACAAAACGATTGTTAAACTA
SEQ ID 45 (248) GATGGATATTGTATGACAAACCAACTGATACAAAACGATTGTTAAACTA
SEQ ID 47 (248) GGTGGATATTGTATGACAAACCAACTGATACAAAACGATTGTTAAACTA
SEQ ID 49 (248) GATGGATATTATATGAGAAGCCGACAATTACCAAACGGTTATTAAACTA
301 350
SEQ ID 41 (301) GGACCTCAAACATATGATAGCACTTTAGCGGCATGTGAATTGTGGTATGG
SEQ ID 43 (298) GGACCAGAAAGTTATGACAGTGTGTACGCAGCATTCTGAATTATGGTATGG
SEQ ID 45 (298) GGACCAGAAAGTTATGACAGTGTGTACGCAGCATTCTGAATTATGGTATGG
SEQ ID 47 (298) GGACCAGAAAGTTATGACAGTGTATACGCAGCATTCTGAATTATGGTATGG
SEQ ID 49 (298) GGGCCAGATGTTTACGATAGTGTTTATGCCGCATTTGAACGTGGTATGG
351 400
SEQ ID 41 (351) GAAGGCTAATACTATAGTGACATCAGAACACTATTCATCATTAAG-----
SEQ ID 43 (348) TAAAGCAAATACTGTAGTCACATCAATATACTATTCATCAGTGCAAACT
SEQ ID 45 (348) TAAAGCAAATACTGTAGTCACATCAATATACTATTCATCAGTGCAAACT
SEQ ID 47 (348) TAAAGCAAATACTGTAGTCACATCAATATACTATTCATCAGTGCAAACT
SEQ ID 49 (348) TAAAGCAAATACAGTAGTTACATCAATATATTATGCATCAGCACAAAATT
401 450
SEQ ID 41 (396) -TGATAATCAGGTGAATGTAAATGCCGATTCATTAGTATTATTTTGGAAAT
SEQ ID 43 (398) CTGAAAACACTGTAACAGTACAACATGACTCATTAGTGTTATTCTTTAAT
SEQ ID 45 (398) CTGAAAACACTGTAACAGTACAGCATGACTCATTAGTGTTATTCTTTAAT
SEQ ID 47 (398) CTGAAAACACTGTAACAGTACAGCATGACTCATTAGTGTTATTCTTTAAT
SEQ ID 49 (398) CTGAGAATACTGTAACATTACAGTATGACTCATTAGTACTATTTTCAAT

```

FIG. 9B (1/3)

```

451                                     500
SEQ ID 41 (445) GCTGGAGGGACAACATTGCGATAAACAAATAGTTAATTTTGCTTGGGATAT
SEQ ID 43 (448) GTTGGTTATACTGGTCTAACTAAGCAAATAGTTAAATTTAAGTGGGAATAT
SEQ ID 45 (448) GTTGGTTATACTGGTCTAACTAAGCAAATAGTTAAATTTAAGTGGGAATAT
SEQ ID 47 (448) GTTGGTTATACTGGTCTAACTAAGCAAATAGTTAAATTTAAGTGGGAATAT
SEQ ID 49 (448) GTTGGTTACACTGGTCTGACTAAGCAAATAGTTAGATTTAATTGGGATAT
501                                     550
SEQ ID 41 (495) GGGTGGAAATTCCTGATTAAAGCCGTCAAGTCAACAACCTAGATTAGATATAT
SEQ ID 43 (498) GGGAGGCATATTAGTTAGACCGACTGCTGATGG---TAGAGTGGATATTT
SEQ ID 45 (498) GGGAGGCATATTAGTTAGACCGACTACTGATGG---TAGAGTGGATATTT
SEQ ID 47 (498) GGGAGGCATATTAGTTAGACCGACTACTGATGG---TAGAGTGGATATTT
SEQ ID 49 (498) GGGAGGCATATTAGTTAGGCCAACTGCTGATGG---TAGAGTAGATATCT
551                                     600
SEQ ID 41 (545) ACATGGCCAACATGAATAATTTCAATAGTGATAATTTCAATTGGGAAGAG
SEQ ID 43 (545) GTATGGCTGACATGAATGATTTTAAATAGTGATAATTTTAAATTGGGAATCT
SEQ ID 45 (545) GTATGGCTGACATGAATGATTTTAGTAGTGATAATTTTAAATTGGGAATCT
SEQ ID 47 (545) GCATGGCTGACATGAATGATTTTAAATAGTGATAATTTTAAATTGGGAATCT
SEQ ID 49 (545) GTATGGCAGACATGAATGATTTTAGCAGCGACAATTTTAAATTGGGAGAAA
601                                     650
SEQ ID 41 (595) TGGCGTTTCACACTACCTCGCAGTAATGCAACAATTAACATATACACTGA
SEQ ID 43 (595) TGGAAACGTAGTTTTCACCGTAGCAAC-----ATTAACATGTACACTGA
SEQ ID 45 (595) TGGAAACGTAGTTTTCACCGTAGCAAC-----ATTAACATGTACACTGA
SEQ ID 47 (595) TGGAAACGTAGTTTTCACCGTAGCAAC-----ATTAACATGTACACTGA
SEQ ID 49 (595) TGGACTCGTAGCTTTCACCGCAGTAAT-----ATTAATATGTATGCTGA
651                                     700
SEQ ID 41 (645) TTATTACCTAGCTAGCAGTGATCCATACAATCAGCTGAAAGAATTACAAC
SEQ ID 43 (639) ATATTATTTAGCGAATGTTGATCCATATAATCAACTAAAAATATTAAACC
SEQ ID 45 (639) ATATTATTTAGCGAATGTTGATCCATATAATCAACTAAAAATATTAAACC
SEQ ID 47 (639) ATATTATTTAGCGAATGTTGATCCATATAATCAACTAAAAATATTAAACC
SEQ ID 49 (639) ATATTACTTAGCAAATGTTGACCCGTATAGTCAATTAAAAGCATTAAATC
701                                     747
SEQ ID 41 (695) AGTCAACTATTACCACATTCGAAATGAGAATG---ATGGTG-----
SEQ ID 43 (689) AACTAACTGCAAAAAATGTAGAAATTAGAATG---AAGGCAATTAAG
SEQ ID 45 (689) AACTAACTGCAAAAAATGTAGAAATTAGAATG---AAGGCAATTAAG
SEQ ID 47 (689) AACTAACTGCAAAAAATGTAGAAATTAGAATGATGAAGGCAATTAAG
SEQ ID 49 (689) ANCTCACAACNNAAAATATAGAAATTAGAATG---AAGTCAATTAAG

```

Trình tự VP4	SEQ 41	SEQ 43	SEQ 45	SEQ 47	SEQ 49
SEQ 41		69	69	69	67
SEQ 43			99	99	86
SEQ 45				99	86
SEQ 47					86
SEQ 49					

FIG. 9B (2/3)

```

1
50
SEQ ID 42 (1) RASSLYHQLISQNYYSTGNEILKDLQTTKTTVDYVDAGNYTYAQLPPTKW
SEQ ID 44 (1) RASSLYQQLISQNYYSTGNDILLDQQTNNTTVDYIDIGNYSYTLPPPTSW
SEQ ID 46 (1) RASSLYQQLISQNYYSTGNDILLDQQTNNTTVDYIDIGNYSYTLPPPTSW
SEQ ID 48 (1) RASSLYQQLISQNYYSTGNDILLDQQTNNTTVDYIDIGNYSYTLPPPTSW
SEQ ID 50 (1) RASSLYQQLISQNYYSTGNXILLDQQTNNTTVDYVDVGNYSYTLPPPTSW
51
100
SEQ ID 42 (51) GAGATFESVFSAAEITGPHTNRVIEWKNNLNSDQWLLFPKPADTVKLLKH
SEQ ID 44 (51) GAGMTFKSAFNAEEITGPNTG-DIDLNNLTNANGWILYDKPTDTKRLLKL
SEQ ID 46 (51) GAGMTFKSAFNAEEITGPNTG-DIDLNNLTNANGWILYDKPTDTKRLLKL
SEQ ID 48 (51) GAGMTFKSAFNAEEITGPNTG-DIDLNNLTNANGWILYDKPTDTKRLLKL
SEQ ID 50 (51) GAGMTFKSAFNAEEMTGPNTG-DIDLSNLTNANGWILYEKPTITKRLLKL
101
150
SEQ ID 42 (101) GPQTYDSTLAACELWYGKANTIVTSEHYSSLS--DNQVNVNADSLVLFWN
SEQ ID 44 (100) GPESYDSVYAAFELWYGKANTVVTSIYYSSVQNSENTVTVQHDSLVLFFN
SEQ ID 46 (100) GPESYDSVYAAFELWYGKANTVVTSIYYSSVQNSENTVTVQHDSLVLFFN
SEQ ID 48 (100) GPESYDSVYAAFELWYGKANTVVTSIYYSSVQNSENTVTVQHDSLVLFFN
SEQ ID 50 (100) GPDVYDSVYAAFELWYGKANTVVTSIYYASAQNSENTVTLQYDSLVLFFN
151
200
SEQ ID 42 (149) AGGTTFDKQIVNFAWDMGGILIKPSSQOPRLDIYMANMNFNSDNFNWEE
SEQ ID 44 (150) VGYTGLTKQIVKFNWMMGGILVREPTADG-RVDICMADMNDFNSDNFNWES
SEQ ID 46 (150) VGYTGLTKQIVKFNWMMGGILVREPTTDG-RVDICMADMNDFNSDNFNWES
SEQ ID 48 (150) VGYTGLTKQIVKFNWMMGGILVREPTTDG-RVDICMADMNDFNSDNFNWES
SEQ ID 50 (150) VGYTGLTKQIVRFNWDMMGGILVREPTADG-RVDICMADMNDFSSDNFNWEK
201
249
SEQ ID 42 (199) WRFTLPRSNATINIYTDYYLASSDPYNQLKELQOSTITTFEMRMV---
SEQ ID 44 (199) WKRSFPRS--NINMYTEYYLANVDPYNQLKILNQLTAKNVEIRMMKAIK
SEQ ID 46 (199) WKRSFPRS--NINMYTEYYLANVDPYNQLKILNQLTAKNVEIRMMKAIK
SEQ ID 48 (199) WKRSFPRS--NINMYTEYYLANVDPYNQLKILNQLTAKNVEIRMMKAIK
SEQ ID 50 (199) WTRSFPRS--NINMYAEYYLANVDPYSOLKALNXLTXNIEIRMMKSIX

```

Trình tự VP4	SEQ 42	SEQ 44	SEQ 46	SEQ 48	SEQ 50
SEQ 42		64	64	64	62
SEQ 44			99	99	88
SEQ 46				99	88
SEQ 48					87
SEQ 50					

FIG. 9B (3/3)

		1	50
SEQ ID 51	(1)	GACGTGCTGTTTCAATTGCGAAAAGTGTATCTGAACCTAAAAAGAAAGT	
SEQ ID 53	(1)	GATGTGCTGTTCTCCATTGCGAAGACTGTCTCAGATCTTAAGAAGAAAGT	
SEQ ID 55	(1)	GATGTGCTGTTCTCCATTGCGAAGACTGTCTCAGATCTTAAGAAGAAAGT	
SEQ ID 57	(1)	GATGTGCTGTTTCAATTGCGAAGACTGTCTCAGAACTAAAAAGAAAGT	
SEQ ID 59	(1)	GATGTGCTGTTTCAATTGCGAAGACTGTCTCAGATCTTAAGAAGAAAGT	
SEQ ID 61	(1)	GATGTGCTGTTCTCTATTGCGAAGACTGTCTCAGATCTTAAGAAGAAAGT	
SEQ ID 63	(1)	GATGTGCTGTTCTCCATTGCGAAGACTGTCTCAGATCTTAAGAAGAAAGT	
SEQ ID 65	(1)	GATGTGCTGTTCTCCATTGCGAAGACTGTCTCAGATCTTAAGAAGAAAGT	
SEQ ID 67	(1)	GATGTGCTGTTCTCCATTGCGAAGACTGTCTCAGATCTTAAGAAGAAAGT	
SEQ ID 69	(1)	GATGTGCTGTTCTCCATTGCGAAAAGTGTCTCAGATCTTAAGAAGAAAGT	
SEQ ID 71	(1)	GATGTGCTGTTCTCCATTGCGAAAAGTGTCTCAGATCTTAAGAAGAAAGT	
		51	100
SEQ ID 51	(51)	TGTAGTTGGTACTATTTACACTAATGTAGAAGATATAATTCAACAAACCA	
SEQ ID 53	(51)	TGTAGTTGGTACTATTTATACAAATGTAGAAGATATAATCCAACAGACTA	
SEQ ID 55	(51)	TGTAGTTGGTACTATTTATACAAATGTAGAAGATATAATCCAACAGACTA	
SEQ ID 57	(51)	TGTAGTTGGTACTATTTACACTAATGTAGAAGATATAATTCAGCAAACCTA	
SEQ ID 59	(51)	TGTAGTTGGTACTATTTATACAAATGTAGAAGATATAATCCAACAGACTA	
SEQ ID 61	(51)	TGTAGTTGGTACTATTTATACAAATGTAGAAGATATAATCCAACAAACCTA	
SEQ ID 63	(51)	TGTAGTTGGTACTATTTATACAAATGTAGAAGATATAATCCAACAGACTA	
SEQ ID 65	(51)	TGTAGTTGGTACTATTTATACAAATGTAGAAGATATAATCCAACAGACTA	
SEQ ID 67	(51)	TGTAGTTGGTACTATTTATACAAATGTAGAAGATATAATCCAACAGACTA	
SEQ ID 69	(51)	TGTAGTTGGTACTATTTATACAAATGTAGAAGATATAATCCAACAGACTA	
SEQ ID 71	(51)	TGTAGTTGGTACTATTTATACAAATGTAGAAGATATAATCCAACAGACTA	
		101	150
SEQ ID 51	(101)	ATGAACCTGATTAGAACTTTGAATGGTAATACGTTTCATACAGGTGGTATT	
SEQ ID 53	(101)	ATGAATTGATTAGAACTTTGAATGGCAACACATTCCATACTGGTGGAATT	
SEQ ID 55	(101)	ATGAATTGATTAGAACTTTGAATGGCAACACATTCCATACTGGTGGAATT	
SEQ ID 57	(101)	ATGAATTAATTAGAACTTTGAATGGCAACACGTTTCATACAGGTGGTATT	
SEQ ID 59	(101)	ATGAATTGATTAGAACTTTGAATGGCAACACATTTCATACTGGTGGAATT	
SEQ ID 61	(101)	ATGAATTGATTAGAACTTTGAATGGCAACACATTCCATACTGGTGGAATT	
SEQ ID 63	(101)	ATGAATTGATTAGAACTTTGAATGGCAACACATTCCATACTGGTGGAATT	
SEQ ID 65	(101)	ATGAATTGATTAGAACTTTGAATGGCAACACATTCCATACTGGTGGAATT	
SEQ ID 67	(101)	ATGAATTGATTAGAACTTTGAATGGCAACACATTCCATACTGGTGGAATT	
SEQ ID 69	(101)	ATGAATTAATTAGAACTTTGAATGGCAACACATTCCATACTGGTGGAATT	
SEQ ID 71	(101)	ATGAATTAATTAGAACTTTGAATGGCAACACATTCCATACTGGTGGAATT	
		151	200
SEQ ID 51	(151)	GGAACACAGCCTCAGGAAGACTGGAATTTTCAATTACCGCAGCTAGGTAC	
SEQ ID 53	(151)	GGAACACAACCTCAGAAAGAATGGAATTTTCACTACCACAGCTAGGTAC	
SEQ ID 55	(151)	GGAACACAACCTCAGAAAGAATGGAATTTTCACTACCACAGCTAGGTAC	
SEQ ID 57	(151)	GGAACGCAGCCTCAAAAAGAGTGAATTTTCAATTACCACAGCTAGGTAC	
SEQ ID 59	(151)	GGAACACAACCTCAGAAAGAATGGAATTTTCACTACCACAGCTAGGTAC	
SEQ ID 61	(151)	GGAACACAACCTCAGAAAGAATGGAATTTTCACTACCGCAGCTAGGTAC	
SEQ ID 63	(151)	GGAACACAACCTCAGAAAGAATGGAATTTTCACTACCACAGCTAGGTAC	
SEQ ID 65	(151)	GGAACACAACCTCAGAAAGAATGGAATTTTCACTACCACAGCTAGGTAC	
SEQ ID 67	(151)	GGACACAACCTCAGAAAGAATGGAATTTTCACTACCACAGCTAGGTAC	
SEQ ID 69	(151)	GGAACACAACCTCAGAAAGAATGGAATTTTCACTACCACAGCTAGGTAC	
SEQ ID 71	(151)	GGAACACAACCTCAGAAAGAATGGAATTTTCACTACCACAGCTAGGTAC	
		201	250
SEQ ID 51	(201)	GACACTCTTAATTTAGATGACAACCTATGTTCAAGCACTAGAAGTGTTA	
SEQ ID 53	(201)	AACACTTTTGAATTTAGATGATAACTATGTTCAAGCACTAGAAGTATCA	
SEQ ID 55	(201)	AACACTTTTGAATTTAGATGATAACTATGTTCAAGCACTAGAAGTATCA	
SEQ ID 57	(201)	AACACTCTTGAATTTAGATGATAACTATGTCCAAGCTACTAGAAGTGTTA	
SEQ ID 59	(201)	AACACTTTTGAATTTAGATGATAACTATGTTCAAGCACTAGAAGTATCA	
SEQ ID 61	(201)	AACACTTTTGAATTTAGATGATAACTATGTTCAAGCACTAGAAGTATCA	
SEQ ID 63	(201)	AACACTTTTGAATTTAGATGATAACTATGTTCAAGCACTAGAAGTATCA	
SEQ ID 65	(201)	AACACTTTTGAATTTAGATGATAACTATGTTCAAGCACTAGAAGTATCA	
SEQ ID 67	(201)	AACACTTTTGAATTTAGATGATAACTATGTTCAAGCACTAGAAGTATCA	
SEQ ID 69	(201)	AACACTTTTGAATTTAGATGATAACTATGTTCAAGCACTAGAAGTATCA	
SEQ ID 71	(201)	AACACTTTTGAATTTAGATGATAACTATGTTCAAGCACTAGAAGTATCA	

FIG. 9C (1/7)

		251	300
SEQ ID 51	(251)	TTGATTATTTGGCTTCATTTATAGAATCAGTATGTGATGATGAAATTGTC	
SEQ ID 53	(251)	TCGATTATTTGGCCTCATTTATAGAAGCTGTGTGTGATGACGAAATTGTT	
SEQ ID 55	(251)	TCGATTATTTGGCCTCATTTATAGAAGCTGTGTGTGATGACGAAATTGTT	
SEQ ID 57	(251)	TTGACTATTTGGCCTCATTCATAGAAGCAGTATGTGATGATGAGATTGTC	
SEQ ID 59	(251)	TCGATTATTTGGCCTCATTTATAGAAGCTGTGTGTGATGACGAAATTGTT	
SEQ ID 61	(251)	TCGATTATTTGACCTCATTTATAGAAGCTGTGTGTGATGACGAAATTGTT	
SEQ ID 63	(251)	TCGATTATTTGGCCTCATTTATAGAAGCTGTGTGTGATGACGAAATTGTT	
SEQ ID 65	(251)	TCGATTATTTGGCCTCATTTATAGAAGCTGTGTGTGATGACGAAATTGTT	
SEQ ID 67	(251)	TCGATTATTTGGCCTCATTTATAGAAGCTGTGTGTGATGATGAAATTGTT	
SEQ ID 69	(251)	TCGATTATTTGGCCTCATTTATAGAAGCTGTGTGTGATGACGAAATTGTT	
SEQ ID 71	(251)	TCGATTATTTGGCCTCATTTATAGAAGCTGTGTGTGATGACGAAATTGTT	
		301	350
SEQ ID 51	(301)	AGAGAAGCATCTAGAAATGGAATGCAGCCACAGTCGCCAGCACTTATAAC	
SEQ ID 53	(301)	AGAGAAGCGTCAAGAAATGGAATGCAACCTCAATCTCCTGCACCTTATAGC	
SEQ ID 55	(301)	AGAGAAGCGTCAAGAAATGGAATGCAACCTCAATCTCCTGCACCTTATAGC	
SEQ ID 57	(301)	AGAGAAGCATCGAGAAATGGAATGCAGCCTCAATCACCTACACTTATAGC	
SEQ ID 59	(301)	AGAGAGGCGTCAAGAAATGGAATGCAACCTCAATCTCCTGCACCTTATAGC	
SEQ ID 61	(301)	AGAGAAGCGTCAAGAAATGGAATGCAACCTCAATCTCCTGCACCTTATAGC	
SEQ ID 63	(301)	AGAGAAGCGTCAAGAAATGGAATGCAACCTCAATCTCCTGCACCTTATAGC	
SEQ ID 65	(301)	AGAGAAGCGTCAAGAAATGGAATGCAACCTCAATCTCCTGCACCTTATAGC	
SEQ ID 67	(301)	AGAGAAGCGTCAAGAAATGGAATGCAACCTCAATCTCCTGCACCTTATAGC	
SEQ ID 69	(301)	AGAGAAGCGTCAAGAAATGGAATGCAACCTCAATCTCCTGCACCTTATAGC	
SEQ ID 71	(301)	AGAGAAGCGTCAAGAAATGGAATGCAACCTCAATCTCCTGCACCTTATAGC	
		351	400
SEQ ID 51	(351)	GCTGTCATCATCAAAGTTTAAAGACTATCAACTTTAATAACAGTTCACAAT	
SEQ ID 53	(351)	GTTATCTTCAGCAAAATTTAAGACTATTAATTTTAAACAATAGTTCACAAT	
SEQ ID 55	(351)	GTTATCTTCAGCAAAATTTAAGACTATTAATTTTAAACAATAGTTCACAAT	
SEQ ID 57	(351)	GCTGTCCTCATCAAAGTTTAAAGACTATTAATTTTAAATAACAGTTCACAAT	
SEQ ID 59	(351)	GTTATCTTCAGCAAAATTTAAGACTATTAATTTTAAACAATAGTTCACAAT	
SEQ ID 61	(351)	GTTATCTTCAGCAAAATTTAAGACTATTAATTTTAAACAATAGTTCACAAT	
SEQ ID 63	(351)	GTTATCTTCAGCAAAATTTAAGACTATTAATTTTAAACAATAGTTCACAAT	
SEQ ID 65	(351)	GTTATCTTCAGCAAAATTTAAGACTATTAATTTTAAACAATAGTTCACAAT	
SEQ ID 67	(351)	GTTATCTTCAGCAAAATTTAAGACTATTAATTTTAAACAATAGTTCACAAT	
SEQ ID 69	(351)	GTTATCTTCAGCAAAATTTAAGACTATTAATTTTAAACAATAGTTCACAAT	
SEQ ID 71	(351)	GTTATCTTCAGCAAAATTTAAGACTATTAATTTTAAACAATAGTTCACAAT	
		401	450
SEQ ID 51	(401)	CAATTAAGAAATGGAGTGCTCAATCAAGACGTGAAAATCCAGTGTATGAA	
SEQ ID 53	(401)	CCATTAAGAAATGGAGTGCTCAGTCAAGACGTGAAAATCCAGTGTATGAA	
SEQ ID 55	(401)	CCATTAAGAAATGGAGTGCTCAGTCAAGACGTGAAAATCCAGTGTATGAA	
SEQ ID 57	(401)	CTATTAAGAAATGGAGTGCTCAATCAAGACGCGAAAATCCAGTCTACGAG	
SEQ ID 59	(401)	CCATTAAGAAATGGAGTGCTCAGTCAAGACGTGAAAATCCAGTGTATGAA	
SEQ ID 61	(401)	CCATTAAGAAATGGAGTGCTCAGTCAAGACGTGAAAATCCAGTGTATGAA	
SEQ ID 63	(401)	CCATTAAGAAATGGAGCGCTCAGTCAAGACGTGAAAATCCAGTGTATGAA	
SEQ ID 65	(401)	CCATTAAGAAATGGAGTGCTCAGTCAAGACGTGAAAATCCAGTGTATGAA	
SEQ ID 67	(401)	CCATTAAGAAATGGAGTGCTCAGTCAAGACGTGAAAATCCAGTGTATGAA	
SEQ ID 69	(401)	CCATTAAGAAATGGAGTGCTCAGTCAAGACGTGAAAATCCAGTGTATGAA	
SEQ ID 71	(401)	CCATTAAGAAATGGAGTGCTCAGTCAAGACGTGAAAATCCAGTGTATGAA	
		451	500
SEQ ID 51	(451)	TACAGAAATCCAATGATATTGGAATATAGAAATTCATACATTCTTCAGCG	
SEQ ID 53	(451)	TATAAAATCCAATGGTGTGTTGAGTATAGAAATTCATATATTCTTCAGCG	
SEQ ID 55	(451)	TATAAAATCCAATGGTGTGTTGAGTATAGAAATTCATATATTCTTCAGCG	
SEQ ID 57	(451)	TACAGAAATCCGATGATATTGGAATATAGAAATTCATACATTCTTCAGCG	
SEQ ID 59	(451)	TATAAAATCCAATGGTGTGTTGAGTATAGAAATTCATATATTCTTCAGCG	
SEQ ID 61	(451)	TATAAAATCCAATGGTGTGTTGAGTATAGAAATTCATATATTCTTCAGCG	
SEQ ID 63	(451)	TATAAAATCCAATGGTGTGTTGAGTATAGAAATTCATATATTCTTCAGCG	
SEQ ID 65	(451)	TATAAAATCCAATGGTGTGTTGAGTATAGAAATTCATATATTCTTCAGCG	
SEQ ID 67	(451)	TATAAAATCCAATGGTGTGTTGAGTATAGAAATTCATATATTCTTCAGCG	
SEQ ID 69	(451)	TATAAAATCCAATGGTGTGTTGAGTATAGAAATTCATATATTCTTCAGCG	
SEQ ID 71	(451)	TATAAAATCCAATGGTGTGTTGAGTATAGAAATTCATATATTCTTCAGCG	

FIG. 9C (2/7)

```

501
SEQ ID 51 (501) TGCTAATCCACAATTTGGAATCGTAATGGGATTGAGGTATTATACAACCTG
SEQ ID 53 (501) TGCCAATGCACAATATGGGAACGTAATGGGGCTGAGATATTACACAGCCA
SEQ ID 55 (501) TGCCAATGCACAATATGGGAACGTAATGGGGCTGAGATATTACACAGCCA
SEQ ID 57 (501) CGCTAATCCACAATTTGGAATGTAATGGGGTTGAGGTATTATACAACCTA
SEQ ID 59 (501) TGCTAATGCACAATATGGGAATGTAATGGGGCTGAGATATTACACAGCGA
SEQ ID 61 (501) TGCCAATGCACAATATGGGAACGTGATGGGGCTGAGATATTACACAGCTA
SEQ ID 63 (501) TGCCAATGCACAATATGGGAACGTAATGGGGCTGAGATATTACACAGCCA
SEQ ID 65 (501) TGCCAATGCACAATATGGGAACGTAATGGGGCTGAGATATTACACAGCCA
SEQ ID 67 (501) TGCCAATGCACAATATGGGAATGTAATGGGGCTGAGATATTATACAGCCA
SEQ ID 69 (501) TGCCAATGCACAATATGGGAATGTAATGGGGCTGAGATATTACACAGCCA
SEQ ID 71 (501) TGCCAATGCACAATATGGGAATGTAATGGGGCTGAGATATTACACAGCCA
551
551
SEQ ID 51 (551) GTAACACCTGTCAAGTTGCAGCTTTTGATTCAACATTTGCTGAAAATGCT
SEQ ID 53 (551) GCAATGCCTGTCAGATTGCAGCTTTTGATTCAACTTTAGCTGAAAATGCT
SEQ ID 55 (551) GCAATGCCTGTCAGATTGCAGCTTTTGATTCAACTTTAGCTGAAAATGCT
SEQ ID 57 (551) GTAACACTTGTCAAATCGCAGCTTTTGACTCAACATTTGCTGAGAATGCT
SEQ ID 59 (551) GTAATGCCTGTCAGATTGCAGCTTTTGATTCAACTTTAGCTGAAAATGCC
SEQ ID 61 (551) GCAATGCCTGTCAGATTGCAGCTTTTGATTCAACTTTAGCTGAAAATGCC
SEQ ID 63 (551) GCAATGCCTGTCAGATTGCAGCTTTTGATTCAACTTTAGCTGAAAATGCC
SEQ ID 65 (551) GCAATGCCTGTCAGATTGCAGCTTTTGATTCAACTTTAGCTGAAAATGCC
SEQ ID 67 (551) GTAATGCCTGTCAGATTGCAGCTTTTGATTCAACTTTAGCTGAAAATGCC
SEQ ID 69 (551) GTAATGCCTGTCAGATTGCAGCTTTTGATTCAACTTTAGCTGAAAATGCC
SEQ ID 71 (551) GTAATGCCTGTCAGATTGCAGCTTTTGATTCAACTTTAGCTGAAAATGCC
601
601
SEQ ID 51 (601) CCTAATAATACTCAACGTTTATCTATAATGGAAGACTTAAAGAGACCAAC
SEQ ID 53 (601) CCTAATGGCACTCAACGGTTTATTTATAATGGAAGACTTAAAGACCAAT
SEQ ID 55 (601) CCTAATGGCACTCAACGGTTTATTTATAATGGAAGACTTAAAGACCAAT
SEQ ID 57 (601) CCTAATAATACTCAACGTTTCATCTATAATGGAAGACTTAAAGAGACCAAT
SEQ ID 59 (601) CCTAATGGTACTCAACGGTTTATTTATAATGGAAGACTTAAAGACCAAT
SEQ ID 61 (601) CCTAATGGTACTCAACGGTTTATTTATAATGGGAGACTTAAAGACCAAT
SEQ ID 63 (601) CCTAATGGCACTCAACGGTTTATTTATAATGGAAGACTTAAAGACCGAT
SEQ ID 65 (601) CCTAATGGCACTCAACGGTTTATTTATAATGGAAGACTTAAAGACCAAT
SEQ ID 67 (601) CCTAATGGTACTCAACGGTTTATTTATAATGGAAGACTTAAAGACCAAT
SEQ ID 69 (601) CCTAATGGTACTCAACGGTTTATTTATAATGGAAGACTTAAAGACCAAT
SEQ ID 71 (601) CCTAATGGTACTCAACGGTTTATTTATAATGGAAGACTTAAAGACCAAT
651
651
SEQ ID 51 (651) TTCTAATGCATTGATGAAAATTGAGGCTGGCGCTCAGAACATCAGTATTC
SEQ ID 53 (651) TTCTAATGTGTTGATGAAAATTGAGGCGGGTGCTCCAAACATTAGTAATC
SEQ ID 55 (651) TTCTAATGTGTTGATGAAAATTGAGGCGGGTGCTCCAAACATTAGTAATC
SEQ ID 57 (651) TTCTAATGTGCTAATGAAAATTGAGGCTGGTGCTCAGAACATCAGTAGTC
SEQ ID 59 (651) TTCTAATGTGTTGATGAAAATTGAGGCGGGTGCTCCAAACATTAGTAATC
SEQ ID 61 (651) TTCTAATGTGTTGATGAAAATTGAGGCGGGTGCTCCAAACATTAGTACTC
SEQ ID 63 (651) TTCTAATGTGTTGATGAAAATCGAGGCGGGTGCTCCAAACATTAGTAATC
SEQ ID 65 (651) TTCTAATGTGTTGATGAAAATCGAGGCGGGTGCTCCAAACATTAGTAATC
SEQ ID 67 (651) TTCTAATGTGTTGATGAAAATTGAGGCGGGTGCTCCAAACATTAGTAATC
SEQ ID 69 (651) TTCTAATGTATTGATGAAAATTGAGGCGGGTGCTCCAAACATTAGTAATC
SEQ ID 71 (651) TTCTAATGTATTGATGAAAATTGAGGCGGGTGCTCCAAACATTAGTAATC
701
701
SEQ ID 51 (701) CAACAGTTTGCCTGATCTGGCAAATCAAACAACATGGTTATTTAATCCA
SEQ ID 53 (701) CAACAATACTACCTGATCCAGCAAATCAGACAACATGGCTATTTAATCCA
SEQ ID 55 (701) CAACAATACTACCTGATCCAGCAAATCAGACAACATGGCTATTTAATCCA
SEQ ID 57 (701) CAACAGTCTACCTGATCCGACAAATCAAACAACATGGCTATTTAATCCA
SEQ ID 59 (701) CAACAATACTACCTGATCCAGCAAATCAGACAACATGGCTATTTAATCCA
SEQ ID 61 (701) CAACAATACTACCTGATCCAGCAAATCAGACAACATGGCTATTTAATCCA
SEQ ID 63 (701) CAACAATACTACCTGATCCAGCAAATCAGACAACATGGCTGTTAATCCA
SEQ ID 65 (701) CAACAATACTACCTGATCCAGCAAATCAGACAACATGGCTATTTAATCCA
SEQ ID 67 (701) TAACAATACTACCTGATCCAGCAAATCAGACAACATGGCTATTTAATCCA
SEQ ID 69 (701) CAACAATACTACCTGATCCAGCAAATCAGACAACATGGCTATTTAATCCA
SEQ ID 71 (701) CAACAATACTACCTGATCCAGCAAATCAGACAACATGGCTATTTAATCCA

```

FIG. 9C (3/7)

		751	800
SEQ ID 51	(751)	GTGCAAGTAATGAATGGAACATTCTCTATTGAATTTTATAACAATGGACA	
SEQ ID 53	(751)	GTGCAGATAATGAATGGAACATTACTATTGAGTTTATAATAATGGGCA	
SEQ ID 55	(751)	GTGCAGATAATGAATGGAACATTACTATTGAGTTTATAATAATGGGCA	
SEQ ID 57	(751)	GTACAAGTAATGAATGGAACTTTACTATTGAGTTTATAATAATGGACA	
SEQ ID 59	(751)	GTACAGATAATGAATGGAACATTACTATTGAGTTTATAATAATGGGCA	
SEQ ID 61	(751)	GTACAGATAATGAATGGAACATTACTATTGAGTTTATAATAATGGGCA	
SEQ ID 63	(751)	GTGCAGATAATGAATGGAACATTACTATTGAGTTTATAATAATGGGCA	
SEQ ID 65	(751)	GTGCAGATAATGAATGGAACATTACTATTGAGTTTATAATAATGGGCA	
SEQ ID 67	(751)	GTACAAATAATGAATGGAACATTACTATTGAGTTTATAATAATGGGCA	
SEQ ID 69	(751)	GTACAGATAATGAATGGAACATTACTATTGAGTTTATAATAATGGGCA	
SEQ ID 71	(751)	GTACAGATAATGAATGGAACATTACTATTGAGTTTATAATAATGGGCA	
		801	850
SEQ ID 51	(801)	ACTAGTTGATATGATTAGAAATATGGGAGTAGTTACTGTTAGAACTTTTG	
SEQ ID 53	(801)	GTTAGTTGATTGATTAGAAATATGGGAGTAGTTACTGTTAGAACATTTTG	
SEQ ID 55	(801)	GTTAGTTGATTGATTAGAAATATGGGAGTAGTTACTGTTAGAACATTTTG	
SEQ ID 57	(801)	ATTAGTTGATATGATTAGAAACATGGGAGTAGTTACTGTTAGAACTTTTG	
SEQ ID 59	(801)	GTTAGTTGATTGAATTAGAAATATGGGAGTAGTTACTGTTAGAACATTTTG	
SEQ ID 61	(801)	GTTAGTTGATTGAATTAGAAATATGGGAGTAGTTACTGTTAGAACATTCG	
SEQ ID 63	(801)	GTTAGTTGATTGATTAGAAATATGGGAGTAGTTACTGTTAGAACATTTG	
SEQ ID 65	(801)	GTTAGTTGATTGATTAGAAATATGGGAGTAGTTACTGTTAGAACATTTG	
SEQ ID 67	(801)	GTTAGTTGATTGATTAGAAATATGGGAGTAGTTACTGTTAGAACATTTG	
SEQ ID 69	(801)	GTTAGTTGATTGATTAGAAATATGGGAGTAGTTACTGTTAGAACATTTG	
SEQ ID 71	(801)	GTTAGTTGATTGATTAGAAATATGGGAGTAGTTACTGTTAGAACATTTG	
		851	900
SEQ ID 51	(851)	ATTCTTACAGAATAACAATCGATGTGATTAGACCAGCAGCTATGACACAA	
SEQ ID 53	(851)	ATACGTACAGAATTACAATTGACATGATTAGACCAGCAACCATGACACAG	
SEQ ID 55	(851)	ATACGTACAGAATTACAATTGACATGATTAGACCAGCAACCATGACACAG	
SEQ ID 57	(851)	ATTCTTATAGAATAACAATTGATATGATCAGACCAGCAGCTATGACACAA	
SEQ ID 59	(851)	ATACGTACAGAATTACAATTGACATGATTAGACCAGCAGCCATGACACAG	
SEQ ID 61	(851)	ATACGTACAGAATTACAATTGACATGATTAGACCAGCAGCCATGACACAG	
SEQ ID 63	(851)	ATACGTACAGAATTACAATTGACATGATTAGACCAGCAACCATGACACAG	
SEQ ID 65	(851)	ATACGTACAGAATTACAATTGACATGATTAGACCAGCAACCATGACACAG	
SEQ ID 67	(851)	ATACGTACAGAATTACAATTGACATGATTAGACCAGCAGCCATGACACAG	
SEQ ID 69	(851)	ATACGTACAGAATTACAATTGACATGATTAGACCAGCAGCCATGACGCAG	
SEQ ID 71	(851)	ATACGTACAGAATTACAATTGACATGATTAGACCAGCAGCCATGACGCAG	
		901	950
SEQ ID 51	(901)	TACGTTTACAGAGAACATTCCCGCAAGGTGGTCCTTATCCATACCAAGCTGC	
SEQ ID 53	(901)	TATGTACAAAGACTGTTTCCACAGGGTGGCCCATATCAACATCAAGCCGC	
SEQ ID 55	(901)	TATGTACAAAGACTGTTTCCACAGGGTGGCCCATATCAACATCAAGCCGC	
SEQ ID 57	(901)	TACGTTTACAGAGAACATTCCCGCAAGGTGGTCCTTATCCATACCAAGCTGC	
SEQ ID 59	(901)	TATGTACAAAGACTGTTTCCACAGGGTGGCCCATATCAACATCAAGCCGC	
SEQ ID 61	(901)	TATGTACAAAGACTGTTTCCACAGGGTGGCCCATATCAACATCAAGCCGC	
SEQ ID 63	(901)	TATGTACAAAGACTGTTTCCACAGGGTGGCCCATATCAACATCAAGCCGC	
SEQ ID 65	(901)	TATGTACAAAGACTGTTTCCACAGGGTGGCCCATATCAACATCAAGCCGC	
SEQ ID 67	(901)	TATGTACAAAGACTGTTTCCACAGGGTGGCCCATATCAACATCAAGCCGC	
SEQ ID 69	(901)	TATGTTCAAAGACTGTTTCCACAGGGTGGCCCATATCAACATCAAGCCGC	
SEQ ID 71	(901)	TATGTTCAAAGACTGTTTCCACAGGGTGGCCCATATCAACATCAAGCCGC	
		951	1000
SEQ ID 51	(951)	ATACATGTTGACGCTCAGTGTATTAGATGCGACAACGGAATCTGTCTTAT	
SEQ ID 53	(951)	ATATATGATAACTCTTAGTATATTGGATGCCACAACAGAATCAGTCATGT	
SEQ ID 55	(951)	ATATATGATAACTCTTAGTATATTGGATGCCACAACAGAATCAGTCATGT	
SEQ ID 57	(951)	ATACATGTTGACACTCAGTGTATTAGATGCTACAACAGAATCTGTCTTAT	
SEQ ID 59	(951)	ATATATGATAACTCTTAGTATATTGGATGCCACAACAGAATCAGTCATGT	
SEQ ID 61	(951)	ATATATGATAACTCTTAGTATATTGGATGCCACAACAGAATCAGTCATGT	
SEQ ID 63	(951)	ATATATGATAACTCTTAGTATATTGGATGCCACAACAGAATCAGTCATGT	
SEQ ID 65	(951)	ATATATGATAACTCTTAGTATATTGGATGCCACAACAGAATCAGTCATGT	
SEQ ID 67	(951)	ATATATGATAACTCTTAGTATATTGGATGCCACAACAGAATCAGTCATGT	
SEQ ID 69	(951)	ATATATGATAACTCTTAGTATATTGGATGCCACAACAGAATCAGTCATGT	
SEQ ID 71	(951)	ATATATGATAACTCTTAGTATATTGGATGCCACAACAGAATCAGTCATGT	

FIG. 9C (4/7)

1001 1050

SEQ ID 51 (1001) GCGATTACACTCTGTGGATTATTCAATTGTTGCAAACGTTAGAAGAGAC
 SEQ ID 53 (1001) GTGATTACATTTCAGTAGATTATTCAATCGTCGCAAATGTCAGAAGAGAC
 SEQ ID 55 (1001) GTGATTACATTTCAGTAGATTATTCAATCGTCGCAAATGTCAGAAGAGAC
 SEQ ID 57 (1001) GCGATTACACTCTGTAGACTATTCAATTGTTGCAAACATTAGAAGAGAC
 SEQ ID 59 (1001) GTGATTACATTTCAGTAGATTATTCAATCGTCGCAAATGTCAGAAGAGAC
 SEQ ID 61 (1001) GTGATTACATTTCAGTAGATTATTCAATCGTCGCAAATGTCAGAAGAGAC
 SEQ ID 63 (1001) GTGATTACATTTCAGTAGATTATTCAATCGTCGCAAATGTCAGAAGAGAC
 SEQ ID 65 (1001) GTGATTACATTTCAGTAGATTATTCAATCGTCGCAAATGTCAGAAGAGAC
 SEQ ID 67 (1001) GTGATTACATTTCAGTAGATTATTCAATCGTCGCAAATGTCAGAAGAGAC
 SEQ ID 69 (1001) GTGATTACATTTCAGTAGATTATTCAATCGTCGCAAATGTCAGAAGAGAC
 SEQ ID 71 (1001) GTGATTACATTTCAGTAGATTATTCAATCGTCGCAAATGTCAGAAGAGAC

1051 1100

SEQ ID 51 (1051) TCAGCAATGCCAGCTGGAACAGTATTTCAACCAGGCTTTCCATGGGAACA
 SEQ ID 53 (1051) TCAGCAATGCCAGCTGGAACAGTATTTCAACCAGGATTTCCATGGGAACA
 SEQ ID 55 (1051) TCAGCAATGCCAGCTGGAACAGTATTTCAACCAGGATTTCCATGGGAACA
 SEQ ID 57 (1051) TCAGCAATGCCAGCTGGAACAGTATTTCAACCAGGATTTCCATGGGAACA
 SEQ ID 59 (1051) TCAGCAATGCCAGCTGGAACAGTATTTCAACCAGGCTTTCCATGGGAACA
 SEQ ID 61 (1051) TCAGCAATGCCAGCTGGAACAGTATTTCAACCAGGCTTTCCATGGGAACA
 SEQ ID 63 (1051) TCAGCAATGCCAGCTGGAACAGTATTTCAACCAGGATTTCCATGGGAACA
 SEQ ID 65 (1051) TCAGCAATGCCAGCTGGAACAGTATTTCAACCAGGATTTCCATGGGAACA
 SEQ ID 67 (1051) TCAGCAATGCCAGCTGGAACAGTATTTCAACCAGGCTTTCCATGGGAACA
 SEQ ID 69 (1051) TCAGCAATGCCAGCTGGAACAGTATTTCAACCAGGCTTTCCATGGGAACA
 SEQ ID 71 (1051) TCAGCAATGCCAGCTGGAACAGTATTTCAACCAGGCTTTCCATGGGAACA

1101 1150

SEQ ID 51 (1101) GACATTATCCAACCTACACTGTTGCTCAGGAGGATAATTTAGAAAGACTTT
 SEQ ID 53 (1101) GATATTATCCAACCTACACTGTTGCTCAGGAGGATAATTTAGAAAGACTTT
 SEQ ID 55 (1101) GATATTATCCAACCTACACTGTTGCTCAGGAGGATAATTTAGAAAGACTTT
 SEQ ID 57 (1101) GACATTATCCAACCTACACTGTTGCTCAGGAGGATAATTTAGAAAGACTTC
 SEQ ID 59 (1101) GATATTATCCAACCTACACTGTTGCTCAGGAGGATAATTTAGAAAGACTTT
 SEQ ID 61 (1101) GATATTATCCAACCTACACTGTTGCTCAGGAGGATAATTTAGAAAGACTTT
 SEQ ID 63 (1101) GATATTATCCAACCTACACTGTTGCTCAGGAGGATAATTTAGAAAGACTTT
 SEQ ID 65 (1101) GATATTATCCAACCTACACTGTTGCTCAGGAGGATAATTTAGAAAGACTTT
 SEQ ID 67 (1101) GATATTATCCAACCTACACTGTTGCTCAGGAGGATAATTTAGAAAGACTTT
 SEQ ID 69 (1101) GATATTATCCAACCTACACTGTTGCTCAGGAGGATAATTTAGAAAGACTTT
 SEQ ID 71 (1101) GATATTATCCAACCTACACTGTTGCTCAGGAGGATAATTTAGAAAGACTTT

1151 1182

SEQ ID 51 (1151) TACTAGTTGCGTCCGTGAAGAGAATGGTGATG
 SEQ ID 53 (1151) TGTTAGTTGCGTCTGTGAAGAGAATGGTGATG
 SEQ ID 55 (1151) TGTTAGTTGCGTCTGTGAAGAGAATGGTGATG
 SEQ ID 57 (1151) TACTAGTTGCGTCCGTGAAGAGAATGGTGATG
 SEQ ID 59 (1151) TGTTAGTTGCGTCTGTGAAGAGAATGGTGATG
 SEQ ID 61 (1151) TGTTAGTTGCGTCTGTGAAGAGAATGGTGATG
 SEQ ID 63 (1151) TGTTAGTTGCGTCTGTGAAGAGAATGGTGATG
 SEQ ID 65 (1151) TGTTAGTTGCGTCTGTGAAGAGAATGGTGATG
 SEQ ID 67 (1151) TGTTAGTTGCGTCTGTGAAGAGAATGGTGATG
 SEQ ID 69 (1151) TGTTAGTTGCGTCTGTGAAGAGAATGGTGATG
 SEQ ID 71 (1151) TGTTAGTTGCGTCTGTGAAGAGAATGGTGATG

	SEQ 51	SEQ 53	SEQ 55	SEQ 57	SEQ 59	SEQ 61	SEQ 63	SEQ 65	SEQ 67	SEQ 69	SEQ 71
SEQ 51		86	86	92	86	85	85	85	86	86	86
SEQ 53			100	87	99	99	100	100	99	99	99
SEQ 55				87	99	99	100	100	99	99	99
SEQ 57					87	86	86	86	87	87	87
SEQ 59						99	98	99	99	99	99
SEQ 61							98	99	98	98	98
SEQ 63								100	99	99	99
SEQ 65									99	99	99
SEQ 67										99	99
SEQ 69											100
SEQ 71											

FIG. 9C (5/7)

		1	50
SEQ ID 52	(1)	DVLFSAIAKTVSELKKKVVVGTIYTNVEDIIQQTNELIRTLNGNTFHTGGI	
SEQ ID 54	(1)	DVLFSAIAKTVSDLKKKVVVGTIYTNVEDIIQQTNELIRTLNGNTFHTGGI	
SEQ ID 56	(1)	DVLFSAIAKTVSDLKKKVVVGTIYTNVEDIIQQTNELIRTLNGNTFHTGGI	
SEQ ID 58	(1)	DVLFSAIAKTVSELKKKVVVGTIYTNVEDIIQQTNELIRTLNGNTFHTGGI	
SEQ ID 60	(1)	DVLFSAIAKTVSDLKKKVVVGTIYTNVEDIIQQTNELIRTLNGNTFHTGGI	
SEQ ID 62	(1)	DVLFSAIAKTVSDLKKKVVVGTIYTNVEDIIQQTNELIRTLNGNTFHTGGI	
SEQ ID 64	(1)	DVLFSAIAKTVSDLKKKVVVGTIYTNVEDIIQQTNELIRTLNGNTFHTGGI	
SEQ ID 66	(1)	DVLFSAIAKTVSDLKKKVVVGTIYTNVEDIIQQTNELIRTLNGNTFHTGGI	
SEQ ID 68	(1)	DVLFSAIAKTVSDLKKKVVVGTIYTNVEDIIQQTNELIRTLNGNTFHTGGI	
SEQ ID 70	(1)	DVLFSAIAKTVSDLKKKVVVGTIYTNVEDIIQQTNELIRTLNGNTFHTGGI	
SEQ ID 72	(1)	DVLFSAIAKTVSDLKKKVVVGTIYTNVEDIIQQTNELIRTLNGNTFHTGGI	
		51	100
SEQ ID 52	(51)	GTQPQKEWNFQLPQLGTTLLNLDNYYQATRSVIDYLASFIEAVCDDEIV	
SEQ ID 54	(51)	GTQPQKEWNFQLPQLGTTLLNLDNYYQATRSIIDYLASFIEAVCDDEIV	
SEQ ID 56	(51)	GTQPQKEWNFQLPQLGTTLLNLDNYYQATRSIIDYLASFIEAVCDDEIV	
SEQ ID 58	(51)	GTQPQKEWNFQLPQLGTTLLNLDNYYQATRSVIDYLASFIEAVCDDEIV	
SEQ ID 60	(51)	GTQPQKEWNFQLPQLGTTLLNLDNYYQATRSIIDYLASFIEAVCDDEIV	
SEQ ID 62	(51)	GTQPQKEWNFQLPQLGTTLLNLDNYYQATRSIIDYLTSFIEAVCDDEIV	
SEQ ID 64	(51)	GTQPQKEWNFQLPQLGTTLLNLDNYYQATRSIIDYLASFIEAVCDDEIV	
SEQ ID 66	(51)	GTQPQKEWNFQLPQLGTTLLNLDNYYQATRSIIDYLASFIEAVCDDEIV	
SEQ ID 68	(51)	GTQPQKEWNFQLPQLGTTLLNLDNYYQATRSIIDYLASFIEAVCDDEIV	
SEQ ID 70	(51)	GTQPQKEWNFQLPQLGTTLLNLDNYYQATRSIIDYLASFIEAVCDDEIV	
SEQ ID 72	(51)	GTQPQKEWNFQLPQLGTTLLNLDNYYQATRSIIDYLASFIEAVCDDEIV	
		101	150
SEQ ID 52	(101)	REASRNGMQPQSPALITLSSSKFKTINFNNSSQSIKNWSAQSRRENPVYE	
SEQ ID 54	(101)	REASRNGMQPQSPALIALSSAKFKTINFNNSSQSIKNWSAQSRRENPVYE	
SEQ ID 56	(101)	REASRNGMQPQSPALIALSSAKFKTINFNNSSQSIKNWSAQSRRENPVYE	
SEQ ID 58	(101)	REASRNGMQPQSPALIALSSSKFKTINFNNSSQSIKNWSAQSRRENPVYE	
SEQ ID 60	(101)	REASRNGMQPQSPALIALSSAKFKTINFNNSSQSIKNWSAQSRRENPVYE	
SEQ ID 62	(101)	REASRNGMQPQSPALIALSSAKFKTINFNNSSQSIKNWSAQSRRENPVYE	
SEQ ID 64	(101)	REASRNGMQPQSPALIALSSAKFKTINFNNSSQSIKNWSAQSRRENPVYE	
SEQ ID 66	(101)	REASRNGMQPQSPALIALSSAKFKTINFNNSSQSIKNWSAQSRRENPVYE	
SEQ ID 68	(101)	REASRNGMQPQSPALIALSSAKFKTINFNNSSQSIKNWSAQSRRENPVYE	
SEQ ID 70	(101)	REASRNGMQPQSPALIALSSAKFKTINFNNSSQSIKNWSAQSRRENPVYE	
SEQ ID 72	(101)	REASRNGMQPQSPALIALSSAKFKTINFNNSSQSIKNWSAQSRRENPVYE	
		151	200
SEQ ID 52	(151)	YKNPMIFEYRNSYILQRANPQFGIVMGLRYYTTGNTCQVAAFDSTFAENA	
SEQ ID 54	(151)	YKNPMVFEYRNSYILQRANAQYGNVMGLRYYTASNACQIAAFDSTLAENA	
SEQ ID 56	(151)	YKNPMVFEYRNSYILQRANAQYGNVMGLRYYTASNACQIAAFDSTLAENA	
SEQ ID 58	(151)	YKNPMIFEYRNSYILQRANPQFGIVMGLRYYTASNACQIAAFDSTFAENA	
SEQ ID 60	(151)	YKNPMVFEYRNSYILQRANAQYGNVMGLRYYTASNACQIAAFDSTLAENA	
SEQ ID 62	(151)	YKNPMVFEYRNSYILQRANAQYGNVMGLRYYTASNACQIAAFDSTLAENA	
SEQ ID 64	(151)	YKNPMVFEYRNSYILQRANAQYGNVMGLRYYTASNACQIAAFDSTLAENA	
SEQ ID 66	(151)	YKNPMVFEYRNSYILQRANAQYGNVMGLRYYTASNACQIAAFDSTLAENA	
SEQ ID 68	(151)	YKNPMVFEYRNSYILQRANAQYGNVMGLRYYTASNACQIAAFDSTLAENA	
SEQ ID 70	(151)	YKNPMVFEYRNSYILQRANAQYGNVMGLRYYTASNACQIAAFDSTLAENA	
SEQ ID 72	(151)	YKNPMVFEYRNSYILQRANAQYGNVMGLRYYTASNACQIAAFDSTLAENA	
		201	250
SEQ ID 52	(201)	PNNTQRFIYNGRLKRPISNVLKIEAGAQNISIPTVLPDLANQTTWLFNP	
SEQ ID 54	(201)	PNGTQRFIYNGRLKRPISNVLKIEAGAPNISNPTILPDPANQTTWLFNP	
SEQ ID 56	(201)	PNGTQRFIYNGRLKRPISNVLKIEAGAPNISNPTILPDPANQTTWLFNP	
SEQ ID 58	(201)	PNNTQRFIYNGRLKRPISNVLKIEAGAQNISPTVLPDPTNQTWLFNP	
SEQ ID 60	(201)	PNGTQRFIYNGRLKRPISNVLKIEAGAPNISNPTILPDPANQTTWLFNP	
SEQ ID 62	(201)	PNGTQRFIYNGRLKRPISNVLKIEAGAPNISPTILPDPANQTTWLFNP	
SEQ ID 64	(201)	PNGTQRFIYNGRLKRPISNVLKIEAGAPNISNPTILPDPANQTTWLFNP	
SEQ ID 66	(201)	PNGTQRFIYNGRLKRPISNVLKIEAGAPNISNPTILPDPANQTTWLFNP	
SEQ ID 68	(201)	PNGTQRFIYNGRLKRPISNVLKIEAGAPNISNPTILPDPANQTTWLFNP	
SEQ ID 70	(201)	PNGTQRFIYNGRLKRPISNVLKIEAGAPNISNPTILPDPANQTTWLFNP	
SEQ ID 72	(201)	PNGTQRFIYNGRLKRPISNVLKIEAGAPNISNPTILPDPANQTTWLFNP	

FIG. 9C (6/7)

251 300

SEQ ID 52 (251) VQVMNGTFSIEFYNNQQLVDMIRNMGVVTVRTFDSYRITIDVIRPAAMTQ
 SEQ ID 54 (251) VQIMNGTFTIEFYNNQQLVDLIRNMGVVTVRTFDYRITIDMIRPATMTQ
 SEQ ID 56 (251) VQIMNGTFTIEFYNNQQLVDLIRNMGVVTVRTFDYRITIDMIRPAAMTQ
 SEQ ID 58 (251) VQVMNGTFTIEFYNNQQLVDMIRNMGVVTVRTFDSYRITIDMIRPAAMTQ
 SEQ ID 60 (251) VQIMNGTFTIEFYNNQQLVDLIRNMGVVTVRTFDYRITIDMIRPAAMTQ
 SEQ ID 62 (251) VQIMNGTFTIEFYNNQQLVDLIRNMGVVTVRTFDYRITIDMIRPAAMTQ
 SEQ ID 64 (251) VQIMNGTFTIEFYNNQQLVDLIRNMGVVTVRTFDYRITIDMIRPATMTQ
 SEQ ID 66 (251) VQIMNGTFTIEFYNNQQLVDLIRNMGVVTVRTFDYRITIDMIRPATMTQ
 SEQ ID 68 (251) VQIMNGTFTIEFYNNQQLVDLIRNMGVVTVRTFDYRITIDMIRPAAMTQ
 SEQ ID 70 (251) VQIMNGTFTIEFYNNQQLVDLIRNMGVVTVRTFDYRITIDMIRPAAMTQ
 SEQ ID 72 (251) VQIMNGTFTIEFYNNQQLVDLIRNMGVVTVRTFDYRITIDMIRPAAMTQ

301 350

SEQ ID 52 (301) YVQRTFPQGGPYQQAAYMLTSLVDATTESVLCDSHSVDYSIVANVRRD
 SEQ ID 54 (301) YVQRLFPQGGPYQHQAAYMITLSILDATTESVMCDSHSVDYSIVANVRRD
 SEQ ID 56 (301) YVQRLFPQGGPYQHQAAYMITLSILDATTESVMCDSHSVDYSIVANVRRD
 SEQ ID 58 (301) YVQRTFPQGGPYQQAAYMLTSLVDATTESVLCDSHSVDYSIVANVRRD
 SEQ ID 60 (301) YVQRLFPQGGPYQHQAAYMITLSILDATTESVMCDSHSVDYSIVANVRRD
 SEQ ID 62 (301) YVQRLFPQGGPYQHQAAYMITLSILDATTESVMCDSHSVDYSIVANVRRD
 SEQ ID 64 (301) YVQRLFPQGGPYQHQAAYMITLSILDATTESVMCDSHSVDYSIVANVRRD
 SEQ ID 66 (301) YVQRLFPQGGPYQHQAAYMITLSILDATTESVMCDSHSVDYSIVANVRRD
 SEQ ID 68 (301) YVQRLFPQGGPYQHQAAYMITLSILDATTESVMCDSHSVDYSIVANVRRD
 SEQ ID 70 (301) YVQRLFPQGGPYQHQAAYMITLSILDATTESVMCDSHSVDYSIVANVRRD
 SEQ ID 72 (301) YVQRLFPQGGPYQHQAAYMITLSILDATTESVMCDSHSVDYSIVANVRRD

351 394

SEQ ID 52 (351) SAMPAGTVFQPGFPWEQILSNYTVAQEDNLERLLLVASVKRMVM
 SEQ ID 54 (351) SAMPAGTVFQPGFPWEQILSNYTVAQEDNLERLLLVASVKRMVM
 SEQ ID 56 (351) SAMPAGTVFQPGFPWEQILSNYTVAQEDNLERLLLVASVKRMVM
 SEQ ID 58 (351) SAMPAGTVFQPGFPWEQILSNYTVAQEDNLERLLLVASVKRMVM
 SEQ ID 60 (351) SAMPAGTVFQPGFPWEQILSNYTVAQEDNLERLLLVASVKRMVM
 SEQ ID 62 (351) SAMPAGTVFQPGFPWEQILSNYTVAQEDNLERLLLVASVKRMVM
 SEQ ID 64 (351) SAMPAGTVFQPGFPWEQILSNYTVAQEDNLERLLLVASVKRMVM
 SEQ ID 66 (351) SAMPAGTVFQPGFPWEQILSNYTVAQEDNLERLLLVASVKRMVM
 SEQ ID 68 (351) SAMPAGTVFQPGFPWEQILSNYTVAQEDNLERLLLVASVKRMVM
 SEQ ID 70 (351) SAMPAGTVFQPGFPWEQILSNYTVAQEDNLERLLLVASVKRMVM
 SEQ ID 72 (351) SAMPAGTVFQPGFPWEQILSNYTVAQEDNLERLLLVASVKRMVM

	SEQ 52	SEQ 54	SEQ 56	SEQ 58	SEQ 60	SEQ 62	SEQ 64	SEQ 66	SEQ 68	SEQ 70	SEQ 72
SEQ 52		91	91	96	91	91	91	91	91	91	91
SEQ 54			100	93	100	99	100	100	99	100	100
SEQ 56				93	100	99	100	100	100	100	100
SEQ 58					93	93	93	93	93	93	93
SEQ 60						99	100	100	100	100	100
SEQ 62							99	99	99	99	99
SEQ 64								100	99	100	100
SEQ 66									99	100	100
SEQ 68										100	100
SEQ 70											100
SEQ 72											

FIG. 9C (7/7)

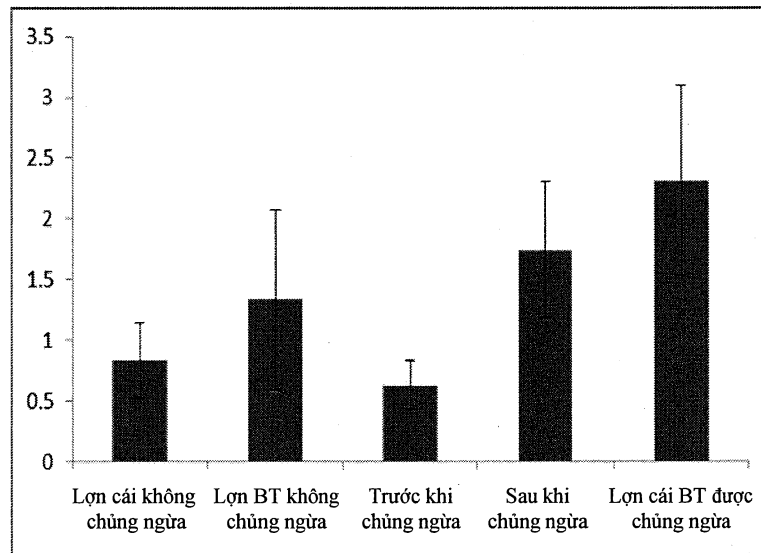


FIG. 10

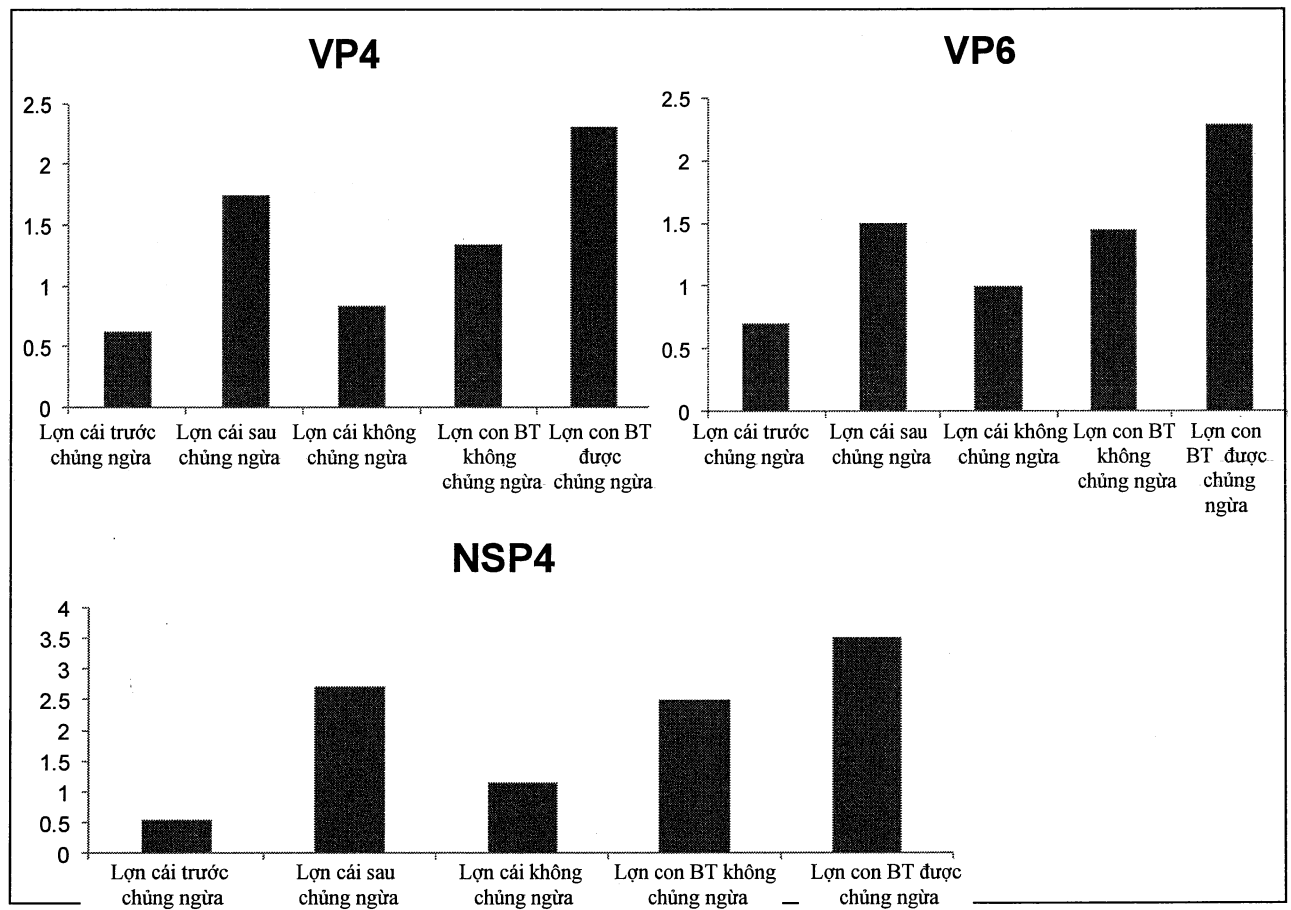
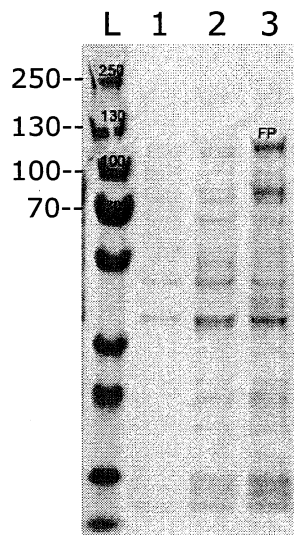
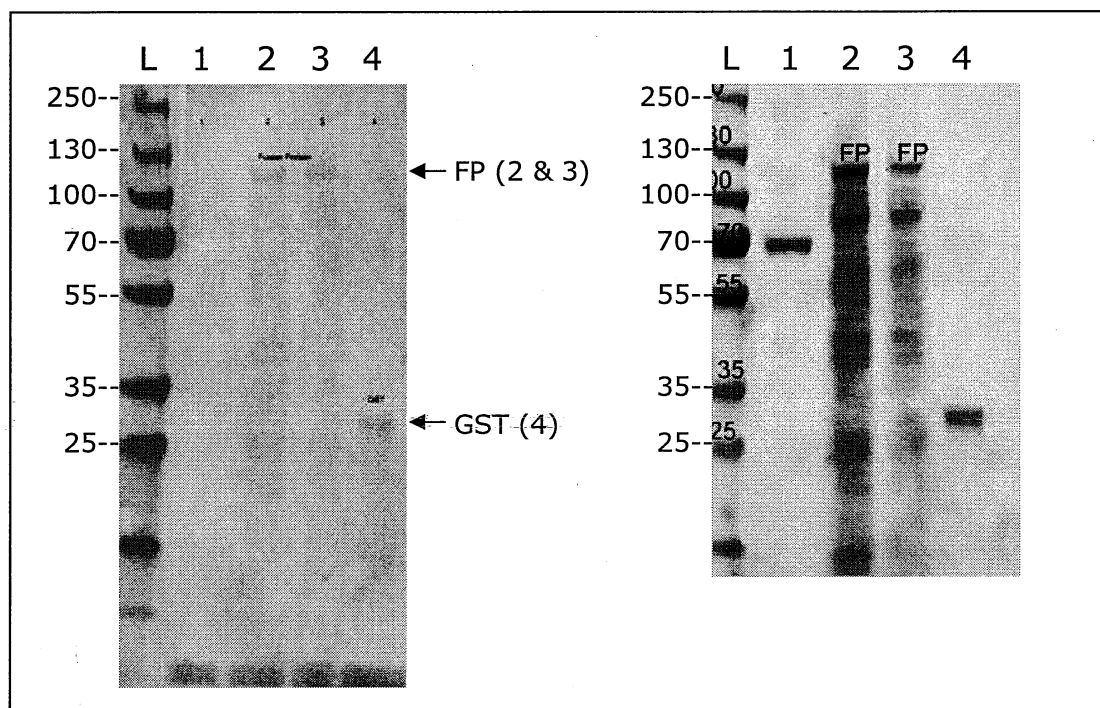


FIG. 11

**FIG. 12****FIG. 13**

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Merial

Bey, Russell

Sirigireddy, Kamesh

Hause, Benjamin

Simonson, Randy

<120> CHẾ PHẨM MIỄN DỊCH VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT CHẾ PHẨM NÀY

<130> MER 2012-192

<160> 99

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 5932

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Plasmid pStaby1

<400> 1

tggcgaatgg gacgcgccct gtagcggcgc attaacgcgc gcgggtgtgg tggttacgcg 60

cagcgtgacc gctacacttg ccagcgccct agcgcgccgt ccttctgctt tcttcccttc 120

cttctcgcc acgttcgccg gcttccccc tcaagctcta aatcgggggc tcccttagg 180

gttccgattt agtgccttac ggcacctga ccccaaaaaa ctgattagg gtgatggtc 240

acgtagtggg ccatcgccct gatagacggt tttcgcct tgacgttg agtccagtt 300

ctttaatagt ggactcttgt tccaaactgg aacaacactc aaccctatct cggctcttcc 360

tttgattta taagggattt tgccgatttc ggcctattgg ttaaaaaat agctgattta 420

acaaaaattt aacgcgaatt ttaacaaaat attaacgttt acaatttcag gtggcacttt 480

tcggggaaat gtgcgcggaa cccctatttg tttattttc taaatacatt caaatatgta 540

tccgctcatg agacaataac cctgataaat gcttcaataa tattgaaaaa ggaagagtat 600

gagtattcaa catttccgtg tcgcccttat tcccttttt gcggcatttt gccttctgt 660

ttttgctcac ccagaaacgc tggtgaaagt aaaagatgct gaagatcagt tgggtgcacg 720

agtgggttac atcgaactgg atctcaacag cggtaagatc ctgagagtt ttcgccccga 780

agaacgtttt ccaatgatga gcacttttaa agttctgcta tgtggcgcgg tattatcccg 840

tattgacgcc gggcaagagc aactcggctg ccgcatacac tattctcaga atgacttgg 900

tgagtactca ccagtcacag aaaagcatct tacggatggc atgacagtaa gagaattatg 960

cagtgtgcc ataacctga gtgataacac tgcggccaac ttacttctga caacgatcgg 1020

DANH MỤC TRÌNH TỰ

aggaccgaag gagtaaccg ctttttgca caacatgggg gatcatgtaa ctcgccttga	1080
tcgttgggaa cgggagctga atgaagccat accaaacgac gagcgtgaca ccacgatgcc	1140
tgcagcaatg gcaacaacgt tgcgcaaact attactggc gaactactta ctctagcttc	1200
ccggcaacaa ttaatagact ggatggaggc ggataaagt gcaggaccac ttctgcgctc	1260
ggcccttccg gctggctggt ttattgctga taaatctgga gccggtgagc gtgggtctcg	1320
cggatcatt gcagcactgg ggccagatgg taagccctcc cgtatcgtag ttatctacac	1380
gacggggagt caggcaacta tggatgaacg aaatagacag atcgtgaga taggtgcctc	1440
actgattaag cattggaac tgcagacca agtttactca tatatacttt agattgattt	1500
aaaactcat tttaattta aaaggatcta ggtgaagatc cttttgata atctcatgac	1560
caaatccct taacgtgagt ttctgtcca ctgagcgtca gaccccgtag aaaagatcaa	1620
aggatctct tgagatcctt ttttctgcg cgtaatctgc tgcttgcaaa caaaaaaac	1680
accgctacca gcggtggttt gtttccgga tcaagagcta ccaactctt ttccgaaggt	1740
aactggcttc agcagagcgc agataccaaa tactgtcctt ctagttagc cgtagttagg	1800
ccaccacttc aagaactctg tagcacgcc tacatactc gctctgctaa tctgttacc	1860
agtggtgct gccagtggcg ataagctgtg tcttaccggg ttggactcaa gacgatagtt	1920
accggataag gcgcagcggg cgggctgaac ggggggttcg tgcacacagc ccagcttgga	1980
gcgaacgacc tacaccgaac tgagatacct acagcgtgag ctatgagaaa gcgccacgct	2040
tccgaaggag agaaaggcgg acaggtatcc ggtaagcggc agggtcggaa caggagagcg	2100
cacgaggag cttccagggg gaaacgcctg gtatctttat agtcctgtcg ggtttcgcca	2160
cctctgactt gagcgtcgat ttttgtgatg ctgctcaggg gggcggagcc tatggaaaaa	2220
cgccagcaac gcggcctttt tacggttctt ggccttttgc tggcctttg ctcacatggt	2280
ctttctgcg ttatccctg attctgtgga taaccgtatt accgccttg agtgagctga	2340
taccgctcgc cgcagccgaa cgaccgagc cagcgagtca gtgagcgagg aagcggaaga	2400
gcgcctgatg cggtattttc tccttacgca tctgtcgggt atttacacc gcatatatgg	2460
tgcactctca gtacaatctg ctctgatgcc gcatagttaa gccagtatac actccgctat	2520
cgtacgtga ctgggtcatg gctgcgcccc gacaccgcc aacaccgct gacgcgccct	2580
gacgggcttg tctgtcccg gcatccgctt acagacaagc tgtgaccgtc tccgggagct	2640
gcatgtgtca gaggtttca ccgtcatcac cgaacgcgc gaggcagctg cggtaaagct	2700
catcagcgtg gtcgtgaagc gattcacaga tgtctgcctg ttcatccgcg tccagctcgt	2760
tgagttctc cagaagcgtt aatgtctggc ttctgataaa gcgggccatg ttaaggcgcg	2820

DANH MỤC TRÌNH TỰ

tttttcctg ttggtcact gatgcctccg tgtaaggggg atttctgttc atgggggtaa 2880
 tgataccgat gaaacgagag aggatgtcga cgatacgggt tactgatgat gaacatgccc 2940
 gggtactgga acgttgtgag ggtaaacaaac tggcggtatg gatgcggcgg gaccagagaa 3000
 aaatcactca gggtaaatgc cagcgcttcg ttaatacaga ttaggtgtt ccacagggtta 3060
 gccagcagca tcctgcgatg cagatccgga acataatggg gcagggcgct gacttccgag 3120
 ttccagact ttacgaaca cggaaccga agaccattca tgtgttgc cagtcgcag 3180
 acgtttgca gcagcagtcg cttcacgttc gtcgcgtat cgggtattca ttctgtaac 3240
 cagtaaggca accccgccag ctagccggg tcctcaacga caggagcacg atcatgcga 3300
 cccgtggggc cgccatgccg gcgataatgg cctgcttct gccgaacgt ttgtggcgg 3360
 gaccagtac gaagcctga gcgagggcg gcaagattcc gaataccga agcgacaggc 3420
 cgatcatcgt cgcgtccag cgaaagcgt cctcgccga aatgaccag agcgtgccg 3480
 gcacctgtcc tacgagttgc atgataaga agacagtc atgtgcggcg acgatatga 3540
 tgccccgcg ccaccggaag gagctgactg ggtgaaggc tctcaaggcg atcgctcag 3600
 atcccgtgc ctaatgagtg agtaactta cattaattgc gttgcgtca ctgccgctt 3660
 tccagtcggg aaacctgtcg tgccagtcg attaataat cgccaacgc gcggggagag 3720
 gcggttgcg tattgggcgc cagggtggtt ttctttca ccagtgcagc gggcaacagc 3780
 tgattgccct tcaccgctg gccctgagag agttgcagca agcgtccac gctggttgc 3840
 cccagcaggc gaaaatcctg ttgatggtg gtaacggcg ggatataaca tgagctgtct 3900
 tcggtatcgt cgtatccac taccagata tccgcacaa cgcgcagccc ggactcgta 3960
 atggcgcga ttgcgccag cgccatcga tcgttgcaa ccagcatcgc agtgggaacg 4020
 atgccctcat tcagcattg catggttgt tgaaccgg acatggcact ccagtcgct 4080
 tccgttccg ctatcgctg aatttgattg cgagtgcag atttatgcca gccagccaga 4140
 cgcagacgcg ccgagacaga actaatggg cccgctaaca gcgcgattg ctggtgacc 4200
 aatgcgacca gatgtccac gccagtcgc gtaccgtct catggagaa aataactg 4260
 ttgatgggtg tctggtcaga gacatcaaga aataacgccc gaacattag gcaggcagct 4320
 tccacagca tggcatcctg gtcacccag ggatagtaa tgatagccc actgacgcgt 4380
 tgcgcgagaa gattgtcac cgccgttta caggcttga cgccgttcg ttctaccatc 4440
 gacaccacca cgctggcacc cagttgatc gcgcgagatt taatcgccg gacaattgc 4500
 gacggcgcgt gcagggccag actggagtg gcaacgcaa tcagcaaga ctgttgccc 4560
 gccagttgt gtgccacgc gttgggaatg taattcagct ccgcatcgc cgcttccact 4620

DANH MỤC TRÌNH TỰ

tttcccgcg ttttcgcaga aacgtggctg gcctgggtca ccacgcggga aacgtgtga 4680
 taagagacac cggcatactc tgcgacatcg tataacgtta ctggtttcac attcaccacc 4740
 ctgaattgac tctctcccg gcgctatcat gccataccgc gaaagggttt gcgccattcg 4800
 atgggtgccg ggatctcgac gctctccctt atgcgactcc tgcattagga agcagcccag 4860
 tagtaggttg aggccgttga gcaccgccgc cgcaaggaaat ggtgcatgct caccagtccc 4920
 tgttctcgtc agcaaaagag ccgttcattt caataaacgc ggcgacctca gccatccctt 4980
 cctgatttcc cgtttccag cgttcggcac gcagacgacg ggcttcattc tgcattggtg 5040
 tgcttaccag accggagata ttgacatcg atgccttgag caactgatag ctgtcgtgtg 5100
 caactgtcac tgtaatacgc tgcttcacgc ctgccccctc cttttggtgt ccaaccggct 5160
 cgacgggggc agcgcaaggc ggtgcctccg gcggggccact caatgcttga gtatactcac 5220
 tagactttgc ttgcгааagt cgtgaccgcc tacggcgggt gcggcgccct acgggcttgc 5280
 tctccgggct tcgccctgcg cgtgcgtgc gctccctgc cagcccgtgg atatgtggac 5340
 gatggccgcg agcgggccacc ggctggctcg ctctgctcgg cccgtggaca acgcatgcaa 5400
 ggagatggcg cccaacagtc ccccgccac ggggcctgcc accatacca cgccgaaaca 5460
 agcgctcatg agcccgaagt ggcgagcccg atcttcccca tcggtgatgt cgcgatata 5520
 ggcgccagca accgcacctg tggcgccggt gatgccggcc acgatgcgtc cgcgtagag 5580
 gatcgagatc tcgatccgcg gaaattaata cgactacta taggggaatt gtgagcggat 5640
 aacaattccc ctctagaat aattttgtt aactttaaga aggagatata catatggta 5700
 gcatgactgg tggacagcaa atgggtcgcg gatccgaatt cgagctccgt cgacaagctt 5760
 gcggccgcac tcgagacca ccaccaccac cactgagatc cggctgctaa caaagcccga 5820
 aagggaagctg agttggctgc tgccaccgct gagcaataac tagcataacc cttggggcc 5880
 tctaacggg tcttgagggg tttttgctg aaaggaggaa ctatatccg at 5932

<210> 2

<211> 29

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> đoạn mồi NdeI GST xuôi

<400> 2

gtccatatgt cccctatact aggttattg

29

<210> 3

<211> 30

<212> ADN

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> đoạn mồi BamHI GST ngược

<400> 3

gtcggatccg gatccacgcg gaaccagatc

30

<210> 4

<211> 28

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> đoạn mồi xuôi khuyết gen AMPR

<400> 4

actcttctt ttccaatatt attgaagc

28

<210> 5

<211> 28

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> đoạn mồi ngược khuyết gen AMPR

<400> 5

ctgtcagacc aagtttactc atatatac

28

<210> 6

<211> 29

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> đoạn mồi xuôi kiểm tra bởi PCR

<400> 6

ctcgatcccg cgaaattaat acgactcac

29

<210> 7

<211> 29

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> đoạn mồi ngược kiểm tra bởi PCR

<400> 7

cagccaactc agcttccttt cgggctttg

29

<210> 8

<211> 32

<212> ADN

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> NSP4 xuôi với đoạn mỗi vị trí BamHI

<400> 8

gggtccgcgt ggatccatca cctcaaaaac tg

32

<210> 9

<211> 37

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> vị trí HindIII NSP4 ngược

<400> 9

gtgcggccgc aagcttcat agacaaactt ccgtctc

37

<210> 10

<211> 35

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP4 xuôi với đoạn mỗi vị trí BamHI

<400> 10

gggtccgcgt ggatccaggg cgtcctcact ttatc

35

<210> 11

<211> 35

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP4 ngược với đoạn mỗi vị trí BamHI

<400> 11

gtgcggccgc aagcttttat aacaccatca ttctc

35

<210> 12

<211> 35

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP6 xuôi với đoạn mỗi vị trí BamHI

<400> 12

gggtccgcgt ggatccgacg tgctgttttc aattg

35

<210> 13

<211> 35

<212> ADN

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP4 ngược với đoạn mỗi vị trí HindIII

<400> 13

gtgcggccgc aagcttctac atcaccattc tcttc

35

<210> 14

<211> 5071

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> pNPL1 plasmid (pStaby1 less the AmpR gene)

<400> 14

tggcgaatgg gacgcgcct gtagcggcgc attaacgcgc ggggtgtgg tggttacgcg 60

cagcgtgacc gctacactg ccagcgcct agcggccgct ctttcgctt tcttccttc 120

ctttctgcc acgttcgcg gctttcccg tcaagctcta aatcgggggc tcccttagg 180

gttccgattt agtgctttac ggcacctga ccccaaaaaa ctgattagg gtgatggttc 240

acgtagtggg ccatcgccct gatagacggg ttttcgccct ttgacgttg agtccacgtt 300

ctttaatagt ggactctgt tccaaactg aacaacactc aaccctatct cggctattc 360

ttttgattta taagggattt tgccgatttc ggcctattgg taaaaaatg agctgattta 420

acaaaaattt aacgcgaatt ttaacaaaat attaacgttt acaatttcag gtggcacttt 480

tcggggaaat gtgcgcggaa cccctatttg tttattttc taaatacatt caaatatgta 540

tccgtcatg agacaataac cctgataaat gctcaataa tattgaaaaa ggaagagtct 600

gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaatttcatt ttaatttaa 660

aaggatctag gtgaagatcc ttttgataa tctcatgacc aaaatccctt aacgtgagtt 720

ttcgttcac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt gagatccttt 780

ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaaacca ccgctaccag cgggtggttg 840

tttgccggat caagagctac caactcttt tccgaaggta actggcttca gcagagcgca 900

gataccaaat actgtccttc tagttagcc gtagttaggc caccacttca agaactctgt 960

agcaccgcct acatactcg ctctgctaatt cctgttacca gtggctgctg ccagtggcga 1020

taagtcgtgt ctaccgggt tggactcaag acgatatgta ccgataagg cgcagcggtc 1080

gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttgag cgaacgacct acaccgaact 1140

gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga gaaaggcgga 1200

caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc ttccaggggg 1260

DANH MỤC TRÌNH TỰ

aaacgcctgg tatcttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgactg agcgtcgatt	1320
tttgtatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg cggcctttt	1380
acggttctg gccttttgc ggcctttgc tcacatgttc ttctctcgt tatcccctga	1440
ttctgtgat aaccgtatta cgcctttga gtgagctgat accgctcgcc gcagccgaac	1500
gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcctgatgc ggtatttct	1560
ccttacgcat ctgtgcggta ttacacaccg catatatgtt gcactctcag tacaatctgc	1620
tctgatgcc catagttaag ccagtataca ctccgctatc gctacgtgac tgggtcatgg	1680
ctgcgccccg acacccgcca acacccgctg acgcgccctg acgggcttgt ctgctccgg	1740
catccgctta cagacaagct gtgaccgtct ccgggagctg catgtgtcag aggtttcac	1800
cgatcatcacc gaaacgcgcg aggcagctgc ggtaaagctc atcagcgtgg tcgtgaagcg	1860
attcacagat gtctgcctgt tcattccgct ccagctcgtt gagtttctcc agaagcgta	1920
atgtctggct tctgataaag cgggccatgt taaggcggt ttttctgt ttggtcactg	1980
atgcctccgt gtaaggggga ttctgttca tgggggtaat gafaccgatg aaacgagaga	2040
ggatgctcac gatacgggtt actgatgatg aacatgcccg gttactggaa cgttgtgagg	2100
gtaaacaaact ggcggtatgg atgcggcggg accagagaaa aatcactcag ggtcaatgcc	2160
agcgcttctg taatacagat gtagggttcc cacagggtag ccagcagcat cctgcgatgc	2220
agatccggaa cataatggtg caggcgctg acttccgctg ttccagactt tacgaaacac	2280
ggaaaccgaa gaccattcat gttgttctc aggtcgcaga cgttttcag cagcagtcgc	2340
ttcagttcg ctgcgtatc ggtgattcat tctgctaacc agtaaggcaa ccccgccagc	2400
ctagccgggt cctcaacgac aggagcacga tcatgcgcac ccgtggggcc gccatgccgg	2460
cgataatggc ctgcttctg ccgaaacgtt tgggtggcggg accagtgcg aaggcttgag	2520
cgaggcgctg caagattccg aataccgcaa gcgacaggcc gatcatcgtc gcgctccagc	2580
gaaagcggtc ctgcgcgaaa atgaccaga gcgctgccgg cacctgtcct acgagttgca	2640
tgataaagaa gacagtcata agtgccgca cgatagtcac gccccgcgc caccggaagg	2700
agctgactgg gttgaaggct ctcaaggca tcggtcgaga tcccggtgcc taatgagtga	2760
gctaacttac attaatgctg ttgcgctcac tgcccgttt ccagtcggga aacctgtcgt	2820
gccagctgca ttaatgaac ggccaacgcg cggggagagg cggtttgcgt attggcgccc	2880
agggtggtt ttctttcac cagtgcgac ggcaacagct gattgccctt caccgcctgg	2940
ccctgagaga gttgcagcaa gcggtccacg ctggtttgcc ccagcaggcg aaaatcctgt	3000
ttgatggtg ttaacggcgg gatataacat gagctgtctt cggtatcgtc gtatccact	3060

DANH MỤC TRÌNH TỰ

accgagatat ccgcaccaac gcgcagcccg gactcggtaa tggcgcgcat tgcgccagc	3120
gccatctgat cggtggcaac cagcatcgca gtgggaacga tgccctcatt cagcatttgc	3180
atggtttgtt gaaaaccgga catggcactc cagtcgcctt cccgttccgc tatcggctga	3240
atttgattgc gagtgagata ttatgccag ccagccagac gcagacgcgc cgagacagaa	3300
ctaatgggc ccgctaacag cgcgatttgc tggtagacca atgcgaccag atgctccacg	3360
cccagtcgcg taccgtcttc atgggagaaa ataatactgt tgatgggtgt ctggtcagag	3420
acatcaagaa ataacgccg aacattagt caggcagctt ccacagcaat ggcatcctgg	3480
tcaccagcg gatagtaat gatcagccca ctgacgcgtt gcgcgagaag attgtgcacc	3540
gccgctttac aggcttcgac gccgcttct tctaccatcg acaccaccac gctggcacc	3600
agttgatcgg cgcgagattt aatgccgcg acaatttgc acggcgcgtg cagggccaga	3660
ctggaggtgg caacgccaat cagcaacgac tgtttgccg ccagttgtg tgccacgcgg	3720
ttgggaatgt aattcagctc cgccatcgcc gcttccactt ttcccgcgt ttccgagaa	3780
acgtggctgg cctggttcac cagcgggaa acggtctgat aagagacacc ggcatactt	3840
gcgacatctg ataacgttac tggtttaca ttaccaccc tgaattgact ctctccggg	3900
cgctatcatg ccataccgcg aaaggtttg cgccattcga tgggtccgg gatctcgacg	3960
ctctccctta tgcgactcct gcattaggaa gcagcccagt agtaggtga ggccgttgag	4020
caccgccgccc gcaaggaatg gtgcatgctc accagtcctt gttctctca gcaaaagagc	4080
cgttcatttc aataaacgg gcgacctcag ccatcccttc ctgatttcc gctttccagc	4140
gttcggcacg cagacgacgg gcttcattct gcatggtgt gcttaccaga ccggagatat	4200
tgacatcgta tgccttgagc aactgatagc tgcgctgtc aactgtcact gtaatacgct	4260
gcttcatgcc tgccctccc ttttgggtgc caaccggctc gacgggggca gcgcaaggcg	4320
gtgcctccgg cgggccactc aatgcttgag tatactcact agactttgct tcgcaaagtc	4380
gtgaccgctt acggcggtg cggcgcccta cgggcttct ctccgggctt cgccctgcgc	4440
ggtcgctgcg ctcccttgcc agcccgtgga tatgtggacg atggccgca gcggccaccg	4500
gctggctcgc ttcgctcggc ccgtggacaa cgcatgcaag gagatggcgc ccaacagtcc	4560
cccgccacg gggcctgcca ccataccac gccgaacaa gcgctcatga gccggaagt	4620
gcgagccga tcttcccat cggatgatgc ggcgatagat gcgccagcaa ccgcacctgt	4680
ggcgccggtg atgccggcca cgatgcgtcc ggcgtagagg atcgagatct cgatcccgcg	4740
aaattaatac gactactat aggggaattg tgagcggata acaattcccc tctagaata	4800
attttgtta actttaagaa ggagataac atatggctag catgactggt ggacagaaa	4860

DANH MỤC TRÌNH TỰ

tgggtcgcgg atccgaattc gagctccgtc gacaagcttg cggccgcact cgagcaccac 4920
 caccaccacc actgagatcc ggctgctaac aaagcccga aggaagctga gttggctgct 4980
 gccaccgctg agcaataact agcataaccc ctggggcct ctaaacgggt cttgagggt 5040
 ttttctga aaggaggaac tatatccga t 5071

<210> 15

<211> 5707

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> pNPL2 SEQ ID NO:15

<400> 15

tggcgaatgg gacgcgcct gtagcggcgc attaagcgcg gcgggtgtgg tggttacgcg 60
 cagcgtgacc gctacacttg ccagcgcct agcggccgct ctttcgctt tcttccttc 120
 ctttctgcc acgttcgcc gtttccccg tcaagctcta aatcgggggc tcccttagg 180
 gtccgattt agtgctttac ggcacctga ccccaaaaaa cttgattagg gtgatggtc 240
 acgtagtggg ccatgcacct gatagacggt tttgcacct ttgacgttg agtccagtt 300
 ctttaatagt ggactcttgt tccaaactgg aacaacactc aacctatct cggctattc 360
 ttttgattta taagggttt tgccgatttc ggcctattgg ttaaaaaatg agctgattta 420
 acaaaaattt aacgcgaatt ttaacaaaat attaacgttt acaatttcag gtggcacttt 480
 tcggggaaat gtgcgggaa cccctatttg tttattttc taaatacatt caaatatga 540
 tccgctcatg agacaataac cctgataaat gctcaataa tattgaaaaa ggaagagtct 600
 gtcagaccaa gttactcat atatactta gattgattta aaacttcatt ttaatttaa 660
 aaggatctag gtgaagatcc ttttgataa tctcatgacc aaaatccctt aacgtgagtt 720
 ttcgtccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggaattctt gagatcctt 780
 tttctgcgc gtaatctgct gttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag cgtgtgttg 840
 ttgcccgat caagagctac caactcttt tccgaagta actggcttca gcagagcgca 900
 gataccaat actgtccttc tagttagcc gtagtaggc caccacttca agaactctgt 960
 agcaccgcct acatacctcg ctctgtaat cctgttacca gtggctgctg ccagtggcga 1020
 taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagta ccgataagg cgcagcggc 1080
 gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttgag cgaacgacct acaccgaact 1140
 gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga gaaaggcgga 1200
 caggtatccg gtaagcggca gggctggaac aggagagcgc acgaggagc ttccaggggg 1260

DANH MỤC TRÌNH TỰ

aaacgcctgg tatctttata gtctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg agcgtcgatt	1320
tttgtgatgc tcgtcagggg ggccggagcct atggaaaaac gccagcaacg cggccttttt	1380
acggttcctg gccttttgc ggcttttgc tcacatgttc ttctctcgt tatcccctga	1440
ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc gcagccgaac	1500
gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcctgatgc ggtattttct	1560
ccttacgcat ctgtgcggta ttacacacg catatatggt gcactctcag tacaatctgc	1620
tctgatgccg catagttaag ccagatata ctccgctatc gctacgtgac tgggtcatgg	1680
ctgcgccccg acacccgcca acacccgctg acgcgcctg acgggcttct ctgctcccg	1740
catccgctta cagacaagct gtgaccgtct ccgggagctg catgtgtcag aggttttcac	1800
cgctatcacc gaaacgcgcg aggcagctgc ggtaaaagctc atcagcgtgg tcgtgaagcg	1860
attcacagat gtctgcctgt tcatccgct ccagctcgtt gagtttctc agaagcgta	1920
atgtctggct tctgataaag cgggccatgt taaggcggt ttttctctt ttggtcactg	1980
atgcctccgt gtaaggggga ttctgttca tgggggtaat gataccgatg aaacgagaga	2040
ggatgctcac gatacgggtt actgatgatg aacatgcccg gttactggaa cgttgtgagg	2100
gtaacaact ggccgtatgg atgcggcggg accagagaaa aatcactcag ggtcaatgcc	2160
agcgcttctg taatacagat gtagggttcc cacagggtag ccagcagcat cctgcgatgc	2220
agatccggaa cataatggtg cagggcgctg acttccgctg ttccagactt tacgaaacac	2280
ggaaaccgaa gaccattcat gttgtgtc aggtcgcaga cgttttgag cagcagtcgc	2340
ttcacgttcg ctgcgtatc ggtgattcat tctgctaacc agtaaggcaa ccccgccagc	2400
ctagccgggt cctcaacgac aggagcacga tcatgcgcac ccgtggggcc gccatgccgg	2460
cgataatggc ctgcttctg ccgaaacgtt tgggtggcggg accagtgcg aaggcttgag	2520
cgagggcgtg caagattccg aataccgcaa gcgacaggcc gatcatcgtc gcgctccagc	2580
gaaagcgtc ctgccgaaa atgaccaga gcgctgccg cactgtcct acgagttgca	2640
tgataaagaa gacagtcata agtgccgca cgatagtcat gccccgcgc caccggaagg	2700
agctgactgg gttgaaggct ctcaagggca tcggtcgaga tcccggtgcc taatgagtga	2760
gctaacttac attaattgcg ttgcgtcac tgcccgttt ccagtcggga aacctgtcgt	2820
gccagctgca ttaatgaac ggccaacgcg cggggagagg cggtttgcgt attggcgcc	2880
agggtggttt ttctttcac cagtgcgac ggcaacagct gattgccctt caccgcctgg	2940
ccctgagaga gttgcagcaa gcggtccacg ctggtttgcc ccagcaggcg aaaatcctgt	3000
ttgatggtgg ttaacggcgg gatataacat gagctgtctt cggtatcgtc gtatccact	3060

DANH MỤC TRÌNH TỰ

accgagatat cgcaccaac gcgcagcccg gactcggtaa tggcgcgcat tgcgccagc 3120
 gccatctgat cgttggcaac cagcatcgca gtgggaacga tgcctcatt cagcattgc 3180
 atggtttgtt gaaaaccgga catggcactc cagtcgcctt cccgttcgc tateggctga 3240
 atttgattgc gagtgagata ttatgccag ccagccagac gcagacgcgc cgagacagaa 3300
 cttaatgggc ccgctaacag cgcgattgc tggtagacca atgcgaccag atgctccacg 3360
 cccagtcgcg taccgtcttc atgggagaaa ataatactgt tgatgggtgt ctggtcagag 3420
 acatcaagaa ataacgccg aacattagt caggcagctt ccacagcaat ggcatcctgg 3480
 tcaccagcg gatagtaat gatagccca ctgacgcgtt gcgcgagaag attgtgcacc 3540
 gccgctttac aggcttcgac gccgcttcgt tctaccatcg acaccaccac gctggcacc 3600
 agttgatcgg cgcgagattt aatcgccgcg acaatttgcg acggcgcgtg cagggccaga 3660
 ctggagggtg caacgccaat cagcaacgac tgttgcccg ccagttgtg tgccacgcgg 3720
 ttgggaatgt aattcagctc cgccatgcc gttccactt ttcccgcgt ttccgagaa 3780
 acgtggctgg cctggttcac cagcgggaa acggtctgat aagagacacc ggcatactt 3840
 gcgacatcgt ataacgttac tggttcaca ttcaccacc tgaattgact ctctccggg 3900
 cgctatcatg ccataccgag aaaggtttg cgccattcga tgggtccgg gatctgacg 3960
 ctctccctta tgcgactct cattaggaa gcagcccagt agtaggtga ggccgttag 4020
 caccgccgc gcaaggaatg gtgcatgctc accagtcct gttctcgtca gaaaagagc 4080
 cgttcatttc aataaaccgg gcgacctcag ccacccttc ctgatttcc gtttccagc 4140
 gttcggcag cagacgacgg gttcattct gcattgtgt gttaccaga ccgagatat 4200
 tgacatcga tgcctgagc aactgatagc tgcgctgc aactgtact gtaatacgt 4260
 gttcatgcc tgcctctcc ttttgggtc caaccggctc gacgggggca gcgcaaggcg 4320
 gtgcctccgg cgggaccact aatgcttag tatactact agacttgc tgcgaaagtc 4380
 gtgaccgctt acggcggctg cggcgcccta cgggcttgc ctccgggctt cgcctgcgc 4440
 ggctcgtcgc ctcccttgc agcccggtga tatgtggacg atggccgca gcggccaccg 4500
 gctggctgc ttcgctcgc ccgtggaca cgcatgcaag gagatggcg ccaacagtc 4560
 cccggccagc gggcctgcca ccataccac gccgaacaa gcgctcatga gccggaagt 4620
 gcgagcccga tcttcccat cgtgatgtc ggcgatag gcgcagcaa ccgacctgt 4680
 ggcgcgggtg atccggcca cgatgcgtc ggcgtagagg atcgagatct cgatccgcg 4740
 aaattaatac gactactat aggggaattg tgagcgata acaattccc tctagaata 4800
 attttgtta acttaagaa ggagataac atatgtccc tatactaggt tattgaaaa 4860

DANH MỤC TRÌNH TỰ

ttaagggcct tgtgcaacc actcgacttc ttttgaata tcttgaagaa aaatatgaag	4920
agcatttgta tgagcgcat gaaggtgata aatggcgaaa caaaaagttt gaattgggtt	4980
tggagtttcc caatcttctt tattatattg atggtgatgt taaattaaca cagtctatgg	5040
ccatcatagc ttatatagct gacaagcaca acatgttggg tgggtgtcca aaagagcgtg	5100
cagagatttc aatgcttga gtagcggttt tggatattag atacgggttt tcgagaattg	5160
catatagtaa agactttgaa actctcaag ttgattttct tagcaagcta cctgaaatgc	5220
tgaaaatgtt cgaagatcgt ttatgtcata aaacatattt aaatggtgat catgtaacc	5280
atctcgactt catgttgtat gacgctcttg atgtgtttt atacatggac ccaatgtgcc	5340
tggatgcgtt cccaaaatta gttgtttta aaaaacgtat tgaagctatc ccacaaattg	5400
ataagtactt gaaatccagc aagtatatag catggccttt gcagggctgg caagccacgt	5460
ttggtggtgg cgaccatcct ccaaaatcgg atctggttcc gcgtggatcc gaattcgagc	5520
tccgtcgaca agcttgcggc cgcactcgag caccaccacc accaccactg agatccggct	5580
gctaacaaag cccgaaagga agctgagttg gctgctgcca ccgctgagca ataactagca	5640
taacccttg gggcctctaa acgggtcttg aggggtttt tctgaaagg aggaactata	5700
tccggat	5707

<210> 16

<211> 687

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> GST amplicon tạo ra bằng cách sử dụng các SEQ ID NO 2 và 3 (các đoạn môi)

<400> 16

gtccatatgt cccctatact aggttattgg aaaattaagg gccttgtgca acccactcga	60
cttcttttgg aatatcttga agaaaaatat gaagagcatt tgtatgagcg cgatgaaggt	120
gataaatggc gaaacaaaaa gttgaattg gggttgaggt ttcccaatct tccttattat	180
attgatggtg atgttaaatt aacacagtct atggccatca tacgttatat agctgacaag	240
cacaacatgt tgggtggttg tccaaaagag cgtgcagaga ttcaatgct tgaaggagcg	300
gttttgata ttagatacgg tgttcgaga attgcatata gtaaagactt tgaaactctc	360
aaagttgatt ttcttagcaa gctacctgaa atgctgaaaa tgttcgaaga tcgtttatgt	420
cataaaacat atttaaatgg tgatcatgta acccatcctg acttcatgtt gtatgacgct	480
cttgatgttg tttatatac ggaccaatg tgcctggatg cgttcccaa attagtttgt	540
tttaaaaaac gtattgaagc tatccacaa attgataagt acttgaaatc cagcaagtat	600

DANH MỤC TRÌNH TỰ

atagcatggc cttgcaggg ctggcaagcc acgtttgggtg gtggcgacca tctccaaaa 660

tcggatctgg ttccgcgtgg atccgac 687

<210> 17

<211> 297

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> NSP4 phân lập 1

<400> 17

atcacctcaa aaactgtgat tggtaaattc aagactgaaa acaatattag tcatcagaat 60

gacgacattc ataaagaata tgaagaggtg atgaacaaa tgcgtgacat gagagttcat 120

gtaactgcac tatttaatat tatacataag gataatatgg agtggagaat gagtgaatcg 180

attcgacagag aaaagaagcg tgaatgaaa acaaatacgg tcgagaatga agttaagaat 240

cacgtagatg atgtaaatat atgtggtacg tctggattag agacggaagt ttgtcta 297

<210> 18

<211> 99

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> NSP4 phân lập 1

<400> 18

Ile Thr Ser Lys Thr Val Ile Gly Lys Phe Lys Thr Glu Asn Asn Ile

1 5 10 15

Ser His Gln Asn Asp Asp Ile His Lys Glu Tyr Glu Glu Val Met Lys

20 25 30

Gln Met Arg Asp Met Arg Val His Val Thr Ala Leu Phe Asn Ser Ile

35 40 45

His Lys Asp Asn Met Glu Trp Arg Met Ser Glu Ser Ile Arg Arg Glu

50 55 60

Lys Lys Arg Glu Met Lys Thr Asn Thr Val Glu Asn Glu Val Lys Asn

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Cys Leu

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<210> 19

<211> 297

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> NSP4 phân lập 63

<400> 19

atcacctcaa agactgtgat tagtaagttc aagactgaaa atgacattag ccaccagaac 60

aatgatatca ataaggaata tgaagagggtg atgaaacaaa tgcgtgaaat gagagttcat 120

atgactgcat tatttaatag tatacataaa gataatatgg agtggagaat gagtgaatca 180

attcgagag aaaagaagcg tgaatgaaa tcaaatacaa ccgggaatga agtcaagaat 240

cacaccaatg atgtaaatgt atgtgatacg tctggattag agacggaggt ttgtcta 297

<210> 20

<211> 99

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> NSP4 phân lập 63

<400> 20

Ile Thr Ser Lys Thr Val Ile Ser Lys Phe Lys Thr Glu Asn Asp Ile

1 5 10 15

Ser His Gln Asn Asn Asp Ile Asn Lys Glu Tyr Glu Glu Val Met Lys

20 25 30

Gln Met Arg Glu Met Arg Val His Met Thr Ala Leu Phe Asn Ser Ile

35 40 45

His Lys Asp Asn Met Glu Trp Arg Met Ser Glu Ser Ile Arg Arg Glu

50 55 60

Lys Lys Arg Glu Met Lys Ser Asn Thr Thr Gly Asn Glu Val Lys Asn

65 70 75 80

His Thr Asn Asp Val Asn Val Cys Asp Thr Ser Gly Leu Glu Thr Glu

85 90 95

Val Cys Leu

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<210> 21
 <211> 297
 <212> ADN
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> NSP4 phân lập 64

<400> 21
 atcacctcaa agactgtgat tagtaagttc aagactgaaa atgacattag ccaccagaac 60
 aacgatatca ataaggaata tgaagagggtg atgaacaaaa tgcgtgaaat gagagttcat 120
 atgactgcat tatttaatag tatacataaa gataatatgg aatggagaat gagtgaatca 180
 attcgcagag aaaagaagcg tgaaatgaaa tcaaatgcaa ccgggaatga agtcaagatt 240
 cacaccaatg atgtaaatgt atgtgatacg tctggattag agacggaggt ttgtcta 297

<210> 22
 <211> 99
 <212> PRT
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> NSP4 phân lập 64

<400> 22

Ile Thr Ser Lys Thr Val Ile Ser Lys Phe Lys Thr Glu Asn Asp Ile
 1 5 10 15

Ser His Gln Asn Asn Asp Ile Asn Lys Glu Tyr Glu Glu Val Met Lys
 20 25 30

Gln Met Arg Glu Met Arg Val His Met Thr Ala Leu Phe Asn Ser Ile
 35 40 45

His Lys Asp Asn Met Glu Trp Arg Met Ser Glu Ser Ile Arg Arg Glu
 50 55 60

Lys Lys Arg Glu Met Lys Ser Asn Ala Thr Gly Asn Glu Val Lys Ile
 65 70 75 80

His Thr Asn Asp Val Asn Val Cys Asp Thr Ser Gly Leu Glu Thr Glu
 85 90 95

Val Cys Leu

<210> 23

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<211> 297

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> NSP4 phân lập 66

<400> 23

atcacctcaa agactgtgat tagtaagttc aagactgaaa atgacattag ccaccagaac 60

aacgatatca ataaggaata tgaagaggtg atgaaacaaa tgcgtgaaat gagagttcat 120

atgactgcat tatttaatag tatacataaa gataatatgg agtggagaat gagtgaatca 180

attcgcagag aaaagaagcg tgaatgaaa tcaaatgcaa ccgggaatga agtcaagatt 240

cacaccaatg atgtaaatgt atgtgatacg tctggattag agacggaggt ttgtcta 297

<210> 24

<211> 99

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> NSP4 phân lập 66

<400> 24

Ile Thr Ser Lys Thr Val Ile Ser Lys Phe Lys Thr Glu Asn Asp Ile

1 5 10 15

Ser His Gln Asn Asn Asp Ile Asn Lys Glu Tyr Glu Glu Val Met Lys

20 25 30

Gln Met Arg Glu Met Arg Val His Met Thr Ala Leu Phe Asn Ser Ile

35 40 45

His Lys Asp Asn Met Glu Trp Arg Met Ser Glu Ser Ile Arg Arg Glu

50 55 60

Lys Lys Arg Glu Met Lys Ser Asn Ala Thr Gly Asn Glu Val Lys Ile

65 70 75 80

His Thr Asn Asp Val Asn Val Cys Asp Thr Ser Gly Leu Glu Thr Glu

85 90 95

Val Cys Leu

<210> 25

<211> 297

<212> ADN

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> NSP4 phân lập 67

<400> 25

atcacctcaa agactgtgat tagtaagttc aagactgaaa atgacattag ccaccagaac 60

aacgatatca ataaggaata tgaagaggta atgaacaaa tgcgtgaaat gagagttcat 120

atgactgcat tatTTaatag tatacataaa gataatatgg agtggagaat gagtgaatca 180

attcgagag aaaagaagcg tgaaatgaaa tcaaatgcaa ccgggaatga agtcaagaat 240

cacaccaatg atgtaaatgt atgtgatacg tctggattag agatggaggt ttgtcta 297

<210> 26

<211> 99

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> NSP4 phân lập 67

<400> 26

Ile Thr Ser Lys Thr Val Ile Ser Lys Phe Lys Thr Glu Asn Asp Ile

1 5 10 15

Ser His Gln Asn Asn Asp Ile Asn Lys Glu Tyr Glu Glu Val Met Lys

20 25 30

Gln Met Arg Glu Met Arg Val His Met Thr Ala Leu Phe Asn Ser Ile

35 40 45

His Lys Asp Asn Met Glu Trp Arg Met Ser Glu Ser Ile Arg Arg Glu

50 55 60

Lys Lys Arg Glu Met Lys Ser Asn Ala Thr Gly Asn Glu Val Lys Asn

65 70 75 80

His Thr Asn Asp Val Asn Val Cys Asp Thr Ser Gly Leu Glu Met Glu

85 90 95

Val Cys Leu

<210> 27

<211> 297

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<220>

<223> NSP4 phân lập 68

<400> 27

atcacctcaa agactgtgat tagtaagttc aagactgaaa atgacattag ccaccagaac 60

aacgatatca ataaggaata tgaagaggtg atgaaacaaa tgcgtgaaat gagagttcat 120

atgactgcat tatttaatag tatacataaa gataatatgg agtggagaat gagtgaatca 180

atccgcagag aaaagaagcg tgaatgaaa tcaaatgcaa ccgggaatga agtcaagaat 240

cacacgaatg atgtaaatgt atgtgatacg tctggattag agacggaggt ttgtcta 297

<210> 28

<211> 99

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> NSP4 phân lập 68

<400> 28

Ile Thr Ser Lys Thr Val Ile Ser Lys Phe Lys Thr Glu Asn Asp Ile

1 5 10 15

Ser His Gln Asn Asn Asp Ile Asn Lys Glu Tyr Glu Glu Val Met Lys

20 25 30

Gln Met Arg Glu Met Arg Val His Met Thr Ala Leu Phe Asn Ser Ile

35 40 45

His Lys Asp Asn Met Glu Trp Arg Met Ser Glu Ser Ile Arg Arg Glu

50 55 60

Lys Lys Arg Glu Met Lys Ser Asn Ala Thr Gly Asn Glu Val Lys Asn

65 70 75 80

His Thr Asn Asp Val Asn Val Cys Asp Thr Ser Gly Leu Glu Thr Glu

85 90 95

Val Cys Leu

<210> 29

<211> 297

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> NSP4 phân lập 69

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<400> 29
 atcacctcga agactgtgat tagtaagttc aagactgaaa atgacattag ccaccagaac 60
 aacgatatca ataaggaata tgaagaggtg atgaaacaaa tgcgtgaaat gagagttcat 120
 atgactgcat tatttaatat tatacataaa gataatatgg agtggagaat gagtgaatca 180
 atccgcagag aaaagaagcg tgaaatgaaa tcaaatgcaa ccgggaatga agtcaagaat 240
 cacaccaatg atgtaaatgt atgtgatacg tctggattag agacggaggt ttgtcta 297

<210> 30
 <211> 99
 <212> PRT
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> NSP4 phân lập 69

<400> 30

Ile Thr Ser Lys Thr Val Ile Ser Lys Phe Lys Thr Glu Asn Asp Ile
 1 5 10 15

Ser His Gln Asn Asn Asp Ile Asn Lys Glu Tyr Glu Glu Val Met Lys
 20 25 30

Gln Met Arg Glu Met Arg Val His Met Thr Ala Leu Phe Asn Ser Ile
 35 40 45

His Lys Asp Asn Met Glu Trp Arg Met Ser Glu Ser Ile Arg Arg Glu
 50 55 60

Lys Lys Arg Glu Met Lys Ser Asn Ala Thr Gly Asn Glu Val Lys Asn
 65 70 75 80

His Thr Asn Asp Val Asn Val Cys Asp Thr Ser Gly Leu Glu Thr Glu
 85 90 95

Val Cys Leu

<210> 31
 <211> 297
 <212> ADN
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> NSP4 phân lập 70

<400> 31

DANH MỤC TRÌNH TỰ

atcacctcaa agactgtgat tagtaagttc aagactgaaa atgacattag ccaccagaac 60
 aacgatatca ataaggaata tgaagagggtg atgaacaaa tgcgtgaaat gagagttcat 120
 atgactgcat tatttaatag tatacataaa gataatatgg agtggagaat gagtgaatca 180
 attcgcagag aaaagaaacg tgaaatgaaa tcaaatgcaa ccgggaatga agtcaagaat 240
 cacaccaatg atgtaaatgt atgtgatacg tctggattag agacggaggt ttgtcta 297

<210> 32
 <211> 99
 <212> PRT
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> NSP4 phân lập 70

<400> 32

Ile Thr Ser Lys Thr Val Ile Ser Lys Phe Lys Thr Glu Asn Asp Ile
 1 5 10 15

Ser His Gln Asn Asn Asp Ile Asn Lys Glu Tyr Glu Glu Val Met Lys
 20 25 30

Gln Met Arg Glu Met Arg Val His Met Thr Ala Leu Phe Asn Ser Ile
 35 40 45

His Lys Asp Asn Met Glu Trp Arg Met Ser Glu Ser Ile Arg Arg Glu
 50 55 60

Lys Lys Arg Glu Met Lys Ser Asn Ala Thr Gly Asn Glu Val Lys Asn
 65 70 75 80

His Thr Asn Asp Val Asn Val Cys Asp Thr Ser Gly Leu Glu Thr Glu
 85 90 95

Val Cys Leu

<210> 33
 <211> 297
 <212> ADN
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> NSP4 phân lập 71

<400> 33

atcacctcaa agactgtgat tagtaagttc aagactgaaa atgacattag ccaccagaac 60

DANH MỤC TRÌNH TỰ

aacgatatca ataaggaata tgaagagggtg atgaaacaaa tgcgtgaaat gagagttcat 120
 atgactgcat tatttaatag tatacataaa gataatatgg agtggagaat gagtgaatca 180
 attcgcagag aaaagaaacg tgaatgaaa tcaaatgcaa ccgggaatga agtcaagaat 240
 cacaccaatg atgtaaatgt atgtgatacg tctggattag agacggaggt ttgtcta 297

<210> 34

<211> 99

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> NSP4 phân lập 71 AA sequence

<400> 34

Ile Thr Ser Lys Thr Val Ile Ser Lys Phe Lys Thr Glu Asn Asp Ile
 1 5 10 15

Ser His Gln Asn Asn Asp Ile Asn Lys Glu Tyr Glu Glu Val Met Lys
 20 25 30

Gln Met Arg Glu Met Arg Val His Met Thr Ala Leu Phe Asn Ser Ile
 35 40 45

His Lys Asp Asn Met Glu Trp Arg Met Ser Glu Ser Ile Arg Arg Glu
 50 55 60

Lys Lys Arg Glu Met Lys Ser Asn Ala Thr Gly Asn Glu Val Lys Asn
 65 70 75 80

His Thr Asn Asp Val Asn Val Cys Asp Thr Ser Gly Leu Glu Thr Glu
 85 90 95

Val Cys Leu

<210> 35

<211> 297

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> NSP4 phân lập 72

<400> 35

atcacctcaa agactgtgat tagtaagttc aagactgaaa atgacattag ccaccagaac 60

aacgatatca ataaggaata tgaagagggtg atgaaacaaa tgcgtgaaat gagagttcat 120

DANH MỤC TRÌNH TỰ

atgactgcat tatttaatat tatacataaa gataatatgg agtggagaat gagtgaatca 180
 attcgagag aaaagaagcg tgaatatgaaa tcaaatgcaa ccgggaatga agtcaagatt 240
 cacaccaatg atgtaaatgt atgtgatacg tctggattag agacggaggt ttgtcta 297

<210> 36
 <211> 99
 <212> PRT
 <213> trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> NSP4 phân lập 72
 <400> 36

Ile Thr Ser Lys Thr Val Ile Ser Lys Phe Lys Thr Glu Asn Asp Ile
 1 5 10 15
 Ser His Gln Asn Asn Asp Ile Asn Lys Glu Tyr Glu Glu Val Met Lys
 20 25 30
 Gln Met Arg Glu Met Arg Val His Met Thr Ala Leu Phe Asn Ser Ile
 35 40 45
 His Lys Asp Asn Met Glu Trp Arg Met Ser Glu Ser Ile Arg Arg Glu
 50 55 60
 Lys Lys Arg Glu Met Lys Ser Asn Ala Thr Gly Asn Glu Val Lys Ile
 65 70 75 80
 His Thr Asn Asp Val Asn Val Cys Asp Thr Ser Gly Leu Glu Thr Glu
 85 90 95

Val Cys Leu

<210> 37
 <211> 297
 <212> ADN
 <213> trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> NSP4 phân lập 3882
 <400> 37
 atcacctcaa aaactgtgat tggtaaattc aagactgaaa acaatattag tcatcagaat 60
 gacgacattc ataaagaata tgaagaggtg atgaacaaa tgcgtgacat gagagttcat 120
 gtaactgcac tatttaatat tatacataag gataatatgg agtggagaat gagtgaatcg 180

DANH MỤC TRÌNH TỰ

attcgagag aaaagaagcg tgaatgaaa acaatacgg tcgagaatga agttaagaat 240

cacgtagatg atgtaaatat atgtgatacg tctggattag agacggaagt ttgtcta 297

<210> 38

<211> 99

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> NSP4 phân lập 3882

<400> 38

Ile Thr Ser Lys Thr Val Ile Gly Lys Phe Lys Thr Glu Asn Asn Ile
1 5 10 15

Ser His Gln Asn Asp Asp Ile His Lys Glu Tyr Glu Glu Val Met Lys
20 25 30

Gln Met Arg Asp Met Arg Val His Val Thr Ala Leu Phe Asn Ser Ile
35 40 45

His Lys Asp Asn Met Glu Trp Arg Met Ser Glu Ser Ile Arg Arg Glu
50 55 60

Lys Lys Arg Glu Met Lys Thr Asn Thr Val Glu Asn Glu Val Lys Asn
65 70 75 80

His Val Asp Asp Val Asn Ile Cys Asp Thr Ser Gly Leu Glu Thr Glu
85 90 95

Val Cys Leu

<210> 39

<211> 297

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> NSP4 phân lập 3509

<400> 39

atcacctcaa aaactgtgat tggtaaattc aagactgaaa atgacattag ccaccagaac 60

aacgatatca ataaggaata tgaagaggtg atgaaacaaa tgcgtgaaat gagagttcat 120

atgactgcat tatttaatag tatacataaa gataatatgg agtggagaat gagtgaatca 180

attcgagag aaaagaagcg tgaatgaaa tcaaatgcaa ccgggaatga agtcaagatt 240

DANH MỤC TRÌNH TỰ

cacaccaatg atgtaaatgt atgtgatacg tctggattag agacggaagt ttgtcta 297

<210> 40

<211> 99

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> NSP4 phân lập 3509

<400> 40

Ile Thr Ser Lys Thr Val Ile Gly Lys Phe Lys Thr Glu Asn Asp Ile
1 5 10 15

Ser His Gln Asn Asn Asp Ile Asn Lys Glu Tyr Glu Glu Val Met Lys
20 25 30

Gln Met Arg Glu Met Arg Val His Met Thr Ala Leu Phe Asn Ser Ile
35 40 45

His Lys Asp Asn Met Glu Trp Arg Met Ser Glu Ser Ile Arg Arg Glu
50 55 60

Lys Lys Arg Glu Met Lys Ser Asn Ala Thr Gly Asn Glu Val Lys Ile
65 70 75 80

His Thr Asn Asp Val Asn Val Cys Asp Thr Ser Gly Leu Glu Thr Glu
85 90 95

Val Cys Leu

<210> 41

<211> 732

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP4 phân lập 1

<400> 41

aggcgctcct cactttatca tcaattaatt tctcagaatt attattcaac tgggaatgag 60

atcttaaaag atttacaac gactaaaact actgttgact atgtagatgc tgggaattat 120

acatatgctc aattgccgcc aacgaagtgg ggagctggag ctaccttga atcagtcttt 180

agcgagctg aaataacagg accgcacaca aatagagtta tagagtggaa gaattacta 240

aattctgacc agtgggtgtg gtttccaaaa ccagctgaca cagttaaatt acttaaacat 300

DANH MỤC TRÌNH TỰ

ggacctcaaa catatgatag cactttagcg gcatgtgaat tgtggtatgg gaaggctaata 360
 actatagtga catcagaaca ctattcatca ttaagtata atcaggtgaa tgtaaatgcc 420
 gattcattag tattattttg gaatgctgga gggacaacat tcgataaaca aatagttaat 480
 ttgcttggg atatgggtgg aattctgatt aagccgtcaa gtcaacaacc tagattagat 540
 atatacatgg ccaacatgaa taatttcaat agtgataatt tcaattggga agagtggcgt 600
 ttacactac ctgcagtaa tgcaacaatt aacatataca ctgattatta cctagctagc 660
 agtgatccat acaatcagct gaaagaatta caacagtcaa ctattaccac attcgaaatg 720
 agaatgatgg tg 732

<210> 42
 <211> 244
 <212> PRT
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VP4 phân lập 1

<400> 42

Arg Ala Ser Ser Leu Tyr His Gln Leu Ile Ser Gln Asn Tyr Tyr Ser
 1 5 10 15

Thr Gly Asn Glu Ile Leu Lys Asp Leu Gln Thr Thr Lys Thr Thr Val
 20 25 30

Asp Tyr Val Asp Ala Gly Asn Tyr Thr Tyr Ala Gln Leu Pro Pro Thr
 35 40 45

Lys Trp Gly Ala Gly Ala Thr Phe Glu Ser Val Phe Ser Ala Ala Glu
 50 55 60

Ile Thr Gly Pro His Thr Asn Arg Val Ile Glu Trp Lys Asn Leu Leu
 65 70 75 80

Asn Ser Asp Gln Trp Leu Leu Phe Pro Lys Pro Ala Asp Thr Val Lys
 85 90 95

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

Glu Leu Trp Tyr Gly Lys Ala Asn Thr Ile Val Thr Ser Glu His Tyr
 115 120 125

Ser Ser Leu Ser Asp Asn Gln Val Asn Val Asn Ala Asp Ser Leu Val

DANH MỤC TRÌNH TỰ

130 135 140

Leu Phe Trp Asn Ala Gly Gly Thr Thr Phe Asp Lys Gln Ile Val Asn
 145 150 155 160

Phe Ala Trp Asp Met Gly Gly Ile Leu Ile Lys Pro Ser Ser Gln Gln
 165 170 175

Pro Arg Leu Asp Ile Tyr Met Ala Asn Met Asn Asn Phe Asn Ser Asp
 180 185 190

Asn Phe Asn Trp Glu Glu Trp Arg Phe Thr Leu Pro Arg Ser Asn Ala
 195 200 205

Thr Ile Asn Ile Tyr Thr Asp Tyr Tyr Leu Ala Ser Ser Asp Pro Tyr
 210 215 220

Asn Gln Leu Lys Glu Leu Gln Gln Ser Thr Ile Thr Thr Phe Glu Met
 225 230 235 240

Arg Met Met Val

<210> 43

<211> 735

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP4 phân lập 66

<400> 43

agggcgtcct cactttatca gcaattaatt tcacagaatt attattcaac tggaaatgat 60

attttactgg atcagcaaac aaataacaca actgttgact atagatat aggaaattat 120

tcgtatacac aattaccgcc gacatcatgg ggagcaggaa tgacttttaa gctgcattt 180

aatgcagagg aaattacagg acccaatata ggtgatatag attgaataa tttgacaaat 240

gcgaatgggt ggatattgta tgacaaacca actgatacaa aacgattgtt aaaactagga 300

ccagaaaagt atgacagtgt gtacgcagca ttcgaattat ggtatggtta agcaaatact 360

gtagtcacat caatatacta ttcacagtgt caaaactctg aaaacactgt aacagtacaa 420

catgactcat tagtgttatt cttaattgtt ggttatactg gtctaactaa gcaaatagtt 480

aaatttaact ggaatatggg aggcatatta gttagaccga ctgctgatgg tagagtggat 540

atttgtatgg ctgacatgaa tgattttaat agtgataatt ttaattggga atcttgga 600

DANH MỤC TRÌNH TỰ

cgtagtttc cacgtagcaa cattaacatg tacactgaat attatttagc gaatgtgat 660

ccatataatc aactaaaaat attaaaccaa ctaactgcaa aaaatgtaga aattagaatg 720

atgaaggcaa ttaag 735

<210> 44

<211> 245

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP4 phân lập 66

<400> 44

Arg Ala Ser Ser Leu Tyr Gln Gln Leu Ile Ser Gln Asn Tyr Tyr Ser
1 5 10 15

Thr Gly Asn Asp Ile Leu Leu Asp Gln Gln Thr Asn Asn Thr Thr Val
20 25 30

Asp Tyr Ile Asp Ile Gly Asn Tyr Ser Tyr Thr Gln Leu Pro Pro Thr
35 40 45

Ser Trp Gly Ala Gly Met Thr Phe Lys Ser Ala Phe Asn Ala Glu Glu
50 55 60

Ile Thr Gly Pro Asn Thr Gly Asp Ile Asp Leu Asn Asn Leu Thr Asn
65 70 75 80

Ala Asn Gly Trp Ile Leu Tyr Asp Lys Pro Thr Asp Thr Lys Arg Leu
85 90 95

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

Leu Trp Tyr Gly Lys Ala Asn Thr Val Val Thr Ser Ile Tyr Tyr Ser
115 120 125

Ser Val Gln Asn Ser Glu Asn Thr Val Thr Val Gln His Asp Ser Leu
130 135 140

Val Leu Phe Phe Asn Val Gly Tyr Thr Gly Leu Thr Lys Gln Ile Val
145 150 155 160

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

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Gly Arg Val Asp Ile Cys Met Ala Asp Met Asn Asp Phe Asn Ser Asp
 180 185 190

Asn Phe Asn Trp Glu Ser Trp Lys Arg Ser Phe Pro Arg Ser Asn Ile
 195 200 205

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

Leu Lys Ile Leu Asn Gln Leu Thr Ala Lys Asn Val Glu Ile Arg Met
 225 230 235 240

Met Lys Ala Ile Lys
 245

<210> 45
 <211> 735
 <212> ADN
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VP4 phân lập 71

<400> 45
 agggcgctcct cactttatca gcaattaatc tcacagaatt attattcaac tggaaatgat 60
 attttactgg atcagcaaac aaataacaca actgttgact atatagatat aggaaattac 120
 tcgtatacac aattacegcc gacatcatgg ggagcaggaa tgacttttaa gtctgcattt 180
 aatgcagagg aaattacagg acccaatacg ggtgatatag attgaataa ttgacaaat 240
 gcgaatggat ggatattgta tgacaaacca actgatacaa aacgattgtt aaaactagga 300
 ccagaaagtt atgacagtgt gtacgcagca ttcgaattat ggtatggtaa agcaaatact 360
 gtatgcacat caatatacta ttcatcagt caaaactctg aaaacactgt aacagtacag 420
 catgactcat tagtgttatt cttaatgtt ggttatactg gtctaactaa gcaaatagtt 480
 aaatttaatt ggaatatggg aggcatatta gtagaccga ctactgatgg tagagtggat 540
 atttgatgg ctgacatgaa tgattttagt agtgataatt ttaattggga atcttggaat 600
 cgtagtttc cacgtagcaa cattaacatg tacactgaat attatttagc gaatgttgat 660
 ccatataatc aactaaaaat attaaaccaa ctaactgcaa aaaatgtaga aattagaatg 720
 atgaaggcaa ttaag 735

<210> 46
 <211> 245
 <212> PRT

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP4 phân lập 71

<400> 46

Arg Ala Ser Ser Leu Tyr Gln Gln Leu Ile Ser Gln Asn Tyr Tyr Ser
1 5 10 15

Thr Gly Asn Asp Ile Leu Leu Asp Gln Gln Thr Asn Asn Thr Thr Val
20 25 30

Asp Tyr Ile Asp Ile Gly Asn Tyr Ser Tyr Thr Gln Leu Pro Pro Thr
35 40 45

Ser Trp Gly Ala Gly Met Thr Phe Lys Ser Ala Phe Asn Ala Glu Glu
50 55 60

Ile Thr Gly Pro Asn Thr Gly Asp Ile Asp Leu Asn Asn Leu Thr Asn
65 70 75 80

Ala Asn Gly Trp Ile Leu Tyr Asp Lys Pro Thr Asp Thr Lys Arg Leu
85 90 95

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

Leu Trp Tyr Gly Lys Ala Asn Thr Val Val Thr Ser Ile Tyr Tyr Ser
115 120 125

Ser Val Gln Asn Ser Glu Asn Thr Val Thr Val Gln His Asp Ser Leu
130 135 140

Val Leu Phe Phe Asn Val Gly Tyr Thr Gly Leu Thr Lys Gln Ile Val
145 150 155 160

Lys Phe Asn Trp Asn Met Gly Gly Ile Leu Val Arg Pro Thr Thr Asp
165 170 175

Gly Arg Val Asp Ile Cys Met Ala Asp Met Asn Asp Phe Ser Ser Asp
180 185 190

Asn Phe Asn Trp Glu Ser Trp Lys Arg Ser Phe Pro Arg Ser Asn Ile
195 200 205

Asn Met Tyr Thr Glu Tyr Tyr Leu Ala Asn Val Asp Pro Tyr Asn Gln

DANH MỤC TRÌNH TỰ

210

215

220

Leu Lys Ile Leu Asn Gln Leu Thr Ala Lys Asn Val Glu Ile Arg Met
 225 230 235 240

Met Lys Ala Ile Lys
 245

<210> 47

<211> 735

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP4 phân lập 3509

<400> 47

aggcgctcct cactttatca gcaattaatc tcacagaatt attattcaac tggaaatgat 60

attttactgg atcagcaaac aaataacaca actgttgact atatagatat aggaaattat 120

tcgtatacac aattaccgcc gacatcatgg ggagcaggaa tgacttttac gtctgcattt 180

aatgcagagg aaattacagg acccaatata ggtgatatag atttgaataa ttgacaaat 240

gcgaatgggt ggatattgta tgacaaacca actgatacaa aacgattgtt aaaactagga 300

ccagaaagtt atgacagtgt atacgcagca ttcgaattat ggtatggtta agcaaatact 360

gtagtacat caatatacta ttcacagtgc caaaactctg aaaacactgt aacagtacag 420

catgactcat tagtgttatt cttaaatgtt ggttatactg gtctaactaa gcaaatagtt 480

aaatttaact ggaatatggg aggcataatta gttagaccga ctactgatgg tagagtggat 540

atttgcattg ctgacatgaa tgattttaat agtgataatt ttaattggga atcttgaaa 600

cgtagtttc cacgtagcaa cattaacatg tacactgaat attatttagc gaatgttgat 660

ccatataatc aactaaaaat attaaaccaa ctaactgcaa aaaatgtaga aattagaatg 720

atgaaggcaa ttaag

735

<210> 48

<211> 245

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP4 phân lập 3509

<400> 48

Arg Ala Ser Ser Leu Tyr Gln Gln Leu Ile Ser Gln Asn Tyr Tyr Ser
 1 5 10 15

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Thr Gly Asn Asp Ile Leu Leu Asp Gln Gln Thr Asn Asn Thr Thr Val
20 25 30

Asp Tyr Ile Asp Ile Gly Asn Tyr Ser Tyr Thr Gln Leu Pro Pro Thr
35 40 45

Ser Trp Gly Ala Gly Met Thr Phe Thr Ser Ala Phe Asn Ala Glu Glu
50 55 60

Ile Thr Gly Pro Asn Thr Gly Asp Ile Asp Leu Asn Asn Leu Thr Asn
65 70 75 80

Ala Asn Gly Trp Ile Leu Tyr Asp Lys Pro Thr Asp Thr Lys Arg Leu
85 90 95

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

Leu Trp Tyr Gly Lys Ala Asn Thr Val Val Thr Ser Ile Tyr Tyr Ser
115 120 125

Ser Val Gln Asn Ser Glu Asn Thr Val Thr Val Gln His Asp Ser Leu
130 135 140

Val Leu Phe Phe Asn Val Gly Tyr Thr Gly Leu Thr Lys Gln Ile Val
145 150 155 160

Lys Phe Asn Trp Asn Met Gly Gly Ile Leu Val Arg Pro Thr Thr Asp
165 170 175

Gly Arg Val Asp Ile Cys Met Ala Asp Met Asn Asp Phe Asn Ser Asp
180 185 190

Asn Phe Asn Trp Glu Ser Trp Lys Arg Ser Phe Pro Arg Ser Asn Ile
195 200 205

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

Leu Lys Ile Leu Asn Gln Leu Thr Ala Lys Asn Val Glu Ile Arg Met
225 230 235 240

Met Lys Ala Ile Lys
245

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<210> 49
 <211> 735
 <212> ADN
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VP4 phân lập 3882

<220>
 <221> đặc tính misc
 <222> (59)..(59)
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> đặc tính misc
 <222> (690)..(690)
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> đặc tính misc
 <222> (699)..(700)
 <223> n is a, c, g, or t

<400> 49
 agggcgctcct cactttatca gcaattaatc tcacaaaatt attattcaac tgggaatgnt 60
 atattattgg atcagcaaac gaataaaaca actgttgatt atgtagatgt gggaaattat 120
 tcatafacac aattaccacc aacatcatgg ggagcaggaa tgacttttaa gtctgcattt 180
 aatgcagaag aaatgacggg acctaacaca ggtgatatag atctgagtaa tctcacaact 240
 gcgaatggat ggatattata tgagaagccg acaattacca aacgggtatt aaaactaggg 300
 ccagatgttt acgatagtgt ttatgccgca ttgaactgt ggtatggtaa agcaaataca 360
 gtagttacat caatatatta tgcatcagca caaaattctg agaatactgt aacattacag 420
 tatgactcat tagtactatt ttcaatggt gggtacactg gtctgactaa gcaaatagtt 480
 agatttaatt gggatattgg aggcataatta gttaggccaa ctgctgatgg tagagtagat 540
 atctgtatgg cagacatgaa tgattttagc agcgacaatt ttaattggga gaaatggact 600
 cgtagctttc cacgcagtaa tattaatatg tatgctgaat attacttagc aaatgttgac 660
 ccgtatagtc aaftaaaagc attaaatcan ctcaaacnn aaaatataga aattagaatg 720
 atgaagtcaa ttaag 735

<210> 50
 <211> 245
 <212> PRT
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VP4 phân lập 3882

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<220>
 <221> đặc tính misc
 <222> (20)..(20)
 <223> Xaa có thể là axit amin xuất hiện trong tự nhiên bất kỳ

<220>
 <221> đặc tính misc
 <222> (230)..(230)
 <223> Xaa có thể là axit amin xuất hiện trong tự nhiên bất kỳ

<220>
 <221> đặc tính misc
 <222> (233)..(234)
 <223> Xaa có thể là axit amin xuất hiện trong tự nhiên bất kỳ

<220>
 <221> đặc tính misc
 <222> (245)..(245)
 <223> Xaa có thể là axit amin xuất hiện trong tự nhiên bất kỳ

<400> 50

Arg Ala Ser Ser Leu Tyr Gln Gln Leu Ile Ser Gln Asn Tyr Tyr Ser
 1 5 10 15

Thr Gly Asn Xaa Ile Leu Leu Asp Gln Gln Thr Asn Lys Thr Thr Val
 20 25 30

Asp Tyr Val Asp Val Gly Asn Tyr Ser Tyr Thr Gln Leu Pro Pro Thr
 35 40 45

Ser Trp Gly Ala Gly Met Thr Phe Lys Ser Ala Phe Asn Ala Glu Glu
 50 55 60

Met Thr Gly Pro Asn Thr Gly Asp Ile Asp Leu Ser Asn Leu Thr Thr
 65 70 75 80

Ala Asn Gly Trp Ile Leu Tyr Glu Lys Pro Thr Ile Thr Lys Arg Leu
 85 90 95

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

Leu Trp Tyr Gly Lys Ala Asn Thr Val Val Thr Ser Ile Tyr Tyr Ala
 115 120 125

Ser Ala Gln Asn Ser Glu Asn Thr Val Thr Leu Gln Tyr Asp Ser Leu
 130 135 140

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Val Leu Phe Phe Asn Val Gly Tyr Thr Gly Leu Thr Lys Gln Ile Val
145 150 155 160

Arg Phe Asn Trp Asp Met Gly Gly Ile Leu Val Arg Pro Thr Ala Asp
165 170 175

Gly Arg Val Asp Ile Cys Met Ala Asp Met Asn Asp Phe Ser Ser Asp
180 185 190

Asn Phe Asn Trp Glu Lys Trp Thr Arg Ser Phe Pro Arg Ser Asn Ile
195 200 205

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

Leu Lys Ala Leu Asn Xaa Leu Thr Xaa Xaa Asn Ile Glu Ile Arg Met
225 230 235 240

Met Lys Ser Ile Xaa
245

<210> 51
<211> 1182
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> VP6 phân lập 1

<400> 51
gacgtgctgt ttcaattgc gaaaactgta tctgaactca aaaagaaagt ttagttggt 60
actatttaca ctaattgtaga agatataatt caacaaacca atgaactgat tagaactttg 120
aatggtaata cgtttcatac aggtgggtatt ggaacacagc ctcaggaaga gtggaatttt 180
caattaccgc agctaggtac gacactctta aatttagatg acaactatgt tcaagccact 240
agaagtgtta ttgattttt ggcttcattt atagaatcag tatgtgatga tgaaattgtc 300
agagaagcat ctagaatgg aatgcagcca cagtcgccag cactataac gctgtcatca 360
tcaaagtta agactatcaa cttaataac agttcacaat caattaaaaa ttggagtgtc 420
caatcaagac gtgaaaatcc agtctatgaa tacagaaatc caatgatatt cgaatataga 480
aattcatata ttcttcagcg tgctaatcca caatttgaa tcgtaatggg attgaggtat 540
tatacaactg gtaacacctg tcaagttgca gcttttgatt caacatttgc tgaaaatgct 600
cctaataata ctcaacgttt tatctataat ggaagactta agagaccaac ttctaattgca 660
ttgatgaaaa ttgaggctgg cgtcagaac atcagtattc caacagtttt gcctgatctg 720

DANH MỤC TRÌNH TỰ

gcaaatcaaa caacatgggtt attaatcca gtgcaagtaa tgaatggaac attctctatt 780
 gaattttata acaatggaca actagttgat atgattagaa atatgggagt agttactgtt 840
 agaacttttg attcttacag aataacaatc gatgtgatta gaccagcagc tatgacacaa 900
 tacgttcaga gaacattccc gcaaggtggt ccttatccat accaagctgc atacatgttg 960
 acgctcagtg tattagatgc gacaacggaa tctgtcctat gcgattcaca ctctgtggat 1020
 tattcaattg ttgcaaactg tagaagagac tcagcaatgc cagctggaac agtatttcaa 1080
 ccagggttcc catgggaaca gacattatcc aactacactg ttgctcagga agataattta 1140
 gaaagacttt tactagttgc gtccgtgaag agaattgtga tg 1182

<210> 52
 <211> 394
 <212> PRT
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VP6 phân lập 1

<400> 52

Asp Val Leu Phe Ser Ile Ala Lys Thr Val Ser Glu Leu Lys Lys Lys
 1 5 10 15

Val Val Val Gly Thr Ile Tyr Thr Asn Val Glu Asp Ile Ile Gln Gln
 20 25 30

Thr Asn Glu Leu Ile Arg Thr Leu Asn Gly Asn Thr Phe His Thr Gly
 35 40 45

Gly Ile Gly Thr Gln Pro Gln Glu Glu Trp Asn Phe Gln Leu Pro Gln
 50 55 60

Leu Gly Thr Thr Leu Leu Asn Leu Asp Asp Asn Tyr Val Gln Ala Thr
 65 70 75 80

Arg Ser Val Ile Asp Tyr Leu Ala Ser Phe Ile Glu Ser Val Cys Asp
 85 90 95

Asp Glu Ile Val Arg Glu Ala Ser Arg Asn Gly Met Gln Pro Gln Ser
 100 105 110

Pro Ala Leu Ile Thr Leu Ser Ser Ser Lys Phe Lys Thr Ile Asn Phe
 115 120 125

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Asn Asn Ser Ser Gln Ser Ile Lys Asn Trp Ser Ala Gln Ser Arg Arg
 130 135 140

Glu Asn Pro Val Tyr Glu Tyr Arg Asn Pro Met Ile Phe Glu Tyr Arg
 145 150 155 160

Asn Ser Tyr Ile Leu Gln Arg Ala Asn Pro Gln Phe Gly Ile Val Met
 165 170 175

Gly Leu Arg Tyr Tyr Thr Thr Gly Asn Thr Cys Gln Val Ala Ala Phe
 180 185 190

Asp Ser Thr Phe Ala Glu Asn Ala Pro Asn Asn Thr Gln Arg Phe Ile
 195 200 205

Tyr Asn Gly Arg Leu Lys Arg Pro Thr Ser Asn Ala Leu Met Lys Ile
 210 215 220

Glu Ala Gly Ala Gln Asn Ile Ser Ile Pro Thr Val Leu Pro Asp Leu
 225 230 235 240

Ala Asn Gln Thr Thr Trp Leu Phe Asn Pro Val Gln Val Met Asn Gly
 245 250 255

Thr Phe Ser Ile Glu Phe Tyr Asn Asn Gly Gln Leu Val Asp Met Ile
 260 265 270

Arg Asn Met Gly Val Val Thr Val Arg Thr Phe Asp Ser Tyr Arg Ile
 275 280 285

Thr Ile Asp Val Ile Arg Pro Ala Ala Met Thr Gln Tyr Val Gln Arg
 290 295 300

Thr Phe Pro Gln Gly Gly Pro Tyr Pro Tyr Gln Ala Ala Tyr Met Leu
 305 310 315 320

Thr Leu Ser Val Leu Asp Ala Thr Thr Glu Ser Val Leu Cys Asp Ser
 325 330 335

His Ser Val Asp Tyr Ser Ile Val Ala Asn Val Arg Arg Asp Ser Ala
 340 345 350

Met Pro Ala Gly Thr Val Phe Gln Pro Gly Phe Pro Trp Glu Gln Thr
 355 360 365

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Leu Ser Asn Tyr Thr Val Ala Gln Glu Asp Asn Leu Glu Arg Leu Leu
 370 375 380

Leu Val Ala Ser Val Lys Arg Met Val Met
 385 390

<210> 53

<211> 1182

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP6 phân lập 63

<400> 53

gatgtgctgt tctccattgc gaagactgtc tcagatctta agaagaaagt ttagttggt 60
 actatttata caaatgtaga agatataatc caacagacta atgaattgat tagaactttg 120
 aatggcaaca cattccatac tgggtggaatt ggaacacaac ctcaagaaga atggaatttt 180
 caactaccac agctaggtag aacacttttg aatttagatg ataactatgt tcaagcaact 240
 agaagtatca tcgattttt ggccctcatt atagaagctg tgtgtgatga cgaaattgtt 300
 agagaagcgt caagaatgg aatgcaacct caatctcctg cacttatagc gttatcttca 360
 gcaaaattta agactattaa tttaacaat agttcacaat ccattaagaa ttggagtgtc 420
 cagtcaagac gtgaaaatcc agtgtatgaa tataaaaatc caatgggtgt tgagtataga 480
 aattcatata ttctcagcg tgccaatgca caatatggga acgtaatggg gctgagatat 540
 tacacagcca gcaatgcctg tcagattgca gcttttgatt caacttagc tgaaaatgct 600
 cctaattgga ctcaacggtt tatttataat ggaagactta aaagaccaat ttctaattgt 660
 ttgatgaaaa ttgaggcggg tgcctcaaac attagtaatc caacaatact acctgatcca 720
 gcaaatcaga caacatggct atttaacca gtgcagataa tgaatggaac atttactatt 780
 gagttttata ataatgggca gttagtgtat ttgattagaa atatgggagt agttactgtt 840
 agaacatttg atactgtacg aattacaatt gacatgatta gaccagcaac catgacacag 900
 tatgtacaaa gactgtttcc acagggtggc ccataatcaac atcaagccgc atatatgata 960
 actcttagta tattggatgc cacaacagaa tcagtcattgt gtgattcaca ttcaagtagat 1020
 tattcaatcg tcgcaaatgt cagaagagac tcagcaatgc cagctggaac agtatttcaa 1080
 ccaggatttc catgggaaca gatattatcc aactacactg ttgctcagga ggataattta 1140
 gaaagacttt ttttagttgc gtctgtgaag agaattgtga tg 1182

<210> 54

<211> 394

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP6 phân lập 63

<400> 54

Asp Val Leu Phe Ser Ile Ala Lys Thr Val Ser Asp Leu Lys Lys Lys
 1 5 10 15

Val Val Val Gly Thr Ile Tyr Thr Asn Val Glu Asp Ile Ile Gln Gln
 20 25 30

Thr Asn Glu Leu Ile Arg Thr Leu Asn Gly Asn Thr Phe His Thr Gly
 35 40 45

Gly Ile Gly Thr Gln Pro Gln Lys Glu Trp Asn Phe Gln Leu Pro Gln
 50 55 60

Leu Gly Thr Thr Leu Leu Asn Leu Asp Asp Asn Tyr Val Gln Ala Thr
 65 70 75 80

Arg Ser Ile Ile Asp Tyr Leu Ala Ser Phe Ile Glu Ala Val Cys Asp
 85 90 95

Asp Glu Ile Val Arg Glu Ala Ser Arg Asn Gly Met Gln Pro Gln Ser
 100 105 110

Pro Ala Leu Ile Ala Leu Ser Ser Ala Lys Phe Lys Thr Ile Asn Phe
 115 120 125

Asn Asn Ser Ser Gln Ser Ile Lys Asn Trp Ser Ala Gln Ser Arg Arg
 130 135 140

Glu Asn Pro Val Tyr Glu Tyr Lys Asn Pro Met Val Phe Glu Tyr Arg
 145 150 155 160

Asn Ser Tyr Ile Leu Gln Arg Ala Asn Ala Gln Tyr Gly Asn Val Met
 165 170 175

Gly Leu Arg Tyr Tyr Thr Ala Ser Asn Ala Cys Gln Ile Ala Ala Phe
 180 185 190

Asp Ser Thr Leu Ala Glu Asn Ala Pro Asn Gly Thr Gln Arg Phe Ile
 195 200 205

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Tyr Asn Gly Arg Leu Lys Arg Pro Ile Ser Asn Val Leu Met Lys Ile
210 215 220

Glu Ala Gly Ala Pro Asn Ile Ser Asn Pro Thr Ile Leu Pro Asp Pro
225 230 235 240

Ala Asn Gln Thr Thr Trp Leu Phe Asn Pro Val Gln Ile Met Asn Gly
245 250 255

Thr Phe Thr Ile Glu Phe Tyr Asn Asn Gly Gln Leu Val Asp Leu Ile
260 265 270

Arg Asn Met Gly Val Val Thr Val Arg Thr Phe Asp Thr Tyr Arg Ile
275 280 285

Thr Ile Asp Met Ile Arg Pro Ala Thr Met Thr Gln Tyr Val Gln Arg
290 295 300

Leu Phe Pro Gln Gly Gly Pro Tyr Gln His Gln Ala Ala Tyr Met Ile
305 310 315 320

Thr Leu Ser Ile Leu Asp Ala Thr Thr Glu Ser Val Met Cys Asp Ser
325 330 335

His Ser Val Asp Tyr Ser Ile Val Ala Asn Val Arg Arg Asp Ser Ala
340 345 350

Met Pro Ala Gly Thr Val Phe Gln Pro Gly Phe Pro Trp Glu Gln Ile
355 360 365

Leu Ser Asn Tyr Thr Val Ala Gln Glu Asp Asn Leu Glu Arg Leu Leu
370 375 380

Leu Val Ala Ser Val Lys Arg Met Val Met
385 390

<210> 55
<211> 1182
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> VP6 phân lập 64

<400> 55
gatgtgctgt tctccattgc gaagactgtc tcagatctta agaagaaagt tgtagttggt 60

actatttata caaatgtaga agatataatc caacagacta atgaattgat tagaactttg 120

DANH MỤC TRÌNH TỰ

aatggcaaca catttcatac tgggtggaatt ggaacacaac ctcagaaaga atggaatttt 180
caactaccac agctaggtac aacacttttg aatttagatg ataactatgt tcaagcaact 240
agaagtatca tcgattattt ggcttcattt atagaagctg tgtgtgatga cgaaattgtt 300
agagaagcgt caagaaatgg aatgcaacct caatctcctg cacttatagc gttatcttca 360
gcaaaattta agactattaa tttaacaat agttcacaat ccattaagaa ttggagtgtc 420
cagtcaagac gtgaaaatcc agtgtatgaa tataaaaatc caatgggtgt tgagtataga 480
aattcatata ttcttcagcg tgctaagca caatatggga atgtaatggg gctgagatat 540
tacacagcga gtaatgcctg tcagattgca gcttttgatt caactttagc tgaaaatgcc 600
cctaattgga ctcaacgggt tatttataat ggaagactta aaagaccaat ttctaattgt 660
ttgatgaaaa ttgaggcggg tgctccaaac attagtaatc caacaatact acctgatcca 720
gcaaatcaga caacatggct atttaatcca gtacagataa tgaatggaac atttactatt 780
gagttttata ataattggca gttagtgtat ttaattagaa atatgggagt agttactgtt 840
agaacatttg atacgtacag aattacaatt gacatgatta gaccagcagc catgacacag 900
tatgtacaaa gactgtttcc acagggtggc ccatatcaac atcaagccgc atatatgata 960
actcttagta tattgtagc cacaacagaa tcagtcattg gtgattcaca ttcagtagat 1020
tattcaatcg tcgcaaatgt cagaagagac tcagcaatgc cagctggaac agtatttcaa 1080
ccaggctttc catgggaaca gatattatcc aactacactg ttgctcagga ggataattta 1140
gaaagacttt tgtagttgc gtctgtgaag agaattgtga tg 1182

<210> 56

<211> 394

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP6 phân lập 64 AA sequences

<400> 56

Asp Val Leu Phe Ser Ile Ala Lys Thr Val Ser Asp Leu Lys Lys Lys
1 5 10 15

Val Val Val Gly Thr Ile Tyr Thr Asn Val Glu Asp Ile Ile Gln Gln
20 25 30

Thr Asn Glu Leu Ile Arg Thr Leu Asn Gly Asn Thr Phe His Thr Gly
35 40 45

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Gly Ile Gly Thr Gln Pro Gln Lys Glu Trp Asn Phe Gln Leu Pro Gln
 50 55 60

Leu Gly Thr Thr Leu Leu Asn Leu Asp Asp Asn Tyr Val Gln Ala Thr
 65 70 75 80

Arg Ser Ile Ile Asp Tyr Leu Ala Ser Phe Ile Glu Ala Val Cys Asp
 85 90 95

Asp Glu Ile Val Arg Glu Ala Ser Arg Asn Gly Met Gln Pro Gln Ser
 100 105 110

Pro Ala Leu Ile Ala Leu Ser Ser Ala Lys Phe Lys Thr Ile Asn Phe
 115 120 125

Asn Asn Ser Ser Gln Ser Ile Lys Asn Trp Ser Ala Gln Ser Arg Arg
 130 135 140

Glu Asn Pro Val Tyr Glu Tyr Lys Asn Pro Met Val Phe Glu Tyr Arg
 145 150 155 160

Asn Ser Tyr Ile Leu Gln Arg Ala Asn Ala Gln Tyr Gly Asn Val Met
 165 170 175

Gly Leu Arg Tyr Tyr Thr Ala Ser Asn Ala Cys Gln Ile Ala Ala Phe
 180 185 190

Asp Ser Thr Leu Ala Glu Asn Ala Pro Asn Gly Thr Gln Arg Phe Ile
 195 200 205

Tyr Asn Gly Arg Leu Lys Arg Pro Ile Ser Asn Val Leu Met Lys Ile
 210 215 220

Glu Ala Gly Ala Pro Asn Ile Ser Asn Pro Thr Ile Leu Pro Asp Pro
 225 230 235 240

Ala Asn Gln Thr Thr Trp Leu Phe Asn Pro Val Gln Ile Met Asn Gly
 245 250 255

Thr Phe Thr Ile Glu Phe Tyr Asn Asn Gly Gln Leu Val Asp Leu Ile
 260 265 270

Arg Asn Met Gly Val Val Thr Val Arg Thr Phe Asp Thr Tyr Arg Ile
 275 280 285

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Thr Ile Asp Met Ile Arg Pro Ala Ala Met Thr Gln Tyr Val Gln Arg
 290 295 300

Leu Phe Pro Gln Gly Gly Pro Tyr Gln His Gln Ala Ala Tyr Met Ile
 305 310 315 320

Thr Leu Ser Ile Leu Asp Ala Thr Thr Glu Ser Val Met Cys Asp Ser
 325 330 335

His Ser Val Asp Tyr Ser Ile Val Ala Asn Val Arg Arg Asp Ser Ala
 340 345 350

Met Pro Ala Gly Thr Val Phe Gln Pro Gly Phe Pro Trp Glu Gln Ile
 355 360 365

Leu Ser Asn Tyr Thr Val Ala Gln Glu Asp Asn Leu Glu Arg Leu Leu
 370 375 380

Leu Val Ala Ser Val Lys Arg Met Val Met
 385 390

<210> 57
 <211> 1182
 <212> ADN
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VP6 phân lập 65

<400> 57
 gatgtgctgt ttccaattgc gaagactgtc tcagaactca aaaagaaagt tgtagttggt 60
 actatttaca ctaattgtaga agatataatt cagcaaacta atgaattaat tagaactttg 120
 aatggcaaca cgtttcatatc aggtgggtatt ggaacgcagc ctcaaaaaga gtggaatttt 180
 caattaccac agctaggtac aacactcttg aatttagatg ataactatgt ccaagctact 240
 agaagtgtta ttgactattt ggccctcattc atagaagcag tatgtgatga tgagattgtc 300
 agagaagcat cgagaaatgg aatgcagcct caatcaccta cacttatagc gctgtcctca 360
 tcaaaattta aaactattaa tttaataac agttcacaat ctattaaaa ctggagtgtc 420
 caatcaagac gcgaaaatcc agtctacgag tacagaaatc cgatgatatt cgaatataga 480
 aattcatata ttcttcagcg cgctaatacca caatttgaa atgtaatggg gttgaggtat 540
 tatacaacta gtaacacttg tcaaatcgca gcttttgact caacatttgc tgagaatgct 600
 cctaataata ctcaacgttt catctataat ggaagactta agagaccaat ttctaattgt 660
 ctaatgaaaa ttgaggctgg tgctcagaac atcagtagtc caacagtcct acctgatccg 720

DANH MỤC TRÌNH TỰ

acaaatcaaa caacatggct attaatcca gtacaagtaa tgaatggaac ttctactatt 780
 gagttttata ataatggaca attagttgat atgattagaa acatgggagt agttactgtt 840
 agaacttttg attcttatag aataacaatt gatatgatca gaccagcagc tatgacacaa 900
 tacgttcaga gaacattccc acaagggtgt ccttatccat accaagctgc atacatgttg 960
 acactcagtg tattagatgc tacaacagaa tctgtcctat gcgattcaca ctctgtagac 1020
 tattcaattg ttgcaaakat tagaagagac tcagcaatgc cagctggaac agtatttcaa 1080
 ccaggatttc catgggaaca gacattatcc aactacactg ttgctcagga ggataattta 1140
 gaaagacttc tactagtgtc gtccgtgaag agaatggtga tg 1182

<210> 58
 <211> 394
 <212> PRT
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VP6 phân lập 65

<400> 58

Asp Val Leu Phe Ser Ile Ala Lys Thr Val Ser Glu Leu Lys Lys Lys
 1 5 10 15

Val Val Val Gly Thr Ile Tyr Thr Asn Val Glu Asp Ile Ile Gln Gln
 20 25 30

Thr Asn Glu Leu Ile Arg Thr Leu Asn Gly Asn Thr Phe His Thr Gly
 35 40 45

Gly Ile Gly Thr Gln Pro Gln Lys Glu Trp Asn Phe Gln Leu Pro Gln
 50 55 60

Leu Gly Thr Thr Leu Leu Asn Leu Asp Asp Asn Tyr Val Gln Ala Thr
 65 70 75 80

Arg Ser Val Ile Asp Tyr Leu Ala Ser Phe Ile Glu Ala Val Cys Asp
 85 90 95

Asp Glu Ile Val Arg Glu Ala Ser Arg Asn Gly Met Gln Pro Gln Ser
 100 105 110

Pro Thr Leu Ile Ala Leu Ser Ser Ser Lys Phe Lys Thr Ile Asn Phe
 115 120 125

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Asn Asn Ser Ser Gln Ser Ile Lys Asn Trp Ser Ala Gln Ser Arg Arg
 130 135 140

Glu Asn Pro Val Tyr Glu Tyr Arg Asn Pro Met Ile Phe Glu Tyr Arg
 145 150 155 160

Asn Ser Tyr Ile Leu Gln Arg Ala Asn Pro Gln Phe Gly Asn Val Met
 165 170 175

Gly Leu Arg Tyr Tyr Thr Thr Ser Asn Thr Cys Gln Ile Ala Ala Phe
 180 185 190

Asp Ser Thr Phe Ala Glu Asn Ala Pro Asn Asn Thr Gln Arg Phe Ile
 195 200 205

Tyr Asn Gly Arg Leu Lys Arg Pro Ile Ser Asn Val Leu Met Lys Ile
 210 215 220

Glu Ala Gly Ala Gln Asn Ile Ser Ser Pro Thr Val Leu Pro Asp Pro
 225 230 235 240

Thr Asn Gln Thr Thr Trp Leu Phe Asn Pro Val Gln Val Met Asn Gly
 245 250 255

Thr Phe Thr Ile Glu Phe Tyr Asn Asn Gly Gln Leu Val Asp Met Ile
 260 265 270

Arg Asn Met Gly Val Val Thr Val Arg Thr Phe Asp Ser Tyr Arg Ile
 275 280 285

Thr Ile Asp Met Ile Arg Pro Ala Ala Met Thr Gln Tyr Val Gln Arg
 290 295 300

Thr Phe Pro Gln Gly Gly Pro Tyr Pro Tyr Gln Ala Ala Tyr Met Leu
 305 310 315 320

Thr Leu Ser Val Leu Asp Ala Thr Thr Glu Ser Val Leu Cys Asp Ser
 325 330 335

His Ser Val Asp Tyr Ser Ile Val Ala Asn Ile Arg Arg Asp Ser Ala
 340 345 350

Met Pro Ala Gly Thr Val Phe Gln Pro Gly Phe Pro Trp Glu Gln Thr
 355 360 365

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Leu Ser Asn Tyr Thr Val Ala Gln Glu Asp Asn Leu Glu Arg Leu Leu
 370 375 380

Leu Val Ala Ser Val Lys Arg Met Val Met
 385 390

<210> 59

<211> 1182

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP6 phân lập 66

<400> 59

gatgtgctgt ttcaattgc gaagactgct tcagatctta agaagaaagt ttagttggt 60
 actatttata caaatgtaga agatataatc caacagacta atgaattgat tagaactttg 120
 aatggcaaca catttcatac tgggtgaatt ggaacacaac ctcagaaaga atggaatttt 180
 caactaccac agctaggtac aacacttttg aatttagatg ataactatgt tcaagcaact 240
 agaagtatca tcgattattt ggctctcatt atagaagctg tgtgtgatga cgaaattgtt 300
 agagaggcgt caagaaatgg aatgcaacct caatctctg cacttatagc gttatcttca 360
 gcaaaattta agactattaa tttaacaat agttcacaat ccattaagaa ttggagtgtc 420
 cagtcaagac gtgaaaatcc agtgtatgaa tataaaaatc caatggtgtt tgagtataga 480
 aattcatata ttcttcagcg tgctaataca caatatggga atgtaatggg gctgagatat 540
 tacacagcga gtaatgcctg tcagattgca gcttttgatt caactttagc tgaaaatgcc 600
 cctaattgta ctcaacgggt tatttataat ggaagactta aaagaccaat ttctaattgt 660
 ttgatgaaaa ttgaggcggg tgctccaaac attagtaatc caacaatact acctgatcca 720
 gcaaatcaga caacatggct atttaacca gtacagataa tgaatggaac atttactatt 780
 gagttttata ataattgggca gtagttgat ttaattagaa atatgggagt agttactgtt 840
 agaacatttg atactgtacg aattacaatt gacatgatta gaccagcagc catgacacag 900
 tatgtacaaa gactgtttcc acagggtggc ccatatcaac atcaagccgc atatatgata 960
 actcttagta tattggatgc cacaacagaa tcagtcatgt gtgattcaca ttcagtagat 1020
 tattcaatcg tcgaaatgt cagaagagac tcagcaatgc cagctggaac agtatttcaa 1080
 ccaggcttc catgggaaca gatattatcc aactacactg ttgctcagga ggataattta 1140
 gaaagacttt tgttagttgc gtctgtgaag agaattgtga tg 1182

<210> 60

<211> 394

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP6 phân lập 66

<400> 60

Asp Val Leu Phe Ser Ile Ala Lys Thr Val Ser Asp Leu Lys Lys Lys
1 5 10 15

Val Val Val Gly Thr Ile Tyr Thr Asn Val Glu Asp Ile Ile Gln Gln
20 25 30

Thr Asn Glu Leu Ile Arg Thr Leu Asn Gly Asn Thr Phe His Thr Gly
35 40 45

Gly Ile Gly Thr Gln Pro Gln Lys Glu Trp Asn Phe Gln Leu Pro Gln
50 55 60

Leu Gly Thr Thr Leu Leu Asn Leu Asp Asp Asn Tyr Val Gln Ala Thr
65 70 75 80

Arg Ser Ile Ile Asp Tyr Leu Ala Ser Phe Ile Glu Ala Val Cys Asp
85 90 95

Asp Glu Ile Val Arg Glu Ala Ser Arg Asn Gly Met Gln Pro Gln Ser
100 105 110

Pro Ala Leu Ile Ala Leu Ser Ser Ala Lys Phe Lys Thr Ile Asn Phe
115 120 125

Asn Asn Ser Ser Gln Ser Ile Lys Asn Trp Ser Ala Gln Ser Arg Arg
130 135 140

Glu Asn Pro Val Tyr Glu Tyr Lys Asn Pro Met Val Phe Glu Tyr Arg
145 150 155 160

Asn Ser Tyr Ile Leu Gln Arg Ala Asn Ala Gln Tyr Gly Asn Val Met
165 170 175

Gly Leu Arg Tyr Tyr Thr Ala Ser Asn Ala Cys Gln Ile Ala Ala Phe
180 185 190

Asp Ser Thr Leu Ala Glu Asn Ala Pro Asn Gly Thr Gln Arg Phe Ile
195 200 205

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Tyr Asn Gly Arg Leu Lys Arg Pro Ile Ser Asn Val Leu Met Lys Ile
 210 215 220

Glu Ala Gly Ala Pro Asn Ile Ser Asn Pro Thr Ile Leu Pro Asp Pro
 225 230 235 240

Ala Asn Gln Thr Thr Trp Leu Phe Asn Pro Val Gln Ile Met Asn Gly
 245 250 255

Thr Phe Thr Ile Glu Phe Tyr Asn Asn Gly Gln Leu Val Asp Leu Ile
 260 265 270

Arg Asn Met Gly Val Val Thr Val Arg Thr Phe Asp Thr Tyr Arg Ile
 275 280 285

Thr Ile Asp Met Ile Arg Pro Ala Ala Met Thr Gln Tyr Val Gln Arg
 290 295 300

Leu Phe Pro Gln Gly Gly Pro Tyr Gln His Gln Ala Ala Tyr Met Ile
 305 310 315 320

Thr Leu Ser Ile Leu Asp Ala Thr Thr Glu Ser Val Met Cys Asp Ser
 325 330 335

His Ser Val Asp Tyr Ser Ile Val Ala Asn Val Arg Arg Asp Ser Ala
 340 345 350

Met Pro Ala Gly Thr Val Phe Gln Pro Gly Phe Pro Trp Glu Gln Ile
 355 360 365

Leu Ser Asn Tyr Thr Val Ala Gln Glu Asp Asn Leu Glu Arg Leu Leu
 370 375 380

Leu Val Ala Ser Val Lys Arg Met Val Met
 385 390

<210> 61
 <211> 1182
 <212> ADN
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VP6 phân lập 67

<400> 61
 gatgtgctgt tctctattgc gaagactgtc tcagatctta agaagaaagt ttagttgg 60
 actatttata caaatgtaga agatataatc caacaaacta atgaattgat tagaactttg 120

DANH MỤC TRÌNH TỰ

aatggcaaca cattccatac tgggtggaatt ggaacacaac ctcagaaaga atggaatttt 180
caactaccgc agctaggtag aacacttttg aatttagatg ataactatgt tcaagcaact 240
agaagtatca tcgattattt gacctcattt atagaagctg tgtgtgatga cgaaattgtt 300
agagaagcgt caagaaatgg aatgcaacct caatctcctg cacttatagc gttatcttca 360
gcaaaattta agactattaa tttaacaat agttcacaat ccattaagaa ttggagtgtt 420
cagtcaagac gtgaaaaatc agtgtatgaa tataaaaaatc caatgggtgtt tgagtataga 480
aattcatata ttcttcagcg tgccaatgca caatatggga acgtgatggg gctgagatat 540
tacacagcta gcaatgcctg tcagattgca gcttttgatt caactttagc tgaaaatgcc 600
cctaattgga ctcaacgggt tatttataat gggagactta aaagaccaat ttctaattgt 660
ttgatgaaaa ttgaggcggg tgctccaaac attagtactc caacaatact acctgatcca 720
gcaaatcaga caacatggct attaatcca gtacagataa tgaatggaac atttactatt 780
gagttttata ataattggca gttagtgtat ttaattagaa atatgggagt agttactgtt 840
agaacattcg atacgtacag aattacaatt gacatgatta gaccagcagc catgacacag 900
tatgtacaaa gactgtttcc acagggtggc ccatatcaac atcaagccgc atatatgata 960
actcttagta tattggatgc cacaacagaa tcagtcattgt gtgattcaca ttcagtagat 1020
tattcaatcg tcgcaaatgt cagaagagac tcagcaatgc cagctggaac agtatttcaa 1080
ccaggctttc catgggaaca gatattatcc aactacactg ttgctcagga ggataattta 1140
gaaagacttt ttttagttgc gtctgtgaag agaattgtga tg 1182

<210> 62

<211> 394

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP6 phân lập 67

<400> 62

Asp Val Leu Phe Ser Ile Ala Lys Thr Val Ser Asp Leu Lys Lys Lys
1 5 10 15

Val Val Val Gly Thr Ile Tyr Thr Asn Val Glu Asp Ile Ile Gln Gln
20 25 30

Thr Asn Glu Leu Ile Arg Thr Leu Asn Gly Asn Thr Phe His Thr Gly
35 40 45

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Gly Ile Gly Thr Gln Pro Gln Lys Glu Trp Asn Phe Gln Leu Pro Gln
 50 55 60

Leu Gly Thr Thr Leu Leu Asn Leu Asp Asp Asn Tyr Val Gln Ala Thr
 65 70 75 80

Arg Ser Ile Ile Asp Tyr Leu Thr Ser Phe Ile Glu Ala Val Cys Asp
 85 90 95

Asp Glu Ile Val Arg Glu Ala Ser Arg Asn Gly Met Gln Pro Gln Ser
 100 105 110

Pro Ala Leu Ile Ala Leu Ser Ser Ala Lys Phe Lys Thr Ile Asn Phe
 115 120 125

Asn Asn Ser Ser Gln Ser Ile Lys Asn Trp Ser Ala Gln Ser Arg Arg
 130 135 140

Glu Asn Pro Val Tyr Glu Tyr Lys Asn Pro Met Val Phe Glu Tyr Arg
 145 150 155 160

Asn Ser Tyr Ile Leu Gln Arg Ala Asn Ala Gln Tyr Gly Asn Val Met
 165 170 175

Gly Leu Arg Tyr Tyr Thr Ala Ser Asn Ala Cys Gln Ile Ala Ala Phe
 180 185 190

Asp Ser Thr Leu Ala Glu Asn Ala Pro Asn Gly Thr Gln Arg Phe Ile
 195 200 205

Tyr Asn Gly Arg Leu Lys Arg Pro Ile Ser Asn Val Leu Met Lys Ile
 210 215 220

Glu Ala Gly Ala Pro Asn Ile Ser Thr Pro Thr Ile Leu Pro Asp Pro
 225 230 235 240

Ala Asn Gln Thr Thr Trp Leu Phe Asn Pro Val Gln Ile Met Asn Gly
 245 250 255

Thr Phe Thr Ile Glu Phe Tyr Asn Asn Gly Gln Leu Val Asp Leu Ile
 260 265 270

Arg Asn Met Gly Val Val Thr Val Arg Thr Phe Asp Thr Tyr Arg Ile
 275 280 285

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Thr Ile Asp Met Ile Arg Pro Ala Ala Met Thr Gln Tyr Val Gln Arg
 290 295 300

Leu Phe Pro Gln Gly Gly Pro Tyr Gln His Gln Ala Ala Tyr Met Ile
 305 310 315 320

Thr Leu Ser Ile Leu Asp Ala Thr Thr Glu Ser Val Met Cys Asp Ser
 325 330 335

His Ser Val Asp Tyr Ser Ile Val Ala Asn Val Arg Arg Asp Ser Ala
 340 345 350

Met Pro Ala Gly Thr Val Phe Gln Pro Gly Phe Pro Trp Glu Gln Ile
 355 360 365

Leu Ser Asn Tyr Thr Val Ala Gln Glu Asp Asn Leu Glu Arg Leu Leu
 370 375 380

Leu Val Ala Ser Val Lys Arg Met Val Met
 385 390

<210> 63

<211> 1182

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP6 phân lập 68

<400> 63

gatgtgctgt tctccattgc gaagactgtc tcagatctta agaagaaagt ttagttggt 60

actatttata caaatgtaga agatataatc caacagacta atgaattgat tagaactttg 120

aatggcaaca cattccatac tgggtgaatt ggaacacaac ctcagaaaga atggaatttt 180

caactaccac agctaggtac aacacttttg aatttagatg ataactatgt tcaagcaact 240

agaagtatca tcgattattt ggcctcattt atagaagctg tgtgtgatga cgaaattgtt 300

agagaagcgt caagaaatgg aatgcaacct caatctctg cacttatagc gttatcttca 360

gcaaaattta agactattaa tttaacaat agttcacaat ccattaagaa ttggagcgct 420

cagtcaagac gtgaaaatcc agtgtatgaa tataaaaaatc caatggtgtt tgagtataga 480

aattcatata ttcttcagcg tgccaatgca caatatggga acgtaatggg gctgagatat 540

tacacagcca gcaatgcctg tcagattgca gcttttgatt caactttagc tgaaaatgcc 600

cctaattggca ctcaacgggtt tatttataat ggaagactta aaagaccgat ttctaattgtg 660

ttgatgaaaa tcgaggcggg tgctcaaac attagtaatc caacaatact acctgatcca 720

DANH MỤC TRÌNH TỰ

gcaaatcaga caacatggct gttaaatcca gtgcagataa tgaatggaac atttactatt 780
 gagttttata ataatgggca gttagtgtgat ttgattagaa atatgggagt agttactgtt 840
 agaacatttg atacgtacag aattacaatt gacatgatta gaccagcaac catgacacag 900
 tatgtacaaa gactgtttcc acaggggtggc ccatatcaac atcaagccgc atatatgata 960
 actcttagta tattggatgc cacaacagaa tcagtcatgt gtgattcaca ttcagtagat 1020
 tattcaatcg tcgcaaatgt cagaagagac tcagcaatgc cagctggaac agtatttcaa 1080
 ccaggatttc catgggaaca gatattatcc aactacactg ttgctcagga ggataattta 1140
 gaaagacttt tggtagttgc gtctgtgaag agaatggtga tg 1182

<210> 64
 <211> 394
 <212> PRT
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VP6 phân lập 68

<400> 64

Asp Val Leu Phe Ser Ile Ala Lys Thr Val Ser Asp Leu Lys Lys Lys
 1 5 10 15

Val Val Val Gly Thr Ile Tyr Thr Asn Val Glu Asp Ile Ile Gln Gln
 20 25 30

Thr Asn Glu Leu Ile Arg Thr Leu Asn Gly Asn Thr Phe His Thr Gly
 35 40 45

Gly Ile Gly Thr Gln Pro Gln Lys Glu Trp Asn Phe Gln Leu Pro Gln
 50 55 60

Leu Gly Thr Thr Leu Leu Asn Leu Asp Asp Asn Tyr Val Gln Ala Thr
 65 70 75 80

Arg Ser Ile Ile Asp Tyr Leu Ala Ser Phe Ile Glu Ala Val Cys Asp
 85 90 95

Asp Glu Ile Val Arg Glu Ala Ser Arg Asn Gly Met Gln Pro Gln Ser
 100 105 110

Pro Ala Leu Ile Ala Leu Ser Ser Ala Lys Phe Lys Thr Ile Asn Phe
 115 120 125

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Asn Asn Ser Ser Gln Ser Ile Lys Asn Trp Ser Ala Gln Ser Arg Arg
 130 135 140

Glu Asn Pro Val Tyr Glu Tyr Lys Asn Pro Met Val Phe Glu Tyr Arg
 145 150 155 160

Asn Ser Tyr Ile Leu Gln Arg Ala Asn Ala Gln Tyr Gly Asn Val Met
 165 170 175

Gly Leu Arg Tyr Tyr Thr Ala Ser Asn Ala Cys Gln Ile Ala Ala Phe
 180 185 190

Asp Ser Thr Leu Ala Glu Asn Ala Pro Asn Gly Thr Gln Arg Phe Ile
 195 200 205

Tyr Asn Gly Arg Leu Lys Arg Pro Ile Ser Asn Val Leu Met Lys Ile
 210 215 220

Glu Ala Gly Ala Pro Asn Ile Ser Asn Pro Thr Ile Leu Pro Asp Pro
 225 230 235 240

Ala Asn Gln Thr Thr Trp Leu Phe Asn Pro Val Gln Ile Met Asn Gly
 245 250 255

Thr Phe Thr Ile Glu Phe Tyr Asn Asn Gly Gln Leu Val Asp Leu Ile
 260 265 270

Arg Asn Met Gly Val Val Thr Val Arg Thr Phe Asp Thr Tyr Arg Ile
 275 280 285

Thr Ile Asp Met Ile Arg Pro Ala Thr Met Thr Gln Tyr Val Gln Arg
 290 295 300

Leu Phe Pro Gln Gly Gly Pro Tyr Gln His Gln Ala Ala Tyr Met Ile
 305 310 315 320

Thr Leu Ser Ile Leu Asp Ala Thr Thr Glu Ser Val Met Cys Asp Ser
 325 330 335

His Ser Val Asp Tyr Ser Ile Val Ala Asn Val Arg Arg Asp Ser Ala
 340 345 350

Met Pro Ala Gly Thr Val Phe Gln Pro Gly Phe Pro Trp Glu Gln Ile
 355 360 365

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Leu Ser Asn Tyr Thr Val Ala Gln Glu Asp Asn Leu Glu Arg Leu Leu
 370 375 380

Leu Val Ala Ser Val Lys Arg Met Val Met
 385 390

<210> 65

<211> 1182

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP6 phân lập 69

<400> 65

gatgtgctgt tctccattgc gaagactgtc tcagatctta agaagaaagt tgtagttggt 60
 actatttata caaatgtaga agatataatc caacagacta atgaattgat tagaactttg 120
 aatggcaaca cattccatac tgggtggaatt ggaacacaac ctcagaaaga atggaatttt 180
 caactaccac agctaggtac aacacttttg aatttagatg ataactatgt tcaagcaact 240
 agaagtatca tcgattattt ggcctcattt atagaagctg tgtgtgatga cgaaattgtt 300
 agagaagcgt caagaaatgg aatgcaacct caatctcctg cacttatagc gttatcttca 360
 gcaaaattta agactattaa tttaacaat agttcacaat ccattaagaa ttggagtgtc 420
 cagtcaagac gtgaaaatcc agtgtatgaa tataaaaatc caatgggtgt tgagtataga 480
 aattcatata ttcttcagcg tgccaatgca caatatggga acgtaatggg gctgagatat 540
 tacacagcca gcaatgcctg tcagattgca gcttttgatt caactttagc tgaaaatgcc 600
 cctaattggca ctcaacgggt tatttataat ggaagactta aaagaccaat ttctaattgtg 660
 ttgatgaaaa tcgaggcggg tgctccaaac attagtaatc caacaatact acctgatcca 720
 gcaaatcaga caacatggct atttaatcca gtgcagataa tgaatggaac atttactatt 780
 gagttttata ataatgggca gttagttgat ttgattagaa atatgggagt agttactgtt 840
 agaacatttg atacgtacag aattacaatt gacatgatta gaccagcaac catgacacag 900
 tatgtacaaa gactgtttcc acagggtggc ccatatcaac atcaagccgc atatatgata 960
 actcttagta tattggatgc cacaacagaa tcagtcattgt gtgattcaca ttcagtagat 1020
 tattcaatcg tcgcaaatgt cagaagagac tcagcaatgc cagctggaac agtatttcaa 1080
 ccaggatttc catgggaaca gatattatcc aactacactg ttgctcagga ggataattta 1140
 gaaagacttt tgttagttgc gtctgtgaag agaattgtga tg 1182

<210> 66

<211> 394

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự VP6 phân lập 69 AA

<400> 66

Asp Val Leu Phe Ser Ile Ala Lys Thr Val Ser Asp Leu Lys Lys Lys
 1 5 10 15

Val Val Val Gly Thr Ile Tyr Thr Asn Val Glu Asp Ile Ile Gln Gln
 20 25 30

Thr Asn Glu Leu Ile Arg Thr Leu Asn Gly Asn Thr Phe His Thr Gly
 35 40 45

Gly Ile Gly Thr Gln Pro Gln Lys Glu Trp Asn Phe Gln Leu Pro Gln
 50 55 60

Leu Gly Thr Thr Leu Leu Asn Leu Asp Asp Asn Tyr Val Gln Ala Thr
 65 70 75 80

Arg Ser Ile Ile Asp Tyr Leu Ala Ser Phe Ile Glu Ala Val Cys Asp
 85 90 95

Asp Glu Ile Val Arg Glu Ala Ser Arg Asn Gly Met Gln Pro Gln Ser
 100 105 110

Pro Ala Leu Ile Ala Leu Ser Ser Ala Lys Phe Lys Thr Ile Asn Phe
 115 120 125

Asn Asn Ser Ser Gln Ser Ile Lys Asn Trp Ser Ala Gln Ser Arg Arg
 130 135 140

Glu Asn Pro Val Tyr Glu Tyr Lys Asn Pro Met Val Phe Glu Tyr Arg
 145 150 155 160

Asn Ser Tyr Ile Leu Gln Arg Ala Asn Ala Gln Tyr Gly Asn Val Met
 165 170 175

Gly Leu Arg Tyr Tyr Thr Ala Ser Asn Ala Cys Gln Ile Ala Ala Phe
 180 185 190

Asp Ser Thr Leu Ala Glu Asn Ala Pro Asn Gly Thr Gln Arg Phe Ile
 195 200 205

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Tyr Asn Gly Arg Leu Lys Arg Pro Ile Ser Asn Val Leu Met Lys Ile
 210 215 220

Glu Ala Gly Ala Pro Asn Ile Ser Asn Pro Thr Ile Leu Pro Asp Pro
 225 230 235 240

Ala Asn Gln Thr Thr Trp Leu Phe Asn Pro Val Gln Ile Met Asn Gly
 245 250 255

Thr Phe Thr Ile Glu Phe Tyr Asn Asn Gly Gln Leu Val Asp Leu Ile
 260 265 270

Arg Asn Met Gly Val Val Thr Val Arg Thr Phe Asp Thr Tyr Arg Ile
 275 280 285

Thr Ile Asp Met Ile Arg Pro Ala Thr Met Thr Gln Tyr Val Gln Arg
 290 295 300

Leu Phe Pro Gln Gly Gly Pro Tyr Gln His Gln Ala Ala Tyr Met Ile
 305 310 315 320

Thr Leu Ser Ile Leu Asp Ala Thr Thr Glu Ser Val Met Cys Asp Ser
 325 330 335

His Ser Val Asp Tyr Ser Ile Val Ala Asn Val Arg Arg Asp Ser Ala
 340 345 350

Met Pro Ala Gly Thr Val Phe Gln Pro Gly Phe Pro Trp Glu Gln Ile
 355 360 365

Leu Ser Asn Tyr Thr Val Ala Gln Glu Asp Asn Leu Glu Arg Leu Leu
 370 375 380

Leu Val Ala Ser Val Lys Arg Met Val Met
 385 390

<210> 67
 <211> 1182
 <212> ADN
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VP6 phân lập 70

<400> 67
 gatgtgctgt tctccattgc gaagactgtc tcagatctta agaagaaagt tgtagttggt 60

actatttata caaatgtaga agatataatc caacagacta atgaattgat tagaactttg 120

DANH MỤC TRÌNH TỰ

aatggcaaca cattccatac tgggtggaatt gggacacaac ctcagaaaga atggaatttt 180
caactaccac agctaggtac aacacttttg aatttagatg ataactatgt tcaagcaact 240
agaagtatca tcgattattt ggcctcattt atagaagctg tgtgtgatga tgaattgtt 300
agagaagcgt caagaaatgg aatgcaacct caatctcctg cacttatagc gttatcttca 360
gcaaaattta agactattaa tttaacaat agttcacaat ccattaagaa ttggagtgtt 420
cagtcaagac gtgaaaaatcc agtgtatgaa tataaaaaatc caatgggtgtt tgagtataga 480
aattcatata ttcttcagcg tgccaatgca caatatggga atgtaatggg gctgagatat 540
tatacagcca gtaatgcctg tcagattgca gcttttgatt caactttagc tgaaaatgcc 600
cctaattgta ctcaacgggt tatttataat ggaagactta aaagaccaat ttctaattgtg 660
ttgatgaaaa ttgaggcggg tgctccaaac attagtaatc taacaatact acctgatcca 720
gcaaatcaga caacatggct atttaacca gtacaaataa tgaatggaac atttactatt 780
gagttttata ataattggca gttagtgtat ttgattagaa atatgggagt agttactgtt 840
agaacatttg atacgtacag aatcacaatt gacatgatta gaccagcagc catgacacag 900
tatgtacaaa gactgtttcc acagggtggc ccataatcaac atcaagccgc atatatgata 960
actcttagta tattgtagtc cacaacagaa tcagtcattgt gtgattcaca ttcagtagat 1020
tattcaatcg tcgcaaatgt cagaagagac tcagcaatgc cagctggaac agtatttcaa 1080
ccagggtttc catgggaaca gatattatcc aactacactg ttgctcagga ggataattta 1140
gaaagacttt tgttagttgc gtctgtgaag agaattgtga tg 1182

<210> 68

<211> 394

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP6 phân lập 70

<400> 68

Asp Val Leu Phe Ser Ile Ala Lys Thr Val Ser Asp Leu Lys Lys Lys
1 5 10 15

Val Val Val Gly Thr Ile Tyr Thr Asn Val Glu Asp Ile Ile Gln Gln
20 25 30

Thr Asn Glu Leu Ile Arg Thr Leu Asn Gly Asn Thr Phe His Thr Gly
35 40 45

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Gly Ile Gly Thr Gln Pro Gln Lys Glu Trp Asn Phe Gln Leu Pro Gln
 50 55 60

Leu Gly Thr Thr Leu Leu Asn Leu Asp Asp Asn Tyr Val Gln Ala Thr
 65 70 75 80

Arg Ser Ile Ile Asp Tyr Leu Ala Ser Phe Ile Glu Ala Val Cys Asp
 85 90 95

Asp Glu Ile Val Arg Glu Ala Ser Arg Asn Gly Met Gln Pro Gln Ser
 100 105 110

Pro Ala Leu Ile Ala Leu Ser Ser Ala Lys Phe Lys Thr Ile Asn Phe
 115 120 125

Asn Asn Ser Ser Gln Ser Ile Lys Asn Trp Ser Ala Gln Ser Arg Arg
 130 135 140

Glu Asn Pro Val Tyr Glu Tyr Lys Asn Pro Met Val Phe Glu Tyr Arg
 145 150 155 160

Asn Ser Tyr Ile Leu Gln Arg Ala Asn Ala Gln Tyr Gly Asn Val Met
 165 170 175

Gly Leu Arg Tyr Tyr Thr Ala Ser Asn Ala Cys Gln Ile Ala Ala Phe
 180 185 190

Asp Ser Thr Leu Ala Glu Asn Ala Pro Asn Gly Thr Gln Arg Phe Ile
 195 200 205

Tyr Asn Gly Arg Leu Lys Arg Pro Ile Ser Asn Val Leu Met Lys Ile
 210 215 220

Glu Ala Gly Ala Pro Asn Ile Ser Asn Leu Thr Ile Leu Pro Asp Pro
 225 230 235 240

Ala Asn Gln Thr Thr Trp Leu Phe Asn Pro Val Gln Ile Met Asn Gly
 245 250 255

Thr Phe Thr Ile Glu Phe Tyr Asn Asn Gly Gln Leu Val Asp Leu Ile
 260 265 270

Arg Asn Met Gly Val Val Thr Val Arg Thr Phe Asp Thr Tyr Arg Ile
 275 280 285

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Thr Ile Asp Met Ile Arg Pro Ala Ala Met Thr Gln Tyr Val Gln Arg
 290 295 300

Leu Phe Pro Gln Gly Gly Pro Tyr Gln His Gln Ala Ala Tyr Met Ile
 305 310 315 320

Thr Leu Ser Ile Leu Asp Ala Thr Thr Glu Ser Val Met Cys Asp Ser
 325 330 335

His Ser Val Asp Tyr Ser Ile Val Ala Asn Val Arg Arg Asp Ser Ala
 340 345 350

Met Pro Ala Gly Thr Val Phe Gln Pro Gly Phe Pro Trp Glu Gln Ile
 355 360 365

Leu Ser Asn Tyr Thr Val Ala Gln Glu Asp Asn Leu Glu Arg Leu Leu
 370 375 380

Leu Val Ala Ser Val Lys Arg Met Val Met
 385 390

<210> 69

<211> 1182

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP6 phân lập 71

<400> 69

gatgtgctgt tctccattgc gaaaactgtc tcagatctta agaagaaagt ttagttggt 60

actatttata caaatgtaga agatataatc caacagacta atgaattaat tagaactttg 120

aatggcaaca cattccatac tgggtgaatt ggaacacaac ctgaaaga atggaatttt 180

caactaccac agctaggtac aacacttttg aatttagatg ataactatgt tcaagcaact 240

agaagtatca tcgattattt ggcctcattt atagaagctg tgtgtgatga cgaaattgtt 300

agagaagcgt caagaaatgg aatgcaacct caatctctg cacttatagc gttatcttca 360

gcaaaattta agactattaa tttaacaat agtcacaat ccattaagaa ttggagtgt 420

cagtcagac gtgaaaatcc agtgtatgaa tataaaaatc caatggtgtt tgagtataga 480

aattcatata ttcttcagcg tgccaatgca caatatggga atgtaatggg gctgagatat 540

tacacagcca gtaatgctg tcagattgca gcttttgatt caactttagc tgaaaatgcc 600

cctaattgta ctcaacgggt tatttataat ggaagactta aaagaccaat ttctaattga 660

ttgatgaaa ttgagggggg tgctccaaac attagtaatc caacaatact acctgatcca 720

DANH MỤC TRÌNH TỰ

gcaaatcaga caacatggct atttaacca gtacagataa tgaatggaac atttactatt 780
gagttttata ataattgggca gttagtgtgat ttgattagaa atatgggagt agttactgtt 840
agaacatttg atacgtacag aattacaatt gacatgatta gaccagcagc catgacgcag 900
tatgttcaaa gactgtttcc acagggtggc ccatacaac atcaagccgc atatatgata 960
actcttagta tattggatgc cacaacagaa tcagtcatgt gtgattcaca ttcagtagat 1020
tattcaatcg tcgcaaatgt cagaagagac tcagcaatgc cagctggaac agtatttcaa 1080
ccaggctttc catgggaaca gatattatcc aactacactg ttgctcagga ggataattta 1140
gaaagacttt tgtagttgc gtctgtgaag agaattgtga tg 1182

<210> 70
<211> 394
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> VP6 phân lập 71

<400> 70

Asp Val Leu Phe Ser Ile Ala Lys Thr Val Ser Asp Leu Lys Lys Lys
1 5 10 15

Val Val Val Gly Thr Ile Tyr Thr Asn Val Glu Asp Ile Ile Gln Gln
20 25 30

Thr Asn Glu Leu Ile Arg Thr Leu Asn Gly Asn Thr Phe His Thr Gly
35 40 45

Gly Ile Gly Thr Gln Pro Gln Lys Glu Trp Asn Phe Gln Leu Pro Gln
50 55 60

Leu Gly Thr Thr Leu Leu Asn Leu Asp Asp Asn Tyr Val Gln Ala Thr
65 70 75 80

Arg Ser Ile Ile Asp Tyr Leu Ala Ser Phe Ile Glu Ala Val Cys Asp
85 90 95

Asp Glu Ile Val Arg Glu Ala Ser Arg Asn Gly Met Gln Pro Gln Ser
100 105 110

Pro Ala Leu Ile Ala Leu Ser Ser Ala Lys Phe Lys Thr Ile Asn Phe
115 120 125

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Asn Asn Ser Ser Gln Ser Ile Lys Asn Trp Ser Ala Gln Ser Arg Arg
 130 135 140

Glu Asn Pro Val Tyr Glu Tyr Lys Asn Pro Met Val Phe Glu Tyr Arg
 145 150 155 160

Asn Ser Tyr Ile Leu Gln Arg Ala Asn Ala Gln Tyr Gly Asn Val Met
 165 170 175

Gly Leu Arg Tyr Tyr Thr Ala Ser Asn Ala Cys Gln Ile Ala Ala Phe
 180 185 190

Asp Ser Thr Leu Ala Glu Asn Ala Pro Asn Gly Thr Gln Arg Phe Ile
 195 200 205

Tyr Asn Gly Arg Leu Lys Arg Pro Ile Ser Asn Val Leu Met Lys Ile
 210 215 220

Glu Ala Gly Ala Pro Asn Ile Ser Asn Pro Thr Ile Leu Pro Asp Pro
 225 230 235 240

Ala Asn Gln Thr Thr Trp Leu Phe Asn Pro Val Gln Ile Met Asn Gly
 245 250 255

Thr Phe Thr Ile Glu Phe Tyr Asn Asn Gly Gln Leu Val Asp Leu Ile
 260 265 270

Arg Asn Met Gly Val Val Thr Val Arg Thr Phe Asp Thr Tyr Arg Ile
 275 280 285

Thr Ile Asp Met Ile Arg Pro Ala Ala Met Thr Gln Tyr Val Gln Arg
 290 295 300

Leu Phe Pro Gln Gly Gly Pro Tyr Gln His Gln Ala Ala Tyr Met Ile
 305 310 315 320

Thr Leu Ser Ile Leu Asp Ala Thr Thr Glu Ser Val Met Cys Asp Ser
 325 330 335

His Ser Val Asp Tyr Ser Ile Val Ala Asn Val Arg Arg Asp Ser Ala
 340 345 350

Met Pro Ala Gly Thr Val Phe Gln Pro Gly Phe Pro Trp Glu Gln Ile
 355 360 365

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Leu Ser Asn Tyr Thr Val Ala Gln Glu Asp Asn Leu Glu Arg Leu Leu
 370 375 380

Leu Val Ala Ser Val Lys Arg Met Val Met
 385 390

<210> 71
 <211> 1182
 <212> ADN
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VP6 phân lập 72

<400> 71
 gatgtgctgt tctccattgc gaaaactgtc tcagatctta agaagaaagt ttagttggt 60
 actatttata caaatgtaga agatataatc caacagacta atgaattaat tagaactttg 120
 aatggcaaca cattccatac tgggtgaatt ggaacacaac ctcagaaaga atggaatttt 180
 caactaccac agctaggtac aacacttttg aatttagatg ataactatgt tcaagcaact 240
 agaagtatca tcgattattt ggcctcattt atagaagctg tgtgtgatga cgaaatggt 300
 agagaagcgt caagaaatgg aatgcaacct caatctctg cacttatagc gttatcttca 360
 gcaaaattta agactattaa ttttaacaat agttcacaat ccattaagaa ttggagtgtc 420
 cagtcaagac gtgaaaatcc agtgtatgaa tataaaaatc caatgggtgt tgagtataga 480
 aattcatata ttcttcagcg tgccaatgca caatatggga atgtaatggg gctgagatat 540
 tacacagcca gtaatgcctg tcagattgca gcttttgatt caactttagc tgaaaatgcc 600
 cctaattgta ctcaacggtt tatttataat ggaagactta aaagaccaat ttctaattga 660
 ttgatgaaaa ttgaggcggg tgcctcaaac attagtaatc caacaatact acctgatcca 720
 gcaaatcaga caacatggct atttaatcca gtacagataa tgaatggaac atttactatt 780
 gagttttata ataattgggca gttagttgat ttgattagaa atatgggagt agttactgtt 840
 agaacatttg atacgtacag aattacaatt gacatgatta gaccagcagc catgacgcag 900
 tatgttcaaa gactgtttcc acagggtggc ccatatcaac atcaagccgc atatatgata 960
 actcttagta tattgatgc cacaacagaa tcagtcattgt gtgattcaca ttcatagat 1020
 tattcaatcg tcgcaaatgt cagaagagac tcagcaatgc cagctggaac agtatttcaa 1080
 ccaggctttc catgggaaca gatattatcc aactacactg ttgctcagga ggataattta 1140
 gaaagacttt tgttagttgc gtctgtgaag agaattgtga tg 1182

<210> 72
 <211> 394

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP6 phân lập 72

<400> 72

Asp Val Leu Phe Ser Ile Ala Lys Thr Val Ser Asp Leu Lys Lys Lys
 1 5 10 15

Val Val Val Gly Thr Ile Tyr Thr Asn Val Glu Asp Ile Ile Gln Gln
 20 25 30

Thr Asn Glu Leu Ile Arg Thr Leu Asn Gly Asn Thr Phe His Thr Gly
 35 40 45

Gly Ile Gly Thr Gln Pro Gln Lys Glu Trp Asn Phe Gln Leu Pro Gln
 50 55 60

Leu Gly Thr Thr Leu Leu Asn Leu Asp Asp Asn Tyr Val Gln Ala Thr
 65 70 75 80

Arg Ser Ile Ile Asp Tyr Leu Ala Ser Phe Ile Glu Ala Val Cys Asp
 85 90 95

Asp Glu Ile Val Arg Glu Ala Ser Arg Asn Gly Met Gln Pro Gln Ser
 100 105 110

Pro Ala Leu Ile Ala Leu Ser Ser Ala Lys Phe Lys Thr Ile Asn Phe
 115 120 125

Asn Asn Ser Ser Gln Ser Ile Lys Asn Trp Ser Ala Gln Ser Arg Arg
 130 135 140

Glu Asn Pro Val Tyr Glu Tyr Lys Asn Pro Met Val Phe Glu Tyr Arg
 145 150 155 160

Asn Ser Tyr Ile Leu Gln Arg Ala Asn Ala Gln Tyr Gly Asn Val Met
 165 170 175

Gly Leu Arg Tyr Tyr Thr Ala Ser Asn Ala Cys Gln Ile Ala Ala Phe
 180 185 190

Asp Ser Thr Leu Ala Glu Asn Ala Pro Asn Gly Thr Gln Arg Phe Ile
 195 200 205

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Tyr Asn Gly Arg Leu Lys Arg Pro Ile Ser Asn Val Leu Met Lys Ile
 210 215 220

Glu Ala Gly Ala Pro Asn Ile Ser Asn Pro Thr Ile Leu Pro Asp Pro
 225 230 235 240

Ala Asn Gln Thr Thr Trp Leu Phe Asn Pro Val Gln Ile Met Asn Gly
 245 250 255

Thr Phe Thr Ile Glu Phe Tyr Asn Asn Gly Gln Leu Val Asp Leu Ile
 260 265 270

Arg Asn Met Gly Val Val Thr Val Arg Thr Phe Asp Thr Tyr Arg Ile
 275 280 285

Thr Ile Asp Met Ile Arg Pro Ala Ala Met Thr Gln Tyr Val Gln Arg
 290 295 300

Leu Phe Pro Gln Gly Gly Pro Tyr Gln His Gln Ala Ala Tyr Met Ile
 305 310 315 320

Thr Leu Ser Ile Leu Asp Ala Thr Thr Glu Ser Val Met Cys Asp Ser
 325 330 335

His Ser Val Asp Tyr Ser Ile Val Ala Asn Val Arg Arg Asp Ser Ala
 340 345 350

Met Pro Ala Gly Thr Val Phe Gln Pro Gly Phe Pro Trp Glu Gln Ile
 355 360 365

Leu Ser Asn Tyr Thr Val Ala Gln Glu Asp Asn Leu Glu Arg Leu Leu
 370 375 380

Leu Val Ala Ser Val Lys Arg Met Val Met
 385 390

<210> 73

<211> 33

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> đoạn mồi KSN760 Rota C đảo VP4

<400> 73

cytttrmtay yacttyatyh rmdtttdattr dbc

33

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<210> 74	
<211> 34	
<212> ADN	
<213> trình tự nhân tạo	
<220>	
<223> KSN761 Rota C Forward VP4 primer	
<400> 74	
atggcgctct cactttatca gcarttraty tcac	34
<210> 75	
<211> 52	
<212> ADN	
<213> trình tự nhân tạo	
<220>	
<223> đoạn mồi KSN762 Rota C đảo VP4	
<400> 75	
gtgcggccgc aagcttttac ytrmtyayy acttyatyhr mdttattrd bc	52
<210> 76	
<211> 47	
<212> ADN	
<213> trình tự nhân tạo	
<220>	
<223> KSN763 Rota C Forward primer	
<400> 76	
ggttcgcgct ggatccgcgt cctcacttta tcagcarttr atytcac	47
<210> 77	
<211> 30	
<212> ADN	
<213> trình tự nhân tạo	
<220>	
<223> Primer 1 to insert His Tag in pNPL1	
<400> 77	
atgatgatgc atatgtatat ctctcttta	30
<210> 78	
<211> 28	
<212> ADN	
<213> trình tự nhân tạo	
<220>	
<223> Primer 2 to insert His Tag in pNPL1	
<400> 78	
catcatcatg gatccgaatt cgagctcc	28

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<210> 79	
<211> 32	
<212> ADN	
<213> trình tự nhân tạo	
<220>	
<223> Rota C NSP4 FOR for pNPL3	
<400> 79	
tcatcatcat ggatccatca cctcaaaaac tg	32
<210> 80	
<211> 37	
<212> ADN	
<213> trình tự nhân tạo	
<220>	
<223> Rota C NSP4 REV for pNPL3 or pNPL1	
<400> 80	
gtgcggccgc aagctttcat agacaaactt ccgtctc	37
<210> 81	
<211> 35	
<212> ADN	
<213> trình tự nhân tạo	
<220>	
<223> Rota C VP4 FOR for pNPL3	
<400> 81	
tcatcatcat ggatccaggg cgctcctact ttatc	35
<210> 82	
<211> 35	
<212> ADN	
<213> trình tự nhân tạo	
<220>	
<223> Rota C VP4 REV for pNPL3 or pNPL1	
<400> 82	
gtgcggccgc aagcttttat aacaccatca ttctc	35
<210> 83	
<211> 35	
<212> ADN	
<213> trình tự nhân tạo	
<220>	
<223> Rota C VP6 FOR for pNPL3	
<400> 83	
tcatcatcat ggatccgacg tgctgttttc aattg	35

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<210> 84	
<211> 35	
<212> ADN	
<213> trình tự nhân tạo	
<220>	
<223> Rota C VP6 REV for pNPL3 or pNPL1	
<400> 84	
gtgcggccgc aagcttctac atcaccattc tcttc	35
<210> 85	
<211> 32	
<212> ADN	
<213> trình tự nhân tạo	
<220>	
<223> Rota C NSP4 FOR for pNPL1	
<400> 85	
aatgggtcgc ggaatccatca cctcaaaaac tg	32
<210> 86	
<211> 35	
<212> ADN	
<213> trình tự nhân tạo	
<220>	
<223> Rota C VP4 FOR for pNPL1	
<400> 86	
aatgggtcgc ggaatccaggg cgtcctcact ttatc	35
<210> 87	
<211> 35	
<212> ADN	
<213> trình tự nhân tạo	
<220>	
<223> Rota C VP6 FOR for pNPL1	
<400> 87	
aatgggtcgc ggaatccgacg tgctgttttc aattg	35
<210> 88	
<211> 31	
<212> ADN	
<213> trình tự nhân tạo	
<220>	
<223> Rota C VP7 FOR for pNPL3	
<400> 88	
tcatcatcat ggaatccggtt gtgcaacatt g	31

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<210> 89

<211> 35

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> Rota C VP7 REV đối với pNPL3 hoặc pNPL14

<400> 89

gtgcggccgc aagcttttac gcgtatctta gcac

35

<210> 90

<211> 996

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự VP7: ORF nguyên vẹn

<220>

<221> đặc tính misc

<222> (781)..(781)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 90

atggttgtg caacattgta cactgtttgc gttatactct gcattctttt tatatacact 60

ttactgttta gaaaaatgtt ccacctaatt actgatacat taatcataac tttaataata 120

tctaactgta ttggatggac acatggtaa atgtttattg atgacatgaa ttataatgga 180

aacgttgaaa tagtcattaa cgctactgat ccattcaatg tagaatctct atgtatatat 240

tttccaaatg ctgttgtagg atcacaagga cctgggtcaa cgaatggcca tttaaatgat 300

ggaaattatg ctcaaacaat tgctaccta ttgagacaa aaggattccc aaaaggctca 360

gtaacactta aaacatacat taaagcttca gattttatta gtacagtaga gatgacttgt 420

tcgtataatg tagttataat acctgatgat ccaataaagt cagaggagat tgaacaaata 480

gcagaatgga ttctgaatgt ttggagatgt gatgatatgg atttaactat ttatacttac 540

gaacaaacag gaatagataa ttgtgggct gcttttggtg acgattgtga tatatctgtt 600

tgtccactag aactacaat gcatggaatt ggatgttcac ctgcaagtac agaacaatat 660

gaagtattat caaataacac gcaagtagcg ttaattaatg ttgtagataa tgtaaaacac 720

agaattcaaa tgaatactgg tcattgtaag ttaaagaatt gtgtgaaagg cgaagcaaga 780

ntaaatactg caatagtaag aatttcaaag tcatcaagct ttgataatc attgtcacca 840

ttaaataatg gtcaaacac acgatcattt aaaataaacg ctaagaaatg gtggacaata 900

ttttatacaa taattgatta catfaataca attgtacaga caatgactcc tagacatagg 960

gccatttacc cagaagggtg gatgctaaga tacgcg 996

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<210> 91
 <211> 332
 <212> PRT
 <213> trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự VP7: ORF nguyên vẹn

<220>
 <221> đặc tính misc
 <222> (261)..(261)
 <223> Xaa có thể là axit amin xuất hiện trong tự nhiên bất kỳ

<400> 91

Met Val Cys Ala Thr Leu Tyr Thr Val Cys Val Ile Leu Cys Ile Leu
 1 5 10 15

Phe Ile Tyr Thr Leu Leu Phe Arg Lys Met Phe His Leu Ile Thr Asp
 20 25 30

Thr Leu Ile Ile Thr Leu Ile Ile Ser Asn Cys Ile Gly Trp Thr His
 35 40 45

Gly Gln Met Phe Ile Asp Asp Met Asn Tyr Asn Gly Asn Val Glu Ile
 50 55 60

Val Ile Asn Ala Thr Asp Pro Phe Asn Val Glu Ser Leu Cys Ile Tyr
 65 70 75 80

Phe Pro Asn Ala Val Val Gly Ser Gln Gly Pro Gly Gln Thr Asn Gly
 85 90 95

His Leu Asn Asp Gly Asn Tyr Ala Gln Thr Ile Ala Thr Leu Phe Glu
 100 105 110

Thr Lys Gly Phe Pro Lys Gly Ser Val Thr Leu Lys Thr Tyr Ile Lys
 115 120 125

Ala Ser Asp Phe Ile Ser Ser Val Glu Met Thr Cys Ser Tyr Asn Val
 130 135 140

Val Ile Ile Pro Asp Asp Pro Asn Lys Ser Glu Glu Ile Glu Gln Ile
 145 150 155 160

Ala Glu Trp Ile Leu Asn Val Trp Arg Cys Asp Asp Met Asp Leu Thr
 165 170 175

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Ile Tyr Thr Tyr Glu Gln Thr Gly Ile Asp Asn Leu Trp Ala Ala Phe
180 185 190

Gly Asp Asp Cys Asp Ile Ser Val Cys Pro Leu Asp Thr Thr Met His
195 200 205

Gly Ile Gly Cys Ser Pro Ala Ser Thr Glu Thr Tyr Glu Val Leu Ser
210 215 220

Asn Asn Thr Gln Val Ala Leu Ile Asn Val Val Asp Asn Val Lys His
225 230 235 240

Arg Ile Gln Met Asn Thr Gly His Cys Lys Leu Lys Asn Cys Val Lys
245 250 255

Gly Glu Ala Arg Xaa Asn Thr Ala Ile Val Arg Ile Ser Lys Ser Ser
260 265 270

Ser Phe Asp Asn Ser Leu Ser Pro Leu Asn Asn Gly Gln Thr Thr Arg
275 280 285

Ser Phe Lys Ile Asn Ala Lys Lys Trp Trp Thr Ile Phe Tyr Thr Ile
290 295 300

Ile Asp Tyr Ile Asn Thr Ile Val Gln Thr Met Thr Pro Arg His Arg
305 310 315 320

Ala Ile Tyr Pro Glu Gly Trp Met Leu Arg Tyr Ala
325 330

<210> 92

<211> 2208

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP4 ORF nguyên vẹn GenBank (M74218)

<400> 92

atggcgctcct cactttatca gcagttaatt tcacaaaatt attattctat tggaacgaa 60

atattaacag atcaacagac aacagaaact gtagtagatt atgtagatgc tggttaattat 120

acatacgcgc aattaccacc tactaaatgg ggagcacgtg ggacttttaa gtctgcattt 180

aatgtatcaa atataactgg acctcatagc aatacaataa tagaatggag taatttacta 240

aattctaacg gatgggtcat ttatcaaaaa ccggccaata ctacaaaatt atttaaacad 300

DANH MỤC TRÌNH TỰ

ggaccagaaa cttataacag taacttggca gcatttgaat tatggtatgg taaagctggt	360
acatcagtta catcagacta ttattcttca ttacagaata atgaaaaaac tgtgacagct	420
acttcagatt cattgatact attttggat gaaggatcta cagtgttagc taataaaaag	480
gtaaatttta gctgggacat ggggtggtatg ttaataaaac ctacgagagg caatagagtg	540
gacatctgca tggcaaacat gaatgattc aatagtagca tatttaattg ggaagaatgg	600
aaacatgaat ttccacgcag tgatgttaat ataaatgta atatgtatac agattattat	660
cttgcgagtg aagatcctta tactgaactt aaagcactac agcaacccaa cattacaact	720
tttgagatga aaatgatgaa aataatccgt aatgggtcaa taaactgaa tgaagtagta	780
agtaaagact cactatggca ggaggtgaaga tatgctaggg atataacgtt agagtgaag	840
atagaatcag aagtagtcaa aggtggtgga tggggttatg actacacgag ttagctttt	900
aaaactgtta atcatacata cacgtatact cgagctggtg aaatagtaaa tgcacatgtt	960
accattagtt ttaataatat gaaagaacga tcatacgggg gttcattacc gactgattc	1020
aaaataggaa ggtttgatgt aattgatact gatacttata tgtatataga ttattgggac	1080
gattcagaaa tttcaaaaa tatggtgtat gtgcgtgatt taagtgctaa cattggtggt	1140
ttcttttt atgctgaaat gtcataattt ttcaaattc ctgtaggtgc acatccagga	1200
ttacattcat caggagtaag attgtatat gaaagatgtc tttatcaca acaattcact	1260
gaccaagttg cacttaactc tatgaggttc atatttagag tgacagaatc aaatggttgg	1320
tttatgacat caggtaatat taactacta cggatagcat caggaaactgg attgcatat	1380
gcagacgggc atacttctca aacagttgga aatattactt tcatacatt gatcccaagt	1440
aatccaaatt atcagacacc aatagcatca tcaagcacag tcaggatgga tttagaaagg	1500
aagataaatg attacgtaa tgattttaat cagctagcta attcagtcgc attaggtgac	1560
attctatctt tggcaactc accactaact ttgctaatt tgettgaatc agtgcctgct	1620
atcgcttcat cagttaaaga tgttgacgt aatgtaatga aaaaatttag aaactactaa	1680
atgttataaa aagctacaaa agctaaatat agtgagtta ttattggaga ttgttgga	1740
gatgtaacga atgttgacg aaattcaaat ggcatgaatt ttgatgacat tacatccgct	1800
gtgatggtat caactactaa taaactacaa ctactgacg tagacacact ctacagagatt	1860
gtcgctagat cagctgataa tttatccct aacagatctt acagaatgat agaagacggt	1920
attgtgtatg aagcaacacc aaaacgaact ttctcatacg atcttacaac attgcaacag	1980
agggaattg acatagataa gttcatgcga ttggcatcta aatcaccagt aatatctgca	2040
atagtagatt ttgcaacatt aaaggctatg agagaaacat atggtgtagg aacggacgta	2100

DANH MỤC TRÌNH TỰ

atatacaaat tagtagcctc agatgctcca acgatattat cattcatcga taacaacaat 2160

ccgttgatta aaagtagaat tgaggaacta ttaagacaat gcagatta 2208

<210> 93

<211> 736

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> VP4 ORF nguyên vẹn GenBank (M74218)

<400> 93

Met Ala Ser Ser Leu Tyr Gln Gln Leu Ile Ser Gln Asn Tyr Tyr Ser
1 5 10 15

Ile Gly Asn Glu Ile Leu Thr Asp Gln Gln Thr Thr Glu Thr Val Val
20 25 30

Asp Tyr Val Asp Ala Gly Asn Tyr Thr Tyr Ala Gln Leu Pro Pro Thr
35 40 45

Lys Trp Gly Ala Arg Gly Thr Phe Lys Ser Ala Phe Asn Val Ser Asn
50 55 60

Ile Thr Gly Pro His Thr Asn Thr Ile Ile Glu Trp Ser Asn Leu Leu
65 70 75 80

Asn Ser Asn Gly Trp Val Ile Tyr Gln Lys Pro Ala Asn Thr Thr Lys
85 90 95

Leu Phe Lys His Gly Pro Glu Thr Tyr Asn Ser Asn Leu Ala Ala Phe
100 105 110

Glu Leu Trp Tyr Gly Lys Ala Gly Thr Ser Val Thr Ser Asp Tyr Tyr
115 120 125

Ser Ser Leu Gln Asn Asn Glu Lys Thr Val Thr Ala Thr Ser Asp Ser
130 135 140

Leu Ile Leu Phe Trp Asn Glu Gly Ser Thr Val Leu Ala Asn Lys Lys
145 150 155 160

Val Asn Phe Ser Trp Asp Met Gly Gly Met Leu Ile Lys Pro Thr Arg
165 170 175

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Gly Asn Arg Val Asp Ile Cys Met Ala Asn Met Asn Asp Phe Asn Ser
 180 185 190

Ser Ile Phe Asn Trp Glu Glu Trp Lys His Glu Phe Pro Arg Ser Asp
 195 200 205

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

Asp Pro Tyr Thr Glu Leu Lys Ala Leu Gln Gln Pro Asn Ile Thr Thr
 225 230 235 240

Phe Glu Met Lys Met Met Lys Ile Ile Arg Asn Gly Ser Ile Asn Leu
 245 250 255

Asn Glu Val Val Ser Lys Asp Ser Leu Trp Gln Glu Val Arg Tyr Ala
 260 265 270

Arg Asp Ile Thr Leu Glu Cys Lys Ile Glu Ser Glu Val Val Lys Gly
 275 280 285

Gly Gly Trp Gly Tyr Asp Tyr Thr Ser Val Ala Phe Lys Thr Val Asn
 290 295 300

His Thr Tyr Thr Tyr Thr Arg Ala Gly Glu Ile Val Asn Ala His Val
 305 310 315 320

Thr Ile Ser Phe Asn Asn Met Lys Glu Arg Ser Tyr Gly Gly Ser Leu
 325 330 335

Pro Thr Asp Phe Lys Ile Gly Arg Phe Asp Val Ile Asp Thr Asp Thr
 340 345 350

Tyr Met Tyr Ile Asp Tyr Trp Asp Asp Ser Glu Ile Phe Lys Asn Met
 355 360 365

Val Tyr Val Arg Asp Leu Ser Ala Asn Ile Gly Gly Phe Phe Tyr Tyr
 370 375 380

Ala Glu Met Ser Tyr Tyr Phe Gln Ile Pro Val Gly Ala His Pro Gly
 385 390 395 400

Leu His Ser Ser Gly Val Arg Phe Val Tyr Glu Arg Cys Leu Leu Ser
 405 410 415

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Gln Gln Phe Thr Asp Gln Val Ala Leu Asn Ser Met Arg Phe Ile Phe
420 425 430

Arg Val Thr Glu Ser Asn Gly Trp Phe Met Thr Ser Gly Asn Ile Asn
435 440 445

Thr Arg Arg Ile Ala Ser Gly Thr Gly Phe Ala Tyr Ala Asp Gly His
450 455 460

Thr Ser Gln Thr Val Gly Asn Ile Thr Phe Ile Ser Leu Ile Pro Ser
465 470 475 480

Asn Pro Asn Tyr Gln Thr Pro Ile Ala Ser Ser Ser Thr Val Arg Met
485 490 495

Asp Leu Glu Arg Lys Ile Asn Asp Leu Arg Asn Asp Phe Asn Gln Leu
500 505 510

Ala Asn Ser Val Ala Leu Gly Asp Ile Leu Ser Leu Ala Thr Ser Pro
515 520 525

Leu Thr Phe Ala Asn Leu Leu Glu Ser Val Pro Ala Ile Ala Ser Ser
530 535 540

Val Lys Asp Val Ala Ala Asn Val Met Lys Lys Phe Arg Asn Thr Lys
545 550 555 560

Met Phe Lys Lys Ala Thr Lys Ala Lys Tyr Ser Glu Phe Ile Ile Gly
565 570 575

Asp Leu Leu Glu Asp Val Thr Asn Val Ala Arg Asn Ser Asn Gly Met
580 585 590

Asn Phe Asp Asp Ile Thr Ser Ala Val Met Val Ser Thr Thr Asn Lys
595 600 605

Leu Gln Leu Thr Asp Val Asp Thr Leu Ser Glu Ile Val Ala Arg Ser
610 615 620

Ala Asp Asn Phe Ile Pro Asn Arg Ser Tyr Arg Met Ile Glu Asp Gly
625 630 635 640

Ile Val Tyr Glu Ala Thr Pro Lys Arg Thr Phe Ser Tyr Asp Leu Thr
645 650 655

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Thr Leu Gln Gln Arg Glu Phe Asp Ile Asp Lys Phe Met Arg Leu Ala
660 665 670

Ser Lys Ser Pro Val Ile Ser Ala Ile Val Asp Phe Ala Thr Leu Lys
675 680 685

Ala Met Arg Glu Thr Tyr Gly Val Gly Thr Asp Val Ile Tyr Lys Leu
690 695 700

Val Ala Ser Asp Ala Pro Thr Ile Leu Ser Phe Ile Asp Asn Asn Asn
705 710 715 720

Pro Leu Ile Lys Ser Arg Ile Glu Glu Leu Leu Arg Gln Cys Arg Leu
725 730 735

<210> 94

<211> 2229

<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> thể dung hợp ba thành phần gồm Rota C NSP4-VP4-VP6

<400> 94

atcacctcaa aaactgtgat tgaaagattt aaaactgaaa acaatactaa tgatcaaagc 60
ggtaatatcc atgaagaata tgaagaggta atgaacaaa tgcgtgagat gaaaattcat 120
ttgactgccc tatttaataa tatacacaaa gataatatgg agtggaggat gaggtaatca 180
attcgcagag aaaagaaacg tgaatgaaa gcgaatacag ccgagaatgt aattaaaaat 240
gatgtaaaata atgttaacat atgtgatacg tcaggactgg agacggaagt ttgtctaagg 300
gcgtcctcac ttatcagca attaatctca caaaattatt attcaactgg taatgaaatt 360
ttgttgata gacagactac cagaaccact aaagattacg tagaagctgg aaattataca 420
tatgtcfaat taccaccaac ggagtgaggga gcagggtcaa ccttgaatc tacattcaaa 480
tcatacaata taactgtgcc acacaataac acagtcattg aatggagtaa ttaataaat 540
tctgatattt ggttattgta tcaaaaacca ttggatataa ctgcaccaat cagattatta 600
aaacatggac cggaaaatca tgctgatgta gcagcttttg aattatggta tggtaaagct 660
ggtcataccg tgacatcaat atattattca gcaatatcta atcctaataa tactgttacg 720
ttaacgtcgg attcattagt tctattttgg aacgaaggtc aaacgatact ggatacaaag 780
acagtcaatt ttaattggaa tatgggtggg atattagta gaccgtcaag aggtacacgt 840
gtggacattt gtatgtctga tatggacaat acagatggta ctaatttaa ttggattcaa 900
tggaagcatg agttccccc tagtagtagt aatgctaag ttagtatgta tgttgaatat 960

DANH MỤC TRÌNH TỰ

tatctagcaa gtagtgatcc ataccatgaa ctcaaagagt tgcaaagacc agcagtaaca 1020
 actataaata tgagaatgat ggtgttagac gtgctgtttt caattgcaa gactgttca 1080
 gatctcaaga agaaagtgt agttgttact atttatacaa atgtagaaga tataattcaa 1140
 cagactaacg aattgattag aactttaaat ggcaacacat tccatactgg tggaaattga 1200
 acacaacctc aaaaagaatg gaactttcag ctaccacagc taggtacaac actcttgaat 1260
 ttggatgata actatgttca agcaactaga agtattattg attacttagc ctcattcata 1320
 gaagcagtgt gtgatgacga aattgttaga gaagcgtcaa gaaatggaat gcaacctcaa 1380
 tcccctgcat ttatagcatt atcttcatca aaatttaaga ctattaattt taacaatagt 1440
 tcgcaatcca ttaaaaattg gagtgctcaa tcaagacgtg agaatccagt ttatgaatac 1500
 aaaaatccga tgggtattga atatagaaat tegtacattc ttcagcgtgc taatgcacaa 1560
 ttgggaacg taatgggact gagatattac acagccagca atgtctgtca gattgcagct 1620
 ttgattcaa ctcttgctga aaatgctcct aatggcgtc aacggtttat ctataatgga 1680
 agacttaaga gaccaatttc taatgtgttg atgaaaattg aagcaggcgc tccaaatatt 1740
 aataatcaa caatactacc tgatccagca aaccaaacta catggttatt taatccagt 1800
 cagataatga atggaacgtt cactattgaa tttacaaca atggacaatt ggtcgatttg 1860
 attagaaata tgggagtggt tactgttaga acgtttgata catacagaat tacaattgat 1920
 atgattagac cagcagccat gacacagtat gtacaaagac tgttcccaca aggtggccca 1980
 tatcaacatc aagctgcata tatgatgaca cttagtatat tagatgtac aacagaatca 2040
 gttatgtgcg attcacattc agtagactat tcaattgttg caaatgtcag aagagattca 2100
 gcgatgccag ctggaacagt attcagcca ggctttccat gggaacagac gttatccaac 2160
 tacactgttg cttaggaaga caatttagaa agacttttat tggttgcgtc tgtgaagaga 2220
 atggtgatg 2229

<210> 95

<211> 743

<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> Triple fusion Rota C NSP4-VP4-VP6

<400> 95

Ile Thr Ser Lys Thr Val Ile Glu Arg Phe Lys Thr Glu Asn Asn Thr
 1 5 10 15

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Asn Asp Gln Ser Gly Asn Ile His Glu Glu Tyr Glu Glu Val Met Lys
20 25 30

Gln Met Arg Glu Met Lys Ile His Leu Thr Ala Leu Phe Asn Asn Ile
35 40 45

His Lys Asp Asn Met Glu Trp Arg Met Ser Glu Ser Ile Arg Arg Glu
50 55 60

Lys Lys Arg Glu Met Lys Ala Asn Thr Ala Glu Asn Val Ile Lys Asn
65 70 75 80

Asp Val Asn Asn Val Asn Ile Cys Asp Thr Ser Gly Leu Glu Thr Glu
85 90 95

Val Cys Leu Arg Ala Ser Ser Leu Tyr Gln Gln Leu Ile Ser Gln Asn
100 105 110

Tyr Tyr Ser Thr Gly Asn Glu Ile Leu Leu Asp Arg Gln Thr Thr Arg
115 120 125

Thr Thr Lys Asp Tyr Val Glu Ala Gly Asn Tyr Thr Tyr Ala Gln Leu
130 135 140

Pro Pro Thr Glu Trp Gly Ala Gly Ser Thr Phe Glu Ser Thr Phe Lys
145 150 155 160

Ser Ser Asn Ile Thr Gly Pro His Asn Asn Thr Val Ile Glu Trp Ser
165 170 175

Asn Leu Met Asn Ser Asp Ile Trp Leu Leu Tyr Gln Lys Pro Leu Asp
180 185 190

Ile Thr Ala Pro Ile Arg Leu Leu Lys His Gly Pro Glu Asn His Ala
195 200 205

Asp Val Ala Ala Phe Glu Leu Trp Tyr Gly Lys Ala Gly His Thr Val
210 215 220

Thr Ser Ile Tyr Tyr Ser Ala Ile Ser Asn Pro Asn Asn Thr Val Thr
225 230 235 240

Leu Thr Ser Asp Ser Leu Val Leu Phe Trp Asn Glu Gly Gln Thr Ile
245 250 255

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Leu Asp Thr Lys Thr Val Asn Phe Asn Trp Asn Met Gly Gly Ile Leu
 260 265 270

Val Arg Pro Ser Arg Gly Thr Arg Val Asp Ile Cys Met Ser Asp Met
 275 280 285

Asp Asn Thr Asp Gly Thr Asn Phe Asn Trp Ile Gln Trp Lys His Glu
 290 295 300

Phe Pro Arg Ser Ser Ser Asn Ala Asn Val Ser Met Tyr Val Glu Tyr
 305 310 315 320

Tyr Leu Ala Ser Ser Asp Pro Tyr His Glu Leu Lys Glu Leu Gln Arg
 325 330 335

Pro Ala Val Thr Thr Ile Asn Met Arg Met Met Val Leu Asp Val Leu
 340 345 350

Phe Ser Ile Ala Lys Thr Val Ser Asp Leu Lys Lys Lys Val Val Val
 355 360 365

Gly Thr Ile Tyr Thr Asn Val Glu Asp Ile Ile Gln Gln Thr Asn Glu
 370 375 380

Leu Ile Arg Thr Leu Asn Gly Asn Thr Phe His Thr Gly Gly Ile Gly
 385 390 395 400

Thr Gln Pro Gln Lys Glu Trp Asn Phe Gln Leu Pro Gln Leu Gly Thr
 405 410 415

Thr Leu Leu Asn Leu Asp Asp Asn Tyr Val Gln Ala Thr Arg Ser Ile
 420 425 430

Ile Asp Tyr Leu Ala Ser Phe Ile Glu Ala Val Cys Asp Asp Glu Ile
 435 440 445

Val Arg Glu Ala Ser Arg Asn Gly Met Gln Pro Gln Ser Pro Ala Phe
 450 455 460

Ile Ala Leu Ser Ser Ser Lys Phe Lys Thr Ile Asn Phe Asn Asn Ser
 465 470 475 480

Ser Gln Ser Ile Lys Asn Trp Ser Ala Gln Ser Arg Arg Glu Asn Pro
 485 490 495

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Val Tyr Glu Tyr Lys Asn Pro Met Val Phe Glu Tyr Arg Asn Ser Tyr
 500 505 510

Ile Leu Gln Arg Ala Asn Ala Gln Phe Gly Asn Val Met Gly Leu Arg
 515 520 525

Tyr Tyr Thr Ala Ser Asn Val Cys Gln Ile Ala Ala Phe Asp Ser Thr
 530 535 540

Leu Ala Glu Asn Ala Pro Asn Gly Ala Gln Arg Phe Ile Tyr Asn Gly
 545 550 555 560

Arg Leu Lys Arg Pro Ile Ser Asn Val Leu Met Lys Ile Glu Ala Gly
 565 570 575

Ala Pro Asn Ile Asn Asn Pro Thr Ile Leu Pro Asp Pro Ala Asn Gln
 580 585 590

Thr Thr Trp Leu Phe Asn Pro Val Gln Ile Met Asn Gly Thr Phe Thr
 595 600 605

Ile Glu Phe Tyr Asn Asn Gly Gln Leu Val Asp Leu Ile Arg Asn Met
 610 615 620

Gly Val Val Thr Val Arg Thr Phe Asp Thr Tyr Arg Ile Thr Ile Asp
 625 630 635 640

Met Ile Arg Pro Ala Ala Met Thr Gln Tyr Val Gln Arg Leu Phe Pro
 645 650 655

Gln Gly Gly Pro Tyr Gln His Gln Ala Ala Tyr Met Met Thr Leu Ser
 660 665 670

Ile Leu Asp Ala Thr Thr Glu Ser Val Met Cys Asp Ser His Ser Val
 675 680 685

Asp Tyr Ser Ile Val Ala Asn Val Arg Arg Asp Ser Ala Met Pro Ala
 690 695 700

Gly Thr Val Phe Gln Pro Gly Phe Pro Trp Glu Gln Thr Leu Ser Asn
 705 710 715 720

Tyr Thr Val Ala Gln Glu Asp Asn Leu Glu Arg Leu Leu Leu Val Ala
 725 730 735

DANH MỤC TRÌNH TỰ

Ser Val Lys Arg Met Val Met
740

<210> 96
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> đoạn mồi NSP4 xuôi

<400> 96
aagtgaggac gcccttagac aaacttcgt ctcc 34

<210> 97
<211> 19
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> VP4 Forward primer

<400> 97
aggcgctct cactttatc 19

<210> 98
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> đoạn mồi VP4 ngược

<400> 98
tgaaaacagc acgtctaaca ccatcattct c 31

<210> 99
<211> 20
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> đoạn mồi VP4 xuôi

<400> 99
gacgtgctgt ttcaattgc 20