



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-024772- -00011-0000

Fecha: 2013-02-25 16:26:44 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 329 CTOINFORMACION Folios: 175

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
CONVERSIÓN, DIVISIÓN Y FUSIÓN DE SOLICITUDES

1. Identificación del Trámite

☐ Conversión

☒ División

☐ Fusión

☒ Patente de Invención

☐ Patente de Modelo de Utilidad

2. Datos del solicitante

☐ Persona Natural

☒ Persona Jurídica

Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH

Nombre o denominación / Nombre o razón social

Nombre del representante legal

Tipo de empresa

☐ Micro

☐ Pequeña

☐ Mediana

☒ Otra

Documento de identificación

☐ C.C.

☐ C.E.

☐ NIT

☒ Otro

Número

Nacionalidad/País de constitución	Dirección del titular	Ciudad
Alemania	Binger Strasse 173, 55216	Ingelheim am Rein
Dirección electrónica	No. Fax	Número telefónico
info@brlatina.com	3230234	3230233

☒

Autorizo expresamente a la Superintendencia de Industria y Comercio para que todas las comunicaciones sean enviadas a través de la dirección de correo electrónico

3. Datos del apoderado:

BONILLA CASTRO, Martha

Apellidos y Nombre

C.C. 41,566,976

Documento de identificación

T.P. 41,527

Tarjeta profesional

Dirección y domicilio	Dirección del titular	Ciudad
Cra 13 No 29-41 Of. 241	Parque Central Bavaria	Bogotá D.C.
Dirección electrónica	No. Fax	Número telefónico
info@brlatina.com	3230234	3230233

En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sirvase indicar el número de su radicación o protocolo de poder general

4. Datos del trámite:		
CONVERSION	DIVISION	FUSION
Expediente No. _____ De: _____ A: _____	Expediente No. <u>10-024772</u> No. de divisionales <u>1</u>	Expediente No. _____ Expediente No. _____

5. Comprobante de Pago No	<u>13-0018608 y 13-0018609</u>	Fecha	<table border="1"><tr><td>26</td><td>2</td><td>2013</td></tr></table>	26	2	2013
26	2	2013				

6. Anexos	
☒	Comprobante de pago de la tasa para la presentación de la corrección y/o modificación
☐	Poder, si fuere el caso con el que se acredita la representación
☐	Número de documento que ordena la comisión o fusión o división
☒	Documento que contiene la conversión, división o fusión de la solicitud
☐	Copia de la solicitud y sus anexos en formato magnético

7. Firma	
<u>Martha Bonilla Castro</u> Nombre y apellidos	<u>Martha Bonilla Castro</u> Firma
<u>41.566.976 de Bogotá D.C.</u> C.C.	<u>41.527</u> Tarjeta Profesional

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

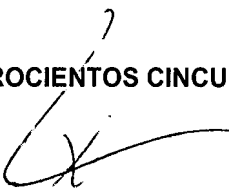
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 13 - 0018608
		Bogotá D.C., Febrero 25 de 2013 - 14:41:03

RECIBIDO DE : B&R LTDA	NI 830.122.790
------------------------	----------------

*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	197816474	25/02/2013	1.470.000.00

*** Conceptos Pagados ***			
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	2205 DIVISIONAL SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCIÓN CONT. DERE	450.000.00 450.000.00
			\$450.000.00

SON: **CUATROCIENTOS CINCUENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: 
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. 10-024772

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 10-024772- -00011-0000
Fecha: 2013-02-25 16:26:44 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 329 CTOINFORMACION Folios: 175

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 13 - 0018609

Bogotá D.C., Febrero 25 de 2013 - 14:41:03

RECIBIDO DE : B&R LTDA

NI 830.122.790

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	197816474	25/02/2013	1.470.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
34	50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	30.000.00	1.020.000.00
				\$1.020.000.00

SON: **UN MILL&OACUTE;N VEINTE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. 10-024772

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-024772- -00011-0000

Fecha: 2013-02-25 16:26:44 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 329 CTOINFORMACION Folios: 175

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Febrero 25 de 2013 - 14:41:03

**TITULO: NUEVOS GENES Y PROTEÍNAS DE *BRACHYSPIRA*
HYODYSENTERIAE Y EL USO DE LOS MISMOS**

5

RESUMEN

Se describen el nuevo Polinucleótido y los aminoácidos de *Brachyspira*
hyodysenteriae. Estas secuencias son útiles para el diagnóstico de la
10 enfermedad de *B. hyodysenteriae* en animales y útiles como un tratamiento
terapéutico o profiláctico de la enfermedad de *B. hyodysenteriae* en
animales. Estas secuencias pueden también ser útiles para el diagnóstico y
para el tratamiento terapéutico y / o profiláctico de enfermedades de los
animales causada por *Brachyspira* en otras especies, incluyendo *B.*
15 *intermedia*, *B. suantatina*, *B.alvinipulli* *B. aalborgi*, *B.Innocens*, *B.murdochii*, y
B. pilosicoli.

20

25

30

35

DESCRIPCIÓN

CAMPO DE LA INVENCION

5 Esta invención hace referencia a los nuevos genes en *Brachyspira* *hyodysenteriae* y a las proteínas codificadas en el mismo. Esta invención se relaciona con el uso de estos nuevos genes y con las proteínas para el diagnóstico de la enfermedad *B. hyodysenteriae* y vacunas contra *B. hyodysenteriae* para la detección de compuestos que maten *B.* *hyodysenteriae* o bloqueen los efectos patógenos de *B. hyodysenteriae*. Estas

10 secuencias pueden también ser útiles para el diagnóstico terapéutico y / o el tratamiento profiláctico de enfermedades de los animales causados por otras especies *Brachyspira* incluyendo *B. suanatina*, *B. intermedia*, *B. alvinipulli*, *B. aalborgi*, *B. lhnocens*, *B. murdochii*, y *B. pilosicoli*.

15

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La disentería porcina es una delicada enfermedad endémica de los cerdos principalmente en Australia y en todo el mundo. La disentería porcina es una

20 enfermedad contagiosa dentro de las enfermedades diarreicas muco-hemorrágicas, caracterizada por una extensa inflamación y necrosis de la superficie epitelial del intestino grueso. La disentería porcina genera pérdidas económicas debido al retraso del crecimiento, los costos de los medicamentos y la mortalidad. El agente causal de la disentería porcina fue

25 identificado como una espiroqueta anaerobia (*Treponema hyodysenteriae*) en 1971, y recientemente fue reasignado a la *Brachyspira hyodysenteriae* género como *B.* En el caso de disentería porcina establecida en pocilga, el espectro de la enfermedad puede variar desde leves, transitorias o no evidentes, a ser grave e incluso mortal. Las estrategias de medicación en

30 pocilgas individuales pueden enmascarar los signos clínicos y en algunas granjas la enfermedad puede pasar desapercibida o sólo puede que pase como una sospecha. Sea o no el caso de la enfermedad *B. hyodysenteriae* puede persistir en los cerdos infectados, o en algunos huéspedes tales como roedores o el medio ambiente. Todas estas fuentes representan el potencial

35 para la transmisión de la enfermedad a las piaras no infectadas. Las aves de corral comerciales también pueden ser colonizados por *B. hyodysenteriae*, aunque no está claro cómo ocurre bajo condiciones de campo.

La colonización por *B. hyodysenteriae*, provoca una fuerte respuesta inmunológica contra la espiroqueta. Por ese motivo, las pruebas indirectas de exposición a la espiroqueta, pueden ser obtenidas mediante medición de niveles de anticuerpos que circulan en la sangre de animales infectados.

5 Estos anticuerpos deben ser mantenidos en niveles bajos incluso en los animales que se han recuperado de la disentería porcina. En ese sentido, las pruebas serológicas para la detección de anticuerpos tienen un potencial considerable para la detección de infecciones subclínicas en cerdos recuperados portadores que tienen cantidades indetectables en sus largos

10 intestinos. Una variedad de técnicas se han desarrollado para demostrar la presencia de anticuerpos circulantes en contra de *B. hyodysenteriae*. Estas técnicas incluyen pruebas de inmunofluorescencia indirecta, pruebas de hemaglutinación, pruebas de aglutinación de microtitulación, pruebas de fijación del complemento y ELISA utilizando tanto lipopolisacárido o todo las

15 espiroquetas sónicas como antígeno. Todas estas pruebas han sufrido de problemas de especificidad tales como el caso de intestinos no patógenos espiroquetos que pueden inducir a una reacción cruzada de anticuerpos.

Estas pruebas son útiles para la detección de piaras en los que es evidente

20 la presencia de la enfermedad y los altos anticuerpos circulantes, pero donde es difícil la detección de piaras infectadas subclínicamente de los cerdos individuales infectados. Por consiguiente, hasta la fecha, no hay ensayos sensibles y específicos disponibles para la detección de anticuerpos contra *B. hyodysenteriae*. La falta de pruebas de diagnóstico adecuadas ha

25 dificultado el control de la disentería porcina.

Varios métodos se han empleado para el control de la disentería porcina, que van desde el uso profiláctico de agentes antimicrobianos, para lograr la reducción de infecciones dentro de las piaras infectadas, hasta la prevención

30 de la reintroducción de cerdos portadores infectados. Todas estas opciones son costosas y para que sean totalmente eficaces, se requiere uso de sofisticadas pruebas de diagnóstico para monitorear el progreso. Actualmente, la detección de la disentería porcina en piaras con infecciones subclínicas y en animales portadores sanos, sigue siendo un problema

35 importante que obstaculiza la implementación de medidas de control eficaces. El diagnóstico definitivo de la disentería porcina tradicionalmente ha requerido el aislamiento y la identificación de *B. hyodysenteriae* de las heces

o la mucosa de los cerdos enfermos. Los principales problemas se encuentran en el crecimiento lento y en los exigentes requerimientos nutricionales de estas bacterias anaeróbicas y las confusiones que se presentan debido a la presencia de espiroquetas morfológicamente similares en la flora normal del intestino del cerdo.

Una mejora significativa en el diagnóstico de cada uno de los cerdos afectados se logró con el desarrollo de la reacción en cadena de polimerasa (PCR), en los ensayos para la detección de las espiroquetas de las heces.

Desafortunadamente, en las aplicaciones prácticas del límite de detección de PCR se hacía imposible detectar los animales portadores de infecciones subclínicas. Como consecuencia de estos problemas de diagnóstico, existe una clara necesidad de desarrollar una herramienta de diagnóstico simple y eficaz, capaz de detectar la infección por *B. hyodysenteriae* en las piaras de cerdos y en los cerdos individuales. Una respuesta inmunológica fuerte ha sido inducida en contra de la colonización siguiente de la espiroqueta con *hyodysenteriae* B. y los cerdos recuperados de la disentería porcina están protegidos contra la re-infección. A pesar de ello, los intentos de desarrollar vacunas para el control de la disentería porcina han tenido un éxito muy limitado. Ya sea porque han proporcionado una protección inadecuada en las piaras, o porque ha sido demasiado costoso y difícil de producir para que sean comercialmente viables. Las vacunas Bacterin proporcionan un cierto nivel de protección, pero tienden a ser serogrupo lipopolisacárido específico, el cual requiere el uso de bacterianas polivalentes. Además, son difíciles y costosos de producir a gran escala debido a las exigentes necesidades de crecimiento anaerobio de la espiroqueta.

Varios intentos se han hecho para desarrollar vacunas vivas atenuadas para la disentería porcina. Este enfoque tiene la desventaja de que las cepas atenuadas muestran una reducción de la colonización, y por lo tanto, causan una reducción de la estimulación inmune. También hay una renuencia por parte de los productores y veterinarios para el uso de vacunas vivas de la disentería porcina, debido a la posibilidad de reversión a la virulencia, especialmente en lo que se conoce acerca de la regulación genética y la organización de *hyodysenteriae* B.

35

El uso de vacunas en subunidades recombinantes es una alternativa atractiva, ya que los productos serían bien definidos (esencial para el

registro), y relativamente fácil de producir en gran escala. Hasta la fecha el primer empleo informado de una proteína recombinante de *B. hyodysenteriae* como un candidato de vacuna (a 38 kilodalton proteína flagelo), no pudo prevenir la colonización en los cerdos. Este fracaso es probable que se deba específicamente a la proteína recombinante particular utilizada, así como a otras cuestiones de flujo de sistemas de suministro y a las rutas, las tasas de dosis, la elección de los adyuvantes, etc (Gabe, JD, Chang RJ, Slomiany, R, Andrews, WH y McCaman, MT (1995). El aislamiento de proteínas de B204 extracitoplásmico *Serpulina hyodysenteriae* y la clonación molecular del gen que codifica una flaB1 proteína flagelar 38-kilodalton. *Infección e Inmunidad* 63:142-148). El primer recombinante *B.* parcialmente utilizado para la vacunación fue un 29,7 kDa, lipoproteína de membrana externa (Bhlp29.7, también conocido como BmpB y BlpA), el cual tenía homología con las uniones de metionina de las lipoproteínas de varias bacterias patógenas. El uso de la proteína Bhlp29.7 recombinante para la vacunación de los cerdos, seguidos por un desafío experimental con *B. hyodysenteriae*, se tradujo en 17-40% de los cerdos vacunados que desarrollaron la enfermedad, comparado con el 50-70% de los cerdos no vacunados, controlados de desarrollar la enfermedad. Dado que la incidencia de la enfermedad para el Bhlp29.7 en cerdos vacunados fue significativamente ($P = 0,047$) menor que el de los cerdos control, Bhlp29.7 parecía tener potencial como un componente de la vacuna contra la disentería porcina (La, T, Phillips, ND, Reichel MP y Hampson DJ (2004). Protección de los cerdos de la disentería porcina mediante la vacunación con BmpB recombinante, un 29, 7 kDa lipoproteína de la membrana externa de *Brachyspira hyodysenteriae*. *Veterinary Microbiology* 102: 97 – 109). Una serie de otros intentos se han realizado para identificar las proteínas que envuelven el exterior de *B. hyodysenteriae* que podrían ser utilizados como componentes de la vacuna recombinante, pero de nuevo, ninguna vacuna eficaz se ha encontrado todavía. Un enfoque mucho más global es necesario para la identificación de proteínas inmunogénicas recombinantes de *B. hyodysenteriae* potencialmente útiles.

Hasta la fecha, sólo un estudio utilizando el ADN para la vacunación ha sido reportado. En este estudio, el gen *B. hyodysenteriae* *ftnA*, que codifica una ferritina putativa, fue clonado en un plásmido de *E. coli* y el ADN plásmido utilizado para envolver cilindros de oro para vacunación balística. Un modelo

murino de la disentería porcina se utilizó para determinar el carácter protector de la vacunación con ADN y / o de proteínas recombinantes. La vacunación con proteínas recombinantes indujo una respuesta sistémica bien contra ferritina sin embargo la vacunación con ADN inducidas sólo indujo una
5 respuesta sistémica detectable. La vacunación con ADN seguido de un impulso con la proteína recombinante induce una respuesta inmune sistémica a la ferritina sólo después de impulsar con la proteína. Sin embargo, ninguno de los regímenes de vacunación de la prueba fue capaz de proporcionar a los ratones con la protección contra la colonización *B. hyodysenteriae* y las lesiones asociadas. Curiosamente, la vacunación de los
10 ratones con ADN sólo resultó en la exacerbación significativa de la enfermedad (Davis, AJ, Smith, SC, y Moore, RJ (2005). El gen *Brachyspira hyodysenteriae* *ftnA*: la vacuna de ADN y la cuantificación real de PCR en tiempo de bacterias en un ratón modelo de la enfermedad. Microbiología actual 50: 285-291).

OBJETO DE LA INVENCION

20 Es objeto de la presente invención es tener nuevos genes de *B. hyodysenteriae* y las proteínas codificadas por esos genes. Es un objeto adicional de esta invención que los nuevos genes y las proteínas codificadas por esos genes puedan ser utilizados con fines terapéuticos y de diagnóstico. Uno puede utilizar los genes y / o las proteínas en una vacuna contra el *B. hyodysenteriae* y para diagnosticar las infecciones *B. hyodysenteriae*.
25

Es un objeto de esta invención tener nuevos genes de *B. hyodysenteriae* que tienen la secuencia de nucleótidos que figuran en los números de identificación de secuencias NUM ID SEC: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21,
30 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63 y 65. También es un objeto de esta invención tener secuencias de nucleótidos que son idénticos con los NUM ID SEC: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63 y 65, donde el porcentaje de identidad puede ser al menos del
35 95%, 90%, 85%, 80%, 75% y 70% (y todo entero dentro del 100 a 70). Esta invención también incluye una vacuna de ADN o composición inmunogénica de DNA que contiene la secuencia de nucleótidos NUM ID SEC: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49,

- 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, y 65 y las secuencias que son al menos el 95%, 90%, 85% , el 80%, 75% y 70% idénticas (y todo entero dentro del 100 a 70) a estas secuencias. Esta invención incluye además una prueba de diagnóstico de ADN que contiene la secuencia de nucleótidos NUM ID SEC:
- 5 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, y 65 y las secuencias que son al menos el 95%, 90%, 85%, 80 %, 75% y 70% idénticos (y todo entero 100 a 70) a estas secuencias.
- 10 También es un objeto de esta invención tener plásmidos que contienen el ADN con los números de secuencia de NUM ID SEC: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 , 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63 y 65; ADN procariotas y / o vectores de expresión eucarióticos que contiene la secuencia NUM ID SEC: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21,
- 15 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 , 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63 y 65, y una célula que contiene los plásmidos que contienen ADN con la secuencia de los números NUM ID SEC: 1, 3, 5, 7, 9, 11 , 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61 , 63 y 65.
- 20
- Es un objeto de esta invención tener nuevas proteínas *B. hyodysenteriae* que contienen la secuencia de aminoácidos que figuran en los números NUM ID SEC: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 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 y 66. Es otro objeto de esta
- 25 invención tener proteínas que son al menos el 95%, 90%, 85%, 80%, 75% y 70% homólogas (y todo entero entre 100-70) a las secuencias contenidas en los NUM ID SEC: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 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 y 66. También es un objeto de la invención una vacuna o composición inmunogénicas que
- 30 contienen las proteínas con la secuencia de aminoácidos que figuran en los números NUM ID SEC: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 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 y 66, o las secuencias de aminoácidos que son al menos el 95%, 90%, 85%, 80%, 75% y 70% homólogas (y todo entero entre 100-70) a las secuencias contenidas
- 35 en los números NUM ID SEC: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 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 y 66. Se trata de un aspecto de esta invención tener un kit de diagnóstico que

contengan una o más proteínas que tienen una secuencia de las que figuran en los números NUM ID SEC: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 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, y 66 o que sean al menos el 95%, el 90%, 85%, 80%, 75% y 70% (y todo entero entre 100-70) homólogas a las secuencias contenidas en los números NUM ID SEC: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 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 y 66.

Es otro aspecto de esta invención tener secuencias de nucleótidos que codifiquen las proteínas que tienen la secuencia de aminoácidos que figuran en los números NUM ID SEC: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 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, y 66, y que codifiquen las secuencias de aminoácidos que son al menos el 95%, 90%, 85%, 80%, 75% y 70% homólogas (y todo entero entre 100-70) a las secuencias contenidas en los números NUM ID SEC: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 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 y 66. La invención también cubre los plásmidos, vectores de expresión eucariotas y procariotas, y las vacunas de ADN, que contienen ADN con una secuencia que codifica una proteína con la secuencia de aminoácidos que figuran en los números NUM ID SEC: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 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, y 66, y que codifican secuencias de aminoácidos que son al menos el 95%, 90%, 85%, 80%, 75% y 70% homólogas (y todo entero entre 100-70) a las secuencias contenidas en las NUM ID SEC: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 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 y 66. Células que contienen estos plásmidos y vectores de expresión se incluyen en esta invención.

Esta invención incluye anticuerpos monoclonales que se unen a las proteínas que tienen una secuencia de aminoácidos que figuran en los números NUM ID SEC: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 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, y 66 o se unen a las proteínas que son al menos el 95%, 90%, 85%, 80%, 75% y 70% homologas (y todo entero entre 100-70) a las secuencias contenidas en los números NUM ID SEC 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 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 y 66. Los Kits de diagnóstico que contienen los anticuerpos monoclonales que se unen a las

proteínas que tienen una secuencia de aminoácidos que figuran en los números NUM ID SEC: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 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, y 66 o que se unen a las proteínas que son al menos el 95%, 90%, 85%, 80%, 75% y 70% homólogas (y todo entero entre 100-70) a las secuencias contenidas en los números NUM ID SEC: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 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, y 66 se incluyen en esta invención. Estos kits de diagnóstico pueden detectar la presencia de *B. hyodysenteriae* en un animal. El animal puede ser cualquier mamífero y ave, preferiblemente, pollo, ganso, pato, pavo, perico, perro, gato, hámster, jerbo, conejo, hurón, caballo, vaca, oveja, cerdo, mono y humano.

La invención también contempla el método de prevención o tratamiento de una infección de *B. hyodysenteriae* en un animal mediante la administración a un animal de una vacuna de ADN que contiene una o más secuencias de nucleótidos que figuran en los números NUM ID SEC 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, y 65 o secuencias que son al menos el 95%, 90%, 85%, 80%, 75% y 70% idénticos (y todo entero entre 100-70) a estas secuencias. Esta invención también incluye un método de prevención o tratamiento de una infección de *B. hyodysenteriae* en un animal mediante la administración a un animal de una vacuna que contiene una o más proteínas que la secuencia de aminoácidos que contienen en los números NUM SEC ID: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 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, y 66 o secuencias que son al menos el 95%, 90%, 85%, 80%, 75% y 70% homólogas (y todo entero entre 100-70) a estas secuencias. El animal puede ser cualquier mamífero y ave, preferiblemente, pollo, ganso, pato, pavo, perico, perro, gato, hámster, jerbo, conejo, hurón, caballo, vaca, oveja, cerdo, mono, y humanos.

La invención también contempla el método para generar una respuesta inmune en los animales mediante la administración a un animal de una composición inmunogénica que contiene una o más secuencias de nucleótidos que figuran en los números NUM SEC ID: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63 y 65, o secuencias que son al menos el 95%, 90%, 85%, 80%,

75% y 70% idénticos (y todo entero 100-70) a estas secuencias. Esta invención también incluye un método para generar una respuesta inmune en los animales mediante la administración a un animal de una composición inmunogénica que contiene una o más proteínas de la secuencia de aminoácidos que contiene los números de NUM SEC ID: 2,4,6,8,10,12, 14, 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, y 66 o secuencias que son al menos el 95%, 90%, 85%, 80%, 75% y 70% homóloga (y todo entero 100-70) a estas secuencias. El animal es preferible de cualquier mamífero y ave, más preferiblemente, pollo, ganso, pato, pavo, perico, perro, gato, hámster, jerbo, conejo, hurón, caballo, vaca, oveja, cerdo, mono, y humanos.

RESUMEN DETALLADO DE LA INVENCION.

15

Los artículos "a" y "una" aquí se utilizan para referirse a uno o más de uno (a por lo menos uno) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, un "elemento" significa un elemento o más de un elemento.

20

El término "aminoácidos" pretende abarcar todas las moléculas, ya sean naturales o sintéticas, que incluyen tanto una funcionalidad de aminoácidos y que son susceptibles de ser incluidos en un polímero de origen natural aminoácidos. Los aminoácidos ejemplares son los aminoácidos de origen natural; análogo, derivados y congéneres de la misma; aminoácidos análogos del ácido con las cadenas laterales de la variante y todos los estereoisómeros de cualquiera de los anteriores.

25

Un animal puede ser cualquier mamífero o un ave. Algunos ejemplos de mamíferos incluyen perros, gatos, hámster, jerbo, conejo, hurón, caballo, vaca, oveja, cerdo, mono, y humanos. Ejemplos de las aves incluyen pollo, ganso, pato, pavo, y el perico.

30

El término "residuo de conservación" se refiere a un aminoácido que es un miembro de un grupo de aminoácidos que posean ciertas características comunes. El término "conservador sustitución de aminoácidos" se refiere a la sustitución (conceptual o no) de un aminoácido de uno de estos grupos con un aminoácido diferente del mismo grupo. Una manera funcional para definir las propiedades comunes entre los distintos aminoácidos es analizar las frecuencias normalizadas de cambios de aminoácidos entre las proteínas correspondientes de los organismos homólogos (Schulz, GE y RH Schinner.,

35

Principios de la estructura proteica, Springer-Verlag). Según esos análisis, los grupos de aminoácidos se pueden definir en los aminoácidos dentro de un grupo de intercambio preferencial entre sí, y por lo tanto se asemejan más en su impacto sobre la estructura de la proteína total (Schulz, GE y RH Schirmer, Principios de la estructura proteica, Springer-Verlag). Ejemplos de grupos de aminoácidos definidos de esta manera incluyen: (i) un grupo cargado positivamente que contengan Lys, Arg, (ii) un grupo con carga negativa que contiene Glu y Asp, (iii) un grupo de aromáticos con Phe, Tyr y Trp, (iv) un grupo de anillos que contienen nitrógeno y su Trp, (v) un gran grupo alifáticos no polares que contienen Val, Leu y de, (vi) un poco-grupo polar que contiene Met y Cys, (vii) un grupo de residuos de pequeña con Ser, Thr, Asp, Asn, Gly, Ala, Glu, la ginebra y Pro, (viii) un grupo de alifáticos contiene Val, Leu, De, Met y Cys, y (ix) un pequeño grupo hidroxilo con Ser y Thr.

15

Una "proteína de fusión" o "polipéptido de fusión" se refiere a una proteína quimérica como se conoce en el arte y puede ser construido utilizando los métodos ya conocidos en el arte. En muchos ejemplos de proteínas de fusión, hay dos secuencias polipeptídicas diferentes, y en algunos casos, puede haber más. Las secuencias de polinucleótidos que codifican la proteína de fusión pueden estar unidas operativamente en el marco, de modo que la proteína de fusión pueda ser traducida correctamente. Una proteína de fusión puede incluir secuencias polipeptídicas de la misma especie o de especies diferentes. En varias realizaciones, el polipéptido de fusión puede contener una o más secuencias de aminoácidos ligados a un polipéptido de primera. En caso de que más de una secuencia de aminoácidos se funda a un polipéptido, en primer lugar, las secuencias de fusión pueden ser varias copias de la misma secuencia o alternativamente, pueden ser diferentes secuencias de aminoácidos. Los polipéptidos de fusión pueden ser fusionadas con el N-terminal, el C-terminal, o por la N-y C-terminal del polipéptido en primer lugar. Las proteínas de fusión ejemplar incluyen polipéptidos que contienen una etiqueta de glutatión S-transferasa (GST-tag), la etiqueta histidina (His-tag), un dominio de inmunoglobulina o una inmunoglobulina dominio de unión.

35

El término "polipéptido aislado" se refiere a un polipéptido, realizaciones determinadas preparaciones a partir de ADN recombinante o ARN, o de

origen sintético o de origen natural, o alguna combinación de los mismos, que (1) no está asociada con las proteínas que normalmente se encuentra en la naturaleza, (2) se separa de la celda en la que normalmente se produce, (3) está libre de otras proteínas de la misma fuente celular, (4) se expresa
5 por una célula de una especie diferente, o (5) no se produce en la naturaleza. Es posible que exista un polipéptido aislado, pero no califica como un polipéptido purificado.

El término "ácido nucleico aislado" y "polinucleótido aislado" se refiere a un polinucleótido si el ADN genómico, ADNc, ARNm, ARNt, ARNr, IRNA, o un
10 polinucleótido obtenido de un orgánulo las mitocondrias celulares (como el de cloroplasto), o si de síntesis origen, que (1) no se asocia a la celda en la que el "aislamiento de ácidos nucleicos" se encuentra en la naturaleza, o (2), unido operativamente a un polinucleótido que no está vinculado en la naturaleza. Es posible que un polinucleótido aislado exista, pero no califica
15 como un polinucleótido purificado.

El término "ácido nucleico" y "polinucleótidos" se refiere a una forma de polímeros de nucleótidos, o bien ribonucleótidos o desoxirribonucleótidos o una forma modificada de cualquier tipo de nucleótidos. Debe también
20 entenderse que se incluyen como equivalentes, las condiciones de los análogos de cualquiera de ARN o ADN a partir de los análogos de nucleótidos, y según como proceda a la realización se describe, de cadena sencilla (como el sentido o antisentido) y de doble cadena polinucleótidos. El término "ácido nucleico de la invención" y "polinucleótido de la invención"
25 se refiere a un ácido nucleico que codifica un polipéptido de la invención. Un polinucleótido de la invención puede comprender la totalidad o una parte de un sujeto secuencia de ácido nucleico, una secuencia de nucleótidos que al menos el 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99 % idéntico a la secuencia de ácido nucleico (y cada número entero entre 60 y 100), una
30 secuencia de nucleótidos que hibrida en condiciones estrictas a la secuencia de ácido nucleico de un sujeto; secuencias de nucleótidos que codifican los polipéptidos que son funcionalmente equivalentes a polipéptidos de la invención; secuencias de nucleótidos que codifican polipéptidos al menos un 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% homóloga o idéntica a una
35 secuencia de aminoácidos (y cada número entero entre 60 y 100); secuencias de nucleótidos que codifica polipéptidos que tengan una actividad de un polipéptido de la invención, de al menos un 60%, 70%, 80%, 85%,

90%, 95%, 98%, 99% o más de homología o identidad con la secuencia de aminoácidos (y todo número entero entre 60 y 100), las secuencias de nucleótidos que difieren entre un 1 y un 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 50, 75 o más sustituciones de nucleótidos, adiciones o supresiones, como las
5 variantes alélicas de un sujeto de secuencias de ácidos nucleicos, derivados de los ácidos nucleicos y evolutivamente relacionados con la secuencia del ácido nucleico de un sujeto. Complementos de las secuencias de nucleótidos resultantes de la degeneración del código genético, para todos los ácidos nucleicos anteriores y otras de la invención. Los ácidos nucleicos
10 de la invención también incluyen homólogos, por ejemplo, ortólogos y parálogos, de la secuencia de un sujeto de ácido nucleico así como las variantes de la secuencia de un sujeto de ácido nucleico codón que han sido optimizados para la expresión en un organismo en particular (por ejemplo, la célula huésped).

15

El término "operativamente vinculado", al describir la relación entre las dos regiones de ácido nucleico, se refiere a una yuxtaposición en el que las regiones están en una relación que les permita funcionar en la forma prevista. Por ejemplo, una secuencia de control "operativamente vinculado" a
20 una secuencia de codificación se liga de tal manera que la expresión de la secuencia de codificación se realiza en condiciones compatibles con las secuencias de control, como cuando por ejemplo, las moléculas apropiadas (inductores y polimerasas) son vinculadas al control o la secuencia reguladora.(s).

25

El término "polipéptido", y los términos "proteínas" y "péptido", que se utilizan indistintamente en este documento, se refiere a un polímero de aminoácidos. Ejemplar polipéptidos incluyen productos de los genes, las proteínas de origen natural, homólogos, ortólogos, parálogos, fragmentos, y otros
30 equivalentes, variantes y análogos de los anteriores.

Los términos "polipéptido fragmento" o "fragmento", cuando se utilizan en referencia a un polipéptido de referencia, se refieren a un polipéptido en el que los residuos de aminoácidos se suprimen, en comparación con la
35 referencia al mismo polipéptido, pero que en el resto de la secuencia de aminoácidos, es generalmente idéntico al las posiciones correspondientes en el polipéptido de referencia. Dichas eliminaciones pueden ocurrir en el amino-

terminal o carboxilo-terminal del polipéptido de referencia, o bien ambas cosas. Los fragmentos suelen ser, al menos, 5, 6, 8 o 10 aminoácidos de largo, por lo menos 14 aminoácidos de largo, al menos, 20, 30, 40 o 50 aminoácidos de largo, al menos 75 aminoácidos, o por lo menos 100, 150, 200, 300, 500 o más aminoácidos de largo. Un fragmento puede mantener una o más de las actividades biológicas del polipéptido de referencia. En algunas realizaciones, un fragmento puede comprender un dominio con la actividad biológica que desee y opcionalmente, los aminoácidos adicionales en uno o ambos lados del dominio. Estos aminoácidos adicionales pueden ser de número 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, o hasta 100 o más residuos. Además, los fragmentos pueden incluir un sub-fragmento de una región específica, sub-fragmento que conserva una función de la región de la que se deriva. En otra realización, un fragmento puede tener propiedades inmunogénicas.

El término "polipéptido de la invención" se refiere a un polipéptido que contiene un sujeto de secuencia de aminoácidos, un equivalente, o un fragmento de la misma. Los polipéptidos de la invención contienen la totalidad o una parte de la secuencia de un sujeto de aminoácidos de 1 hasta alrededor de 2,3,4,5,7,10,15,20,30,50,75 o más conservativos de sustituciones de aminoácidos. Una secuencia de aminoácidos que es al menos el 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% homóloga a un sujeto de secuencia de aminoácidos (y cada número entero entre 60 y 100), y a los fragmentos funcionales de la misma. Los polipéptidos de la invención también incluyen homólogos, por ejemplo, ortólogos y paralogos, de la secuencia de un sujeto de aminoácidos.

También es posible modificar la estructura de los polipéptidos de la invención con fines tales como la mejora de la eficacia o la estabilidad terapéutica o profiláctica, (por ejemplo, ex vivo, la vida útil, resistencia a la degradación proteolítica en vivo, etc.) Tales polipéptidos modificados, cuando están diseñados para mantener al menos una actividad de la forma que ocurren naturalmente de la proteína, se consideran "equivalentes funcionales" de los polipéptidos descritos en más detalle en este documento. Tales polipéptidos modificados pueden ser producidos, por ejemplo, por sustitución de un aminoácido, por la supresión o adición que puede consistir en la sustitución total o parcialmente por las sustituciones conservativas de aminoácidos.

Por ejemplo, es posible esperar que un conservador aislado de sustitución de un aminoácido, tal como la sustitución por una leucina, isoleucina por una o valina, un aspartato por un glutamato, una serina por treonina, no tendrá un efecto importante sobre la actividad biológica de la molécula resultante. Un cambio en la secuencia de aminoácidos de un polipéptido en los resultados de un homólogo funcional, puede ser fácilmente determinado gracias a la evaluación de la capacidad de la variante de polipéptidos para producir una respuesta similar a la de la proteína de tipo salvaje. Los polipéptidos en el que más de una renovación haya tenido lugar fácilmente pueden ser probado en la misma manera.

El término "purificado" se refiere a una especie de objeto que es la especie predominante presente (es decir, en base molar es más abundante que cualquier otra especie individual en la composición). Una "fracción purificada" es una composición donde la especie del objeto es de por lo menos un 50 por ciento (en base molar) de todas las especies presentes. Al hacer la determinación de la pureza o de una especie en solución o dispersión, el disolvente o la matriz en la que la especie se disuelve o dispersa, no suele ser incluido en dicha determinación. Al contrario sólo las especies (incluida la de interés) disueltas o dispersas son tenidas en cuenta. Generalmente, una composición purificada tendrá una especie que es más de alrededor de 80% de todas las especies presentes en la composición, más de un 85%, 90%, 95%, 99% o más del total de todas las especies presentes. Las especies pueden ser purificadas hasta alcanzar una homogeneidad esencial (las especies de contaminantes no pueden ser detectadas en la composición por métodos de detección convencionales) donde la composición es esencialmente de una sola especie.

Un hombre versado de la materia puede purificar un polipéptido de la invención utilizando técnicas estándar para la purificación de proteínas. La pureza de un polipéptido puede ser determinado por una serie de métodos conocidos por los expertos, como por ejemplo, amino-terminal, secuencia de análisis de amino ácido, electroforesis en gel, análisis de espectrometría de masas y los métodos aquí descritos. Los términos "proteína recombinante" o "polipéptido recombinante" se refieren a un polipéptido que se produce por técnicas recombinantes de ADN. Un ejemplo de estas técnicas incluye el caso cuando el ADN que codifica la dicha proteína, se inserta en un vector de

expresión adecuado que a su vez es utilizado para transformar una célula huésped para producir la proteína o polipéptido codificado por el ADN. El término "secuencia regulatoria" es un término genérico utilizado en las especificaciones para hacer referencia a las secuencias de polinucleótidos, tales como las señales iniciales, los potenciadores, los reguladores y promotores que son necesarios o convenientes para afectar la expresión de secuencias de codificación y de no- codificación a los que están vinculados operativamente. Como ejemplo, las secuencias reguladoras se describen en Goeddel; Expresión Génica Tecnología: Methods in Enzymology, Academic Press, San Diego, CA (1990), e incluyen, por ejemplo, los promotores tempranos y tardíos del SV40, adenovirus o citomegalovirus. El sistema ALC, el sistema PRT, el TAC o el sistema de la CVR, el promotor de T7, cuya expresión está dirigida por la RNA polimerasa T7, el operador de las principales regiones y el promotor de fago lambda, las regiones de control de la cubierta proteica fd, el promotor para el 3-fosfoglicerato quinasa, otras enzimas glucolítica, los promotores de la fosfatasa ácida (por ejemplo, Pho5), los factores promotores de apareamiento levadura- α , el promotor del poliedro del sistema de baculovirus y otras secuencias conocidas para el control de la expresión de genes de las células procariotas y eucariotas, de sus virus y varias combinaciones de la misma. La naturaleza y el uso de secuencias de control pueden diferir dependiendo del organismo hospedador. Tanto en los procariotas, como las secuencias reguladoras, generalmente se incluyen un promotor, sitio de unión ribosomal, y las secuencias de terminación de la transcripción.

25

El término "secuencia regulatoria" tiene la intención de incluir, como mínimo, los componentes cuya presencia pueda influir en su expresión. También pueden incluir los componentes adicionales cuya presencia es una ventaja en las secuencias líderes y en las secuencias de fusión. En algunas realizaciones, la transcripción de una secuencia de polinucleótidos se encuentra bajo el control de una secuencia promotora (u otra secuencia reguladora), que controla la expresión del polinucleótido en una celda tipo en la que se destina la expresión. Asimismo, se entenderá que el polinucleótido puede estar bajo el control de las secuencias reguladoras que son las mismas o diferentes de aquellas secuencias controlan la expresión de la forma natural de realización del polinucleótido.

35

El término "homología de secuencia" se refiere a la proporción de encuentros en la base entre dos secuencias de ácido nucleíco o la proporción de encuentros de aminoácidos entre dos secuencias de aminoácidos. Cuando la homología de secuencia se expresa como un porcentaje, por ejemplo, el 50%, el porcentaje representa la proporción de pares en la longitud de la secuencia de una secuencia deseada que se compara con alguna otra secuencia. Están permitidos intervalos (en cualquiera de las dos secuencias) para maximizar la concordancia; se suelen utilizar intervalos de 15 bases de longitud o menos, se utilizan con más frecuencia de 6 bases o menos y son utilizados más frecuentemente de 2 bases o menos. El término "identidad de la secuencia" significa que las secuencias son idénticas (es decir, en base a un nucleótido por nucleótido para los ácidos nucleicos o, en base a aminoácido por aminoácido para polipéptidos) en una ventana de comparación.

El término "porcentaje de identidad de la secuencia" se calcula por comparación de dos secuencias óptimamente alineadas en una ventana de comparación, determinando el número de posiciones en el que son idénticos los aminoácidos o nucleótidos en ambas secuencias para obtener el número de posiciones concordantes, dividiendo el número de posiciones concordantes por el número total de posiciones en la ventana de comparación, y multiplicando el resultado por 100 para obtener el porcentaje de identidad de secuencia. Los métodos para el cálculo de identidad de la secuencia son conocidos por una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica y son descritas en detalle más adelante.

El término "soluble", como se usa aquí, hace referencia a un polipéptido de la invención u otras proteínas, una vez expresado en cultivos celulares, en la que al menos una parte del polipéptido o de la proteína expresada, permanece en la fracción citoplasmática de la célula y no se fracciona con los restos celulares en la lisis y la centrifugación del lisado. La solubilidad de un polipéptido podrá incrementarse con una variedad de métodos reconocidos del arte, incluida la fusión a una secuencia heteróloga de aminoácido, la eliminación de residuos de aminoácidos, la sustitución de aminoácidos (por ejemplo, enriqueciendo la secuencia con residuos de aminoácidos con cadenas laterales hidrofílicas), y modificación química (por ejemplo, la adición de grupos hidrófilos).

La solubilidad de los polipéptidos se puede medir usando una variedad de técnicas reconocidas en el estado arte, incluyendo, dispersión de luz dinámica para determinar el estado de agregación, la absorción de los rayos UV, centrifugación para separar materiales agregados de no agregados, y la electroforesis en gel de SDS (por ejemplo, la cantidad de proteína en la fracción soluble se compara con la cantidad de proteína en las fracciones solubles e insolubles combinadas). Cuando se expresan en una célula huésped, los polipéptidos de la invención pueden ser por lo menos el 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o más solubles, por ejemplo, al menos 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o más del total de la proteína expresada en la célula se encuentra en la fracción citoplasmática. En algunas realizaciones, un litro de un cultivo de células que expresan un polipéptido de la invención producirá por lo menos alrededor de 0,1, 0,2, 0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50 miligramos o más de la proteína soluble. En un ejemplo de realización, un polipéptido de la invención es al menos un 10% soluble y va a producir por lo menos alrededor de 1 miligramo de proteína a partir de un litro de cultivo de la célula.

El término "específicamente híbrida" se refiere a la unión específica y detectable de ácido nucleico. Los polinucleótidos, oligonucleótidos y ácidos nucleicos de la invención de manera selectiva hibridan con hebras de ácido nucleico bajo condiciones de hibridación y lavado que reduzcan al mínimo las cantidades apreciables de uniones detectables con ácidos nucleicos inespecíficos. Las condiciones estrictas, pueden ser utilizadas para lograr unas condiciones de hibridación selectiva como se conocen en el arte y que aquí se analizan. En general, la identidad de la secuencia de ácido nucleico entre los polinucleótidos, oligonucleótidos y ácidos nucleicos de la invención y una secuencia de ácido nucleico de interés será al menos del 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% o más (y cada número entero entre 30 y 100). En algunos casos, la hibridación y las condiciones de lavado se realizan bajo condiciones estrictas de acuerdo a los procedimientos convencionales de hibridación y como se describe más adelante.

Los términos "condiciones estrictas" o "condiciones estrictas de hibridación" se refieren a las condiciones que promueven la hibridación específica entre dos cadenas de polinucleótidos complementarios a fin de formar un dúplex.

Las condiciones estrictas, pueden ser establecidas para estar cerca de 5 ° C más bajas que el punto de fusión térmica (TM) para un determinado dúplex de polinucleótidos, bajo una determinada fuerza iónica y bajo un pH definido. La longitud de las cadenas de polinucleótidos complementarios y su contenido GC determinará la TM del dúplex, y por lo tanto las condiciones de hibridación necesarios para la obtención de la hibridación específica deseada. La TM es la temperatura (bajo una determinada fuerza iónica y pH) en la que el 50% de una secuencia de polinucleótidos híbrida con una cadena complementaria en perfecta combinación. En algunos casos puede ser conveniente aumentar el rigor de las condiciones de hibridación para ser casi iguales a la TM de un dúplex en particular.

Una variedad de técnicas para la estimación de la TM están disponibles. Típicamente, los pares de bases GC en un dúplex se estima que contribuyen con alrededor de 3 ° C a la TM, mientras que los pares de bases AT se estima que contribuyen con alrededor de 2° C, hasta un máximo teórico de unos 80-100 ° C.

Sin embargo, los modelos más sofisticados de TM disponibles en los cuales las interacciones de apilamiento GC, los efectos del disolvente, la temperatura de ensayo deseada y similares son tenidas en cuenta. Por ejemplo, las sondas pueden ser diseñadas para tener una temperatura de disociación (Td) de aproximadamente 60 ° C, según la fórmula: $Td = (((3 \times \#GC) + (2 \times \#AT)) \times 37) - 562) / \#BP - 5$; donde #GC, #AT, y #BP son el número de pares de bases guanina-citosina, el número de pares de bases adenina-timina, y el número de pares de bases totales, respectivamente, que participan en la formación del dúplex.

La hibridación puede ser llevada a cabo en 5x SSC, 4x SSC, SSC 3x, 2x SSC, 1x SSC o 0.2x SSC por al menos 1 hora, 2 horas, 5 horas, 12 horas o 24 horas. La temperatura de la hibridación puede ser mayor para ajustar el rigor de la reacción, por ejemplo, pasando de unos 25 ° C (temperatura ambiente), a unos 45 ° C, 50 ° C, 55 ° C, 60 ° C o 65 ° C. La reacción de hibridación también puede incluir otro agente que afecte la rigurosidad, por ejemplo, la hibridación puede ser llevada a cabo en presencia de formamida al 50% lo que aumenta el rigor de la hibridación a una temperatura definida.

La reacción de hibridación puede ser seguida por un paso de lavado único, o dos o más pasos de lavado, que pueden estar en el mismo o en diferente nivel de salinidad y de temperatura. Por ejemplo, la temperatura del lavado puede aumentarse, para ajustar el rigor, de unos 25 ° C (temperatura ambiente), a unos 45 ° C, 50 ° C, 55 ° C, 60 ° C, 65 ° C, o superior. El paso de lavado puede realizarse en presencia de un detergente, por ejemplo, 0,1 o 0,2% de SDS. Por ejemplo, la hibridación puede ser seguida por dos pasos de lavado a 65 ° C cada uno de unos 20 minutos en 2x SSC, SDS 0,1%, y opcionalmente de dos pasos de lavado adicional a 65 ° C cada uno de unos 20 minutos en 0.2x SSC, 0.1% SDS.

Ejemplos de condiciones estrictas de hibridación, incluyen la hibridación durante la noche a 65 ° C en una solución que contiene 50% formamida, 10x Denhardt (0,2% Ficoll, 0,2%, polivinilpirrolidona 0,2% de albúmina de suero bovino) y 200 ug / ml de ADN portador desnaturalizado, por ejemplo, el ADN del esperma de salmon esquilado, seguido de dos pasos de lavado a 65 ° C cada uno de unos 20 minutos en 2x SSC, SDS 0,1%, y dos pasos de lavado a 65 ° C cada uno de unos 20 minutos en 0.2x SSC, SDS 0,1%.

La hibridación puede consistir en la hibridación de dos ácidos nucleicos en una solución, o un ácido nucleico en solución a un ácido nucleico en un soporte sólido, por ejemplo, un filtro. Cuando un ácido nucleico está sobre un soporte sólido, un paso prehibridación puede llevarse a cabo antes de la hibridación. La prehibridación puede llevarse a cabo durante al menos 1 hora, 3 horas o 10 horas en la misma solución y en la misma temperatura que la solución de hibridación (sin la cadena de polinucleótidos complementarios).

Las condiciones de rigor adecuadas son conocidas por los técnicos en la materia o pueden determinarse experimentalmente por el artesano calificado. Véase, por ejemplo, los protocolos actuales en Biología Molecular, John Wiley & Sons, NY (1989), 6.3.1-12.3.6; Sambrook et al., 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, NY; Agrawal, S. (ed.) Methods in Molecular Biology, volumen 20; Tijssen (1993) Técnicas de Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular - hibridación con sondas de ácidos nucleicos, por ejemplo, el capítulo I, parte 2 "Resumen de los principios de la hibridación y la estrategia de ensayos de sonda de ácido

nucleico ", Elsevier, Nueva York, y Tibanyenda, N. et al., EUR. J. Biochem. 139:19 (1984) y Ebel, S. et al., Biochem. 31:12083 (1992).

El término "vector" se refiere a un ácido nucleico capaz de transportar a otro
5 ácido nucleico con el que se le ha relacionado. Un tipo de vectores que
pueden ser utilizados de acuerdo con la invención es un episoma, es decir,
un ácido nucleico capaz de reproducirse extra-cromosómicamente. Otros
vectores son los que son capaces de replicación autónoma y de expresión de
10 los ácidos nucleicos con los que están vinculados. Vectores capaces de
dirigir la expresión de genes a las que están vinculados operativamente se
llamaran aquí como "vectores de expresión". En general, los vectores de
expresión útiles en las técnicas de ADN recombinante tienen a menudo
forma de plásmidos, que se refieren a moléculas de ADN circular de doble
cadena que, en su forma vectorial no están vinculados al cromosoma. En la
15 presente descripción, "plásmido" y "vector" se utilizan indistintamente siendo
el plásmido la forma más usual de vector. Sin embargo, la invención tiene
por objeto incluir como otras formas de vectores de expresión, que cumplen
funciones equivalentes, y que se conocen en el arte, o que pueden
conocerse posteriormente.

20

Los ácidos nucleicos de la invención pueden ser utilizados como reactivo de
diagnóstico para detectar la presencia o ausencia de la secuencias buscadas
de ADN o ARN a las que se unen específicamente, como para determinar el
nivel de expresión de un ácido nucleico de la invención. En un aspecto, la
25 presente invención contempla un método para detectar la presencia de un
ácido nucleico de la invención o de una parte de éstos, en una muestra, el
método de los pasos de: (a) facilitar un oligonucleótido de al menos ocho
nucleótidos de longitud, el oligonucleótido siendo complementario a una parte
de un ácido nucleico de la invención, (b) poner en contacto el oligonucleótido
30 con una muestra que contenga al menos un ácido nucleico en condiciones
que permitan la hibridación de los oligonucleótidos con un ácido nucleico de
la invención o una parte de ella, y c) detectar la hibridación del
oligonucleótido a un ácido nucleico en la muestra, con lo que se detecta la
presencia de un ácido nucleico de la invención o de una parte de éstos, en la
35 muestra.

En otro aspecto, la presente invención contempla un método para detectar la presencia de un ácido nucleico de la invención o de una parte de éstos, en una muestra, (a) proporcionando un par de oligonucleótidos de una sola cadena, cada uno de ellos de al menos ocho nucleótidos en longitud, complementarios con las secuencias de ácido nucleico de la invención, y en donde las secuencias de los oligonucleótidos que son complementarios tienen por lo menos diez nucleótidos de separación, y (b) contactando los oligonucleótidos con una muestra que contenga al menos un ácido nucleico en condiciones de hibridación; (c) ampliando la secuencia de nucleótidos entre los dos oligonucleótidos, y (d) detectando la presencia de una secuencia amplificada, con lo que se detecta la presencia de un ácido nucleico de la invención, o de una parte de éstos, en la muestra.

En otro aspecto de la invención, el polinucleótido de la invención se da en un vector de expresión que contiene una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido de la invención y operativamente vinculado a al menos una secuencia reguladora. Debe entenderse que el diseño del vector de expresión puede depender de factores tales como la elección de la célula huésped para ser transformada y / o el tipo de proteína que se desea expresar. El número de copias del vector, la capacidad de controlar el número de copias y la expresión de cualquier otra proteína codificada por el vector, como los marcadores de antibióticos, deben ser considerados.

Un vector de expresión que contiene el polinucleótido de la invención puede ser utilizado como un agente farmacológico para el tratamiento de un animal infectado con *B. hyodysenteriae* o como vacuna (también es un agente farmacológico) **para evitar que un animal infectado de *B. hyodysenteriae***, o para reducir los síntomas y el curso de la enfermedad si el animal se infecta. Una forma de utilización de un vector de expresión como un agente farmacéutico es la de administrar una vacuna de ácido nucleico al animal en riesgo de estar infectado o al animal después de ser infectada. La tecnología de la vacuna de ácido nucleico está bien descrita en el arte. Algunas descripciones se pueden encontrar en las Patentes EE.UU. 6.562.376 (Hooper et al.) Patente EE.UU. 5.589.466 (Felgner, et al.) Patente EE.UU. 6.673.776 (Felgner, et al.), y en las patentes EE.UU. 6.710.035 (Felgner, et al.). Vacunas de ácido nucleico pueden ser inyectadas en un músculo o por vía intradérmica, pueden ser electroporadas en el animal (véase la WO

01/23537, King et al., Y WO 01/68889, Malone et al.), a través de composiciones de lípidos (véase Patente EE.UU. 5.703.055, Felgner, et al), o de otros mecanismos conocidos en el campo del arte.

- 5 Vectores de expresión también **pueden** ser transfectados en una bacteria que puede ser administrada a los animales seleccionados para inducir una respuesta inmune a la proteína codificada por los nucleótidos de la presente invención contenida en el vector de expresión. El vector de expresión puede
- 10 contener secuencias de expresión eucarióticas de tal manera que los nucleótidos de la presente invención son transcritos y traducidos en el animal huésped. Alternativamente, el vector de expresión puede ser transcrito en la bacteria y luego se traducen en el animal huésped. La bacteria que se utiliza como soporte del vector de expresión debe ser atenuada, pero aún invasiva. Uno puede usar *Shigella* spp., *Salmonella* spp. *Spp coli.*, y *Aeromonas* spp.,
- 15 sólo para nombrar unas pocas, que han sido atenuadas, pero aún son invasivas. Ejemplos de estos métodos se pueden encontrar en las Patente EE.UU: 5.824.538 (Branstrom et al); 5.877.159 (Powell, et al.) 6.150.170 (Powell, et al.) 6.500.419 (Hone, et al.) 6682729 y (Powell, et al.).
- 20 Alternativamente, los polinucleótidos de la presente invención pueden ser colocados en ciertos virus que actúan de vector. Los vectores virales pueden expresar las proteínas de la presente invención sobre la superficie del virus, o llevar a los polinucleótidos de la presente invención a una célula animal, donde el polinucleótido es transcrito y traducido en una proteína. El animal
- 25 infectado con los vectores virales puede desarrollar una respuesta inmune a las proteínas codificadas por los polinucleótidos de la presente invención. De esta manera se puede aliviar o prevenir una infección por *B. hyodysenteriae* en el animal que recibió los vectores virales. Ejemplos de vectores **virales se pueden** encontrar en: Patente EE.UU. 5.283.191 (Morgan et al.); Patente
- 30 EE.UU. 5.554.525 (Sondermeijer et al) y la Patente EE.UU. 5.712.118 (Murphy).

- El polinucleótido de la invención puede utilizarse para provocar la expresión y, la sobre-expresión de un polipéptido de la invención, en las células que se
- 35 propagan en un cultivo, por ejemplo, para producir proteínas o polipéptidos, incluyendo proteínas de fusión o polipéptidos.

La presente invención se refiere a una célula huésped transfectada con un gen recombinante, a fin de expresar un polipéptido de la invención. La célula huésped puede ser cualquier célula procariota o eucariota. Por ejemplo, un polipéptido de la invención puede ser expresado en las células bacterianas, como la E. coli, células de insecto (baculovirus), levadura, plantas, o células de mamífero. En aquellos casos en que la célula huésped sea humana, puede o no ser en un sujeto vivo. Otras células de acogida adecuadas son conocidas por los expertos en la materia. Además, la célula huésped podrá completarse con las moléculas de ARNt, que no suelen encontrarse en el huésped, a fin de optimizar la expresión del polipéptido. Alternativamente, la secuencia de nucleótidos puede ser modificada para optimizar la expresión en la célula huésped, sin embargo, la proteína producida tendría alta homología a la proteína codificada originalmente. Otros métodos adecuados para maximizar la expresión del polipéptido se darán a conocer a las personas del arte.

La presente invención se refiere a los métodos de producción de los polipéptidos de la invención. Por ejemplo, una célula huésped transfectada con un vector de expresión que codifica un polipéptido de la invención puede ser cultivada en condiciones adecuadas para permitir que la expresión del polipéptido que se produzca. El polipéptido puede ser segregado y aislado de una mezcla de células y medios que contengan el polipéptido. Alternativamente, el polipéptido se podrá mantener en el citoplasma y las células cultivadas, "lisiadas" y la proteína aislada.

Un cultivo celular incluye las células huésped, los medios y otros subproductos. Los medios adecuados para el cultivo de células son bien conocidos en el arte. El polipéptido se puede aislar del medio de cultivo celular, de las células del huésped, o de ambos, mediante técnicas conocidas en la técnica de purificación de proteínas, incluyendo cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de filtración en gel, la ultrafiltración, electroforesis, y purificación de inmunoafinidad con anticuerpos específicos para epítopos particulares de un polipéptido de la invención.

Por lo tanto, una secuencia de nucleótidos que codifica la totalidad o una parte seleccionada de polipéptidos de la invención, puede ser utilizado para producir una forma recombinante de la proteína a través de procesos

microbianos o celulares eucariotas. Ligar la secuencia en la construcción de un polinucleótido, como un vector de expresión y transformar o transfectarlos en huéspedes, ya sea células eucariotas (hongos, aves, insectos o mamíferos) o procariotas (células bacterianas), son procedimientos habituales. Los procedimientos similares, o modificaciones de los mismos, pueden ser utilizados para preparar polipéptidos recombinantes de la invención por medio de tejidos microbianos o alta tecnología.

Los vectores adecuados para la expresión de un polipéptido de la invención incluyen plásmidos de los siguientes tipos: pTrcHis derivados de plásmidos, PET derivado de plásmidos, pBR322 derivados de plásmidos, pEMBL derivados de plásmidos, PEX-derivados plásmidos, pBTac derivados de plásmidos y PUC-derivados plásmidos de expresión en las células procariotas, como la E. coli. Los distintos métodos empleados en la preparación de los plásmidos y la transformación de los organismos de acogida son bien conocidos en la materia. Para otros sistemas de expresión adecuados, tanto para las células procariotas y eucariotas, así como procedimientos generales recombinantes, se recomienda ver: Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2^a ed., Ed. por Sambrook, Fritsch y Maniatis (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) los capítulos 16 y 17. Sambrook, Fritsch y Maniatis (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) los capítulos 16 y 17. Las secuencias codificadas para un polipéptido de interés pueden ser incorporadas como parte de un gen fusión incluyendo una secuencia nucleótida que codifica un polipéptido diferente. La presente invención contempla un polinucleótido aislado que contiene un ácido nucleico de la invención y al menos una secuencia heteróloga que codifica un péptido heterólogo vinculado en el marco de la secuencia de nucleótidos del ácido nucleico de la invención con el fin de codificar una proteína de fusión que contiene el polipéptido heterólogo. El polipéptido heterólogo puede estar unido a (a) C-terminal del polipéptido de la invención, (b) al terminal N del polipéptido de la invención, o (c) al C-terminal y el N-terminal del polipéptido de la invención. En algunos casos, la secuencia heteróloga codifica un polipéptido que permite la detección, aislamiento, solubilidad y / o estabilización del polipéptido al cual se funde. Aún en otras realizaciones, la secuencia heteróloga codifica un polipéptido, como una etiqueta de poli His tag, myc, HA, GST, proteína A, proteína G, la calmodulina de unión del péptido, tioredoxina, maltosa proteína de unión, poli arginina, su poli-Asp,

FLAG, una porción de una proteína de inmunoglobulina, y un péptido transcritos.

- Los sistemas de expresión de fusión pueden ser útiles cuando se desea producir un fragmento inmunogénico de un polipéptido de la invención. Por ejemplo, la proteína VP6 cápside de rotavirus puede ser utilizada como transporte inmunológico para porciones de polipéptido ya sea en forma monomérica o en forma de una partícula viral.
- 10 Las secuencias de ácidos nucleicos que corresponden a la porción de un polipéptido de la invención en la que los anticuerpos serán incluidos, pueden ser incorporados en un gen de fusión construcción que incluye las secuencias codificadoras de una proteína virus vaccinia estructural para producir un grupo de virus recombinantes que expresan proteínas fusión y
- 15 que comprende una porción de la proteína, como parte del virión. El antígeno de superficie de la Hepatitis B también puede ser utilizado en esta función. Del mismo modo, las construcciones quiméricas que codifican las proteínas de fusión que contiene una porción de un polipéptido de la invención y la proteína de la cápside del poliovirus pueden ser creadas para mejorar la
- 20 inmunogenicidad (véase, por ejemplo, EP Publicación N °: 0259149, y Evans et al., (1989) *Naturaleza* 339:385; Huang et al., (1988) *J. Virol.* 62:3855, y Schlienger et al., (1992) *J. Virol.* 66:2).339:385; Huang et al., (1988) *J. Virol.* 62:3855, y Schlienger et al., (1992) *J. Virol.* 66:2).
- 25 Las proteínas de fusión pueden facilitar la expresión y / o la purificación de proteínas. Por ejemplo, un polipéptido de la invención puede ser generado como glutatión S-transferasa (GST), proteína de fusión. Estas proteínas de fusión GST pueden ser usadas para simplificar la purificación de un polipéptido de la invención, por ejemplo mediante el uso de matrices de
- 30 glutatión derivatizada (véase, por ejemplo, los protocolos actuales en *Biología Molecular*, eds. Ausubel et al., (NY: John Wiley & Sons, 1991). En otra realización, un gen fusión que codifica una secuencia líder de purificación, como una secuencia de poli-(Hi) / enteroquinasa punto de corte en la N-terminal de la parte deseada de la proteína recombinante, puede
- 35 permitir la purificación de la proteína fusión expresada mediante la afinación de la cromatografía, usando una resina Ni²⁺ + metal. En ese sentido, la secuencia líder de purificación puede ser posteriormente eliminada gracias al

tratamiento con enteroquinasa para proporcionar la proteína purificada (por ejemplo, ver Hochuli et al., (1987) J. Chromatography 411: 177; y Janknecht et al. PNAS EE.UU. 88:8972).

5 Las técnicas para la toma de genes fusión son bien conocidas. En esencia, la unión de diferentes fragmentos de ADN codificada por diferentes secuencias polipeptídicas, se realiza de acuerdo con las técnicas convencionales, empleando los extremos romos o extremos escalonados para las uniones terminales, restricción de la enzima de digestión para establecer terminales
10 adecuados, extremos cohesivos, tratamiento del alcalino fosfato para evitar las uniones no deseadas y para la ligación enzimática. En otra realización, el gen de fusión puede ser sintetizado por técnicas convencionales como sintetizadores automatizados de ADN. Alternativamente, la amplificación PCR para fragmentos de genes puede llevarse a cabo utilizando los
15 cebadores de anclaje que dan lugar a salientes complementarios entre dos fragmentos de genes consecutivos que posteriormente pueden ser recocidos para generar una secuencia de gen quimérico (véase, por ejemplo, los protocolos actuales en Biología Molecular, eds. Ausubel et al., John Wiley & Sons, 1992).

20

En otras realizaciones, la invención proporciona los ácidos nucleicos de la invención inmovilizados sobre una superficie sólida, incluyendo, planchas, placas de microtitulación, diapositivas, granos, esferas, películas, hilos, precipitados, geles, láminas, tubos, contenedores, tubos capilares,
25 almohadillas, rodajas, etc. Los ácidos nucleicos de la invención pueden ser inmovilizados en un chip, como parte de una matriz. La matriz puede contener uno o más polinucleótidos de la invención como se describe en este documento. En una realización, el chip contiene uno o más polinucleótidos de la invención como parte de una serie de secuencias de polinucleótidos de la
30 misma especie patógena en tales polinucleótido (s). En la forma preferida de la invención, se proporciona polipéptidos *B. hyodysenteriae* aislados como se describe aquí y también las secuencias de polinucleótidos que codifican estos polipéptidos. Es más deseable los polipéptidos *B. hyodysenteriae* que se proporcionan en forma sustancialmente purificada.

35

Los polipéptidos preferidos de la invención tendrán una o más propiedades biológicas (por ejemplo, in vivo, in vitro o propiedades inmunológicas) que de

polipéptido nativo de cuerpo entero. Los polipéptidos no funcionales se incluyen también en el ámbito de aplicación de la invención, ya que pueden ser útiles, por ejemplo, como los antagonistas de los polipéptidos funcionales. Las propiedades biológicas de los análogos, fragmentos o derivaciones en
5 relación con el tipo salvaje, pueden ser determinadas por ejemplo, por medio de ensayos biológicos.

Los polipéptidos, incluyendo los análogos, los fragmentados y los derivados, pueden ser preparados de forma sintética (por ejemplo, utilizando las
10 técnicas conocidas de la fase sólida o de síntesis de péptidos solución). Preferiblemente, se emplean técnicas de síntesis en fase sólida. Alternativamente, los polipéptidos de la invención pueden ser preparados con conocidas técnicas de ingeniería genética, como se describe infra. En otra realización, los polipéptidos pueden ser purificados (por ejemplo, la
15 purificación de inmunoafinidad) a partir de un fluido biológico, tales como mas no limitados a: plasma, heces, suero o orina de los animales, incluyendo mas no limitado: a, cerdo, pollo, de ganso, pato, pavo, perico, el mono humano, perro, gato, caballo, hámster, jerbo, conejo, hurones, caballos, ganado y ovejas. Un animal puede ser cualquier mamífero o un ave.

20 Los análogos del polipéptido B. hyodysenteriae incluyen los polipéptidos de la secuencia de aminoácidos, en el cual uno o más de los aminoácidos son sustituidos por otro aminoácido donde las sustituciones no alteran sustancialmente la actividad biológica de la molécula.

25 Según la invención, los polipéptidos de la invención producidos recombinantemente o por síntesis química y los fragmentos, otros derivados u otros análogos, incluyendo proteínas de fusión, pueden ser utilizados como inmunógenos para generar anticuerpos que reconozcan los polipéptidos.

30 Una molécula es "antigénica" cuando es capaz de interactuar específicamente con una molécula de reconocimiento de antígenos del sistema inmunitario, tales como inmunoglobulinas (anticuerpos) o de células T del receptor de antígeno. Un secuencia antigénica de aminoácidos
35 contiene al menos un 5, y de preferencia, al menos unos 10, los aminoácidos. Una porción antigénica de una molécula puede ser la parte que es inmunodominante al anticuerpo o al receptor de reconocimiento T de las

células, o puede ser una parte utilizada para generar un anticuerpo contra la molécula mediante la conjugación de la porción antigénica a una molécula transportadora para la inmunización. Una molécula que es antigénica no tiene que ser auto inmunogénica, es decir, capaz de provocar una respuesta inmune sin un portador.

Un "anticuerpo" es cualquier inmunoglobulina, incluyendo los anticuerpos y fragmentos de éstos, que se une a un epítipo específico. El término abarca policlonales, monoclonales, y los anticuerpos quiméricos, los últimos mencionados se describen en mayor detalle en los números Patente EE.UU. 4.816.397 y 4.816.567, así como partes de la unión del antígeno de los anticuerpos, como Fab, F (ab ') 2 y F (v) (incluyendo los anticuerpos de cadena simple). Por consiguiente, la frase "molécula de anticuerpo" en sus diversas formas gramaticales utilizadas en la presente invención, contempla tanto una molécula de inmunoglobulina intacta y una parte activa inmunológicamente de una molécula de inmunoglobulina que contiene un sitio de combinación de anticuerpos. Un "sitio de combinación de anticuerpos" es la parte estructural de una molécula de anticuerpo formada por la variable de la cadena pesada y ligera y regiones hipervariables que específicamente se une a un antígeno.

Los modelos ejemplares de moléculas de anticuerpos son: las moléculas de inmunoglobulina intactas, las moléculas de inmunoglobulina sustancialmente intactas y las partes de una molécula de inmunoglobulina que contienen paratopo, incluyendo las partes conocidas en el arte como Fab, Fab, F (ab ') 2 y F (V), cuyas porciones son las preferidas para utilizarse en los métodos terapéuticos aquí descritos.

Las porciones Fab y F (ab ') 2 de las moléculas de anticuerpos son preparadas por la reacción proteolítica de la papaína y la pepsina, respectivamente, por métodos que son bien conocidos en moléculas de anticuerpos sustancialmente intactas. Véase, por ejemplo, EE.UU. Patent No. 4,342,566 para Theofilopolous et al. Las porciones Fab' de las moléculas anticuerpos también son bien conocidas y son producidas a partir de porciones de F(ab')₂ seguidas por reducción con mercaptoetanol de los puentes de disulfuro que unen las dos partes pesadas de la cadena, y seguido por la alquilación de la proteína mercaptans resultante con un

reactivo como yodoacetamida. Un anticuerpo que contiene moléculas de anticuerpos intactos se prefiere aquí.

La expresión "anticuerpos monoclonales", en sus diversas formas gramaticales, se refiere a un anticuerpo que tiene solo un sitio de combinación de anticuerpo capaz de inmunoreaccionar con un antígeno en particular. Un anticuerpo monoclonal lo que normalmente muestra es una afinidad única para unirse con el antígeno con el que inmunoreacciona. Un anticuerpo monoclonal, puede sin embargo contener una molécula de anticuerpo que tenga una pluralidad de sitios de combinación de anticuerpos, cada uno de inmunoespecífico para un antígeno diferente, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal Biespecíficos (quimérico).

El término "adyuvante" se refiere a un compuesto o mezcla que mejora la respuesta inmunitaria a un antígeno. Un adyuvante puede servir como un tejido de depósito que libera lentamente el antígeno y también como un activador del sistema linfático que no mejora específicamente la respuesta inmunitaria [Hood et al., En Inmunología, p. 384, segunda ed., Benjamin Cummings, Menlo Park, California (1984)]. A menudo, un reto principal con un antígeno solo, en ausencia de un adyuvante, es que dejará de provocar una respuesta humoral o inmune celular. Los adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, adyuvante completo de Freund, adyuvante incompleto de Freund, saponina, geles minerales tales como hidróxido de aluminio, sustancias de superficie activas, como lisolecitina, polioles pluronic, polianiones, péptidos, aceite o emulsiones de hidrocarburos, hemocyanins lapa, dinitrofenol , y adyuvantes humanos potencialmente útiles, como la BCG (bacilo de Calmette-Guerin) y Corynebacterium parvum. Preferentemente, el adyuvante es farmacéuticamente aceptable.

Diversos procedimientos conocidos en la técnica pueden ser utilizados para la producción de anticuerpos policlonales para los polipéptidos de la invención. Para la producción de anticuerpos, los diferentes animales de acogida pueden ser inmunizados por inyección con el polipéptido de la invención, incluyendo pero no limitado a los conejos, ratones, ratas, ovejas, cabras, etc En una realización, un polipéptido de la invención puede ser conjugado a un portador inmunogénico, por ejemplo, albúmina sérica bovina (BSA) o hemocianina de lapa (KLH). Varios adyuvantes se pueden utilizar

para aumentar la respuesta inmunológica dependiendo de la especie huésped, incluyendo pero no limitado a, Freund (completa o incompleta), geles minerales tales como hidróxido de aluminio, sustancias de superficie activas, como lisolecitina, polioles pluronic, polianiones, péptidos, emulsiones de aceite, hemocyanins lapa, dinitrofenol, y adyuvantes humanos potencialmente útiles, como la BCG (bacilo de Calmette-Guerin) y *Corynebacterium parvum*.

Para la preparación de anticuerpos monoclonales dirigidos a un polipéptido de la invención, cualquier técnica de producción de moléculas de anticuerpos por medio de líneas continuas de células en cultivo puede ser utilizadas. Estas incluyen pero no se limita a, la técnica de los hibridomas desarrollada originalmente por Kohler et al., (1975) *Nature*, 256:495 497, la técnica trioma, la técnica de los hibridomas de la célula humano de B [Kozbor et al., (1983) *Immunology Today*, 4:72], y la técnica de los hibridomas VEB para producir anticuerpos monoclonales humanos [Cole et al., (1985) en los anticuerpos monoclonales y la terapia del cáncer, pp. 77 96, Alan R. Liss, Inc.]. Las líneas de células inmortales productoras de anticuerpos pueden ser creadas por otras técnicas diferentes de la fusión, como la transformación directa de los linfocitos B con ADN oncogénico, o de la transfección con virus de Epstein-Barr. Véase, por ejemplo, EE.UU. Patent Nos. 4.341.761; 4.399.121, 4.427.783, 4.444.887, 4.451.570, 4.466.917, 4.472.500, 4.491.632 y 4.493.890.

En una modalidad adicional de la invención, los anticuerpos monoclonales pueden ser producidos en animales libres de gérmenes utilizando tecnologías recientes. Según la invención, anticuerpos de pollo o cerdo pueden ser utilizados y se puede obtener a base de hibridomas pollo o cerdo o mediante la transformación de las células B con el virus EBV in vitro. De hecho, según la invención, las técnicas desarrolladas para la producción de "anticuerpos quiméricos" [Morrison et al., (1984) *J. Bacteriol.* 159, 870; Neuberger et al., (1984) *Nature*, 312:604 608; Takeda et al., (1985) *Nature*, 314:452 454] por empalme de los genes de una molécula de anticuerpo de ratón específico para un polipéptido de la invención junto con los genes de una molécula de anticuerpo de actividad biológica adecuada puede ser utilizada; estos anticuerpos se encuentran dentro del alcance de esta invención. Estos anticuerpos quiméricos son los preferidos para uso en la

terapia de enfermedades o trastornos intestinales (descrita más adelante), ya que los anticuerpos son mucho menos probables que los anticuerpos xenogénicos para inducir una respuesta inmune, en particular, una respuesta alérgica.

5

Según la invención, las técnicas descritas para la producción de anticuerpos de cadena única (Patente EE.UU. 4.946.778) se pueden adaptar para producir anticuerpos específicos de cadena única para un polipéptido de la invención. Una modalidad adicional de la invención utiliza las técnicas
10 descritas para la construcción de bibliotecas de expresión Fab [Huse et al., (1989) Science, 246:1275-1281] para permitir la identificación rápida y fácil de fragmentos Fab de anticuerpos monoclonales con la especificidad deseada para un polipéptido de la invención.

15 Los fragmentos de anticuerpos, que contienen el idiotipo de la molécula de anticuerpo, pueden ser generados por las técnicas conocidas. Por ejemplo, estos fragmentos incluyen pero no están limitados a: el fragmento F(ab')₂ que puede ser producido por la digestión de la pepsina de la molécula de anticuerpo, fragmentos Fab', que pueden ser generados por la reducción de
20 los puentes disulfuro de fragmentos de F(ab')₂, y fragmentos Fab que pueden ser generados por el tratamiento de la molécula de anticuerpo con papaína y un agente reductor.

En la producción de anticuerpos, la detección de los anticuerpos deseados
25 se puede realizar mediante técnicas conocidas en el arte, por ejemplo, análisis radioinmuno, ELISA, análisis inmuno "sándwich", análisis inmunorradiométricos, reacciones de precipitación en gel de difusión, análisis de inmunodifusión, análisis de inmunidad in situ (con oro coloidal, etiquetas de enzimas o radioisótopos, por ejemplo) Western blot, reacciones de
30 precipitación, análisis de aglutinación (por ejemplo, análisis de aglutinación del gel, análisis de la hemaglutinación), pruebas de fijación de complemento, pruebas de inmunofluorescencia, pruebas de proteína A, las pruebas de inmunoelectroforesis, etc. En una realización, el anticuerpo vinculante se detecta mediante la detección de una etiqueta sobre el anticuerpo primario.
35 En otra realización, el anticuerpo primario se detecta mediante la detección de la unión de un anticuerpo secundario o reactivo con el anticuerpo primario. En otra realización, se etiqueta el anticuerpo secundario. Muchos medios son

conocidos en la técnica para la detección de una unión en un inmunoensayo y están dentro del ámbito de aplicación de la presente invención. Por ejemplo, para seleccionar anticuerpos que reconozcan un epítipo específico de un polipéptido de la invención, se pueden generar hibridomas de un producto que se une a un fragmento de un polipéptido de la invención que
5 contiene este epítipo.

La invención abarca también los métodos de diagnóstico y pronóstico para detectar la presencia de *B. hyodysenteriae* con un polipéptido de la invención y / o anticuerpos que se unen al polipéptido de la invención y kits de útiles
10 para el diagnóstico y pronóstico de las infecciones por *B. hyodysenteriae*.

Los métodos de diagnóstico y pronóstico en general, se llevarán a cabo utilizando una muestra biológica obtenida de un animal, como el pollo o el cerdo. Una "muestra" se refiere a los tejidos de un animal o de fluidos
15 sospechosos de contener una especie de *Brachyspira*, como *B. hyodysenteriae*, o sus polinucleótidos o sus polipéptidos. Ejemplos de tales tejidos o fluidos incluyen, pero no se limitan a, plasma, suero, materia fecal, orina, pulmón, corazón, músculo esquelético, estómago, intestinos, y en componentes de cultivo in vitro de células.

20

La invención proporciona métodos para detectar la presencia de un polipéptido de la invención en una muestra, con los siguientes pasos: (a) poner en contacto una muestra sospechosa de contener un polipéptido de la invención con un anticuerpo (de preferencia vinculado a un soporte sólido)
25 que se une específicamente al polipéptido de la invención bajo condiciones que permiten la formación de complejos de reacción incluyendo el anticuerpo y el polipéptido de la invención, y (b) la detección de la formación de complejos de reacción que comprende el anticuerpo y el polipéptido de la invención en la muestra, en la que la detección de la formación de complejos de reacción indica la presencia del polipéptido de la invención en la muestra.
30

Preferiblemente, el anticuerpo utilizado en este método se deriva de un anticuerpo policlonal de afinidad purificado, y preferiblemente un anticuerpo monoclonal. Además, es preferible que las moléculas del **anticuerpo que se usan aquí estén** en forma de porciones de Fab, Fab', F(ab')₂ o F(v) o las
35 moléculas de anticuerpo enteras.

Los métodos preferidos particularmente para la detección de *B. hyodysenteriae* basados en el método anterior incluyen análisis de inmunoabsorción ligada a la enzima, pruebas radioinmunes, pruebas inmunoenzimáticas y pruebas inmunorradiométricas, incluyendo, pruebas sandwich utilizando anticuerpos monoclonales y / o anticuerpos policlonales. Tres de estos procedimientos, son especialmente útiles ya sea para utilizar polipéptido de la invención (o un fragmento de la misma) marcado con una etiqueta detectable, Ab1 anticuerpo marcado con una etiqueta detectable o para Ab2 anticuerpo marcado con una etiqueta detectable. Los procedimientos pueden resumirse en las siguientes ecuaciones en donde el asterisco indica que la partícula se etiqueta y "AA" significa el polipéptido de la invención:

- A. $AA^* + Ab_1 = AA^* Ab_1$
- B. $AA + Ab_1 = AA Ab_1^*$
- C. $AA + Ab_1 + Ab_2^* = Ab_1 AA Ab_2^*$

Los procedimientos y su aplicación son familiares para los expertos en el arte y en consecuencia pueden ser utilizadas en el ámbito de aplicación de la presente invención. La "competitividad" en el procedimiento, procedimiento A, se describe en las Patentes EE.UU. números 3.654.090 y 3.850.752. El procedimiento B es representativo de técnicas bien conocidas en el método competitivo. El procedimiento C, de "sándwich", se describe en la Patente EE.UU. RE Nos. 31.006 y 4.016.043. Sin embargo otros procedimientos son conocidos, como los procedimientos que pueden ser utilizados para los anticuerpos de la "doble" o "DASP".

En cada caso, el polipéptido de la invención forma complejos con uno o más de los anticuerpos (es) o de los socios de unión y un miembro del complejo está marcado con una etiqueta detectable. El hecho de que se ha formado un complejo y, si lo desea, el importe de las mismas, puede ser determinada por métodos conocidos de aplicación a la detección de etiquetas.

Se desprende de lo anterior, que una propiedad característica de Ab2 es que va a reaccionar con AB1. Esta reacción se debe a que AB1, planteadas en una especie de mamífero, se ha utilizado en otras especies como antígeno para aumentar el anticuerpo, AB2. Por ejemplo, AB2 pueden plantearse en caprinos utilizando anticuerpos de conejo como antígenos. Ab2 sería, por tanto anticuerpos de conejo planteadas en las cabras. Para efectos de esta

descripción y reivindicaciones, Ab1 se conoce como un anticuerpo primario, y Ab2 se conoce como un anticuerpo anti-Ab1 secundario. Las etiquetas más comúnmente empleadas para estos estudios son los elementos radiactivos, enzimas, productos químicos que presentan fluorescencia cuando son expuestos a la luz ultravioleta, y otros. Ejemplos de materiales fluorescentes capaces de ser utilizados como etiquetas son la fluoresceína, la rodamina y la auramina. Un material en particular es la detección de anticuerpos de conejo preparado en cabras y conjugado con fluoresceína, a través de un isotiocianato. Ejemplos de isótopos preferidos: ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{51}Cr , ^{57}Co , ^{58}Co , ^{59}Fe , ^{90}Y , ^{125}I , ^{131}I , y ^{186}Re . Las etiquetas de radiactivos pueden ser detectadas por cualquiera de las disponibles en la actualidad en los procedimientos anteriores. Muchas enzimas pueden ser utilizadas, por ejemplo, la glucuronidasa, la peroxidasa, β , β D glucosidasa, β -galactosidasa D, de ureasa, además de la glucosa oxidasa peroxidasa y fosfatasa alcalina.

Las enzimas están conjugadas en partículas seleccionadas por la reacción con las moléculas de transición, como las Carbodiimidas, los disocianatos, los glutaraldehído y similares. Las etiquetas de enzimas pueden ser detectadas por cualquiera de las técnicas utilizadas actualmente como los colorimétricos, espectrofotométricos, fluorospectrophotometricos, amperométrica o gasométricos. N ° Patente EE.UU. 3.654.090, 3.850.752 y 4.016.043. Estas se refieren al modo de ejemplo para su divulgación de material de etiquetado y los métodos alternativos.

La invención también proporciona un método de detección de anticuerpos a un polipéptido de la invención en muestras biológicas, utilizando los pasos siguientes: (a) proporcionar un polipéptido de la invención o un fragmento de la misma, (b) incubación de una muestra biológica con dicho polipéptido de la invención bajo condiciones que permiten la formación de un complejo antígeno-anticuerpo, y (c) determinar si un complejo antígeno-anticuerpo con el polipéptido de la invención que está formado.

En otra realización de la invención se proporcionan los métodos in vitro para evaluar el nivel de anticuerpos a un polipéptido de la invención en una muestra biológica, utilizando los pasos siguientes: (a) la detección de la formación de complejos de reacción en una muestra biológica con arreglo al

método que se ha señalado anteriormente, y (b) la evaluación de la cantidad de complejos de reacción formados, cuya cantidad de complejos de reacción se corresponde con el nivel de polipéptido de la invención en la muestra biológica.

5

Además se proporcionan métodos in vitro para la vigilancia del tratamiento terapéutico de una enfermedad asociada a *B. hyodysenteriae* en un huésped animal, mediante la evaluación, como se describe arriba, los niveles de anticuerpos a un polipéptido de la invención de una serie de muestras biológicas obtenidas en el momento de diferentes puntos de un huésped animal sometidos a tal tratamiento terapéutico.

En la presente invención se dispone, además, los métodos para detectar la presencia o ausencia de *B. hyodysenteriae* en una muestra biológica: (a) 15 acercar la muestra biológica en contacto con una sonda de polinucleótidos o cartilla de polinucleótidos de la invención bajo condiciones adecuadas hibridación, y (b) detectar cualquier dúplex formado entre la sonda o la imprimación y de ácidos nucleicos en la muestra.

20 Según una realización de la invención, la detección de *B. hyodysenteriae* puede realizarse directamente de amplificación de secuencias de polinucleótidos de la muestra biológica, utilizando técnicas conocidas para detectar la presencia de secuencias de polinucleótidos de la invención.

En una forma de la invención, el objetivo de la secuencia de ácidos nucleicos 25 es amplificada por PCR y detectados utilizando cualquiera de los métodos específicos mencionados anteriormente. Otras técnicas de diagnóstico útiles para detectar la presencia de secuencias de polinucleótidos se incluyen, mas no están limitados a: 1) alelo-PCR específico, 2) el análisis de conformación de cadena simple, 3) La electroforesis en gel con gradiente, 4) los ensayos 30 de protección de RNasa, 5) el uso de las proteínas que reconocen los desajustes de nucleótidos, como la *E. coli* de proteínas mutS; 6) oligonucleótidos específicos de alelo, y 7) la hibridación fluorescente in situ.

Además de las secuencias anteriores métodos de polinucleótidos se puede detectar el uso de sondas convencionales. Cuando las sondas se utilizan 35 para detectar la presencia de las secuencias de polinucleótidos que se desean, las muestras biológicas para ser analizadas, tales como sangre o suero, pueden ser tratados si se desea, para extraer los ácidos nucleicos.

Las secuencias de polinucleótidos de la muestra se pueden preparar de varias maneras para facilitar la detección de la secuencia objetivo, por ejemplo, la desnaturalización, la digestión de restricción, la electroforesis o punto secante. La región de orientación de la secuencia de polinucleótidos de la muestra, por lo general debe ser al menos parcialmente, de cadena simple para formar híbridos con la secuencia de la orientación de la sonda. Si la secuencia es, naturalmente, una sola cadena, la desnaturalización no será necesaria. Sin embargo, si la secuencia es de doble cadena, la secuencia, probablemente tendrá que ser desnaturalizado. La desnaturalización se puede realizar mediante diversas técnicas conocidas en el arte.

Las secuencias de polinucleótidos y las sondas de la muestra, se incuban en condiciones que promuevan la creación de un híbrido estable de la secuencia diana en la sonda con la secuencia de la supuesta polinucleótido deseado en la muestra. Preferentemente, las condiciones de alta severidad se utilizan para evitar falsos positivos.

La detección de los híbridos resultantes, se realiza normalmente mediante el uso de sondas marcadas. Como alternativa, la sonda puede estar sin etiqueta, pero puede ser detectable por la unión específica con un ligando que se etiqueta, ya sea directa o indirectamente. Un etiquetado adecuado y los métodos de sondas de etiquetado y ligados que se conocen en la materia incluyen, por ejemplo, las etiquetas radiactivo que pueden ser incorporadas por los métodos ya conocidos (por ejemplo, Nick traducción, cebado al azar o kinasing), biotina, grupos fluorescentes, los grupos de quimioluminiscencia (por ejemplo, dioxetanes, en particular disparado dioxetanes), enzimas, anticuerpos, etc. Las variaciones de este esquema básico se conocen en el arte, e incluyen las modificaciones que facilitan la separación de los híbridos para ser detectados a partir de materias extrañas y / o que amplifican la señal de la fracción etiquetados.

También se contempla dentro del ámbito de aplicación de la presente invención, que los ensayos de la sonda de ácido nucleico pueden emplear un cóctel de sondas de ácido nucleico capaz de detectar las secuencias de polinucleótidos deseadas de esta invención. Así, en un ejemplo para detectar la presencia de secuencias de polinucleótidos de la presente invención en una muestra de células, más una sonda complementaria a las secuencias de

polinucleótidos empleada y, en particular el número de sondas diferentes, alternativamente, 2, 3, ó 5 de ácido nucleicos diferentes secuencias de la sonda.

- 5 Las secuencias de polinucleótidos descritos en este documento (preferiblemente en forma de prueba) también pueden ser inmovilizadas en un soporte en fase sólida para la detección de especies *Brachyspira*, incluyendo, mas no limitando a *B. hyodysenteriae*, *B. intermedia*, *B. alvinipulli*, *B. aalborgi*, *Innocens B.*, *murdochii B.* y *B. pilosicoli*.
- 10 Alternativamente, las secuencias de polinucleótidos descritas en este documento formarán parte de una biblioteca de moléculas de ADN que pueden ser utilizadas para detectar simultáneamente un número de genes de diferentes especies como *B. Brachyspira*, *hyodysenteriae*. En una alternativa adicional de la invención de las secuencias de polinucleótidos descritos en
- 15 este documento, junto con otras secuencias de polinucleótidos (como el de otras bacterias o virus) puede ser inmovilizado en un soporte sólido de tal manera que permita la identificación de la presencia de una especie como *B. Brachyspira*, *hyodysenteriae* y / o cualquiera de las otras secuencias de polinucleótidos envueltas en el soporte sólido.
- 20 Las técnicas para la producción de colecciones de moléculas de ADN inmovilizadas han sido descritas en la materia. En general, los métodos anteriores en el arte para describir la síntesis de cadena simple molécula de ácido nucleico de las bibliotecas, se realiza utilizando por ejemplo, las
- 25 técnicas de ocultación para crear diversas combinaciones de las secuencias en las distintas posiciones discretas en el sustrato sólido. En la Patente EE.UU. n ° 5.837.832 se describe un método mejorado para la producción de arrays de ADN inmovilizado basado en sustratos de silicio en gran escala de la tecnología de integración. En particular, la Patente EE.UU. n ° 5.837.832
- 30 describe una estrategia denominada "mosaico" para sintetizar un conjunto específico de sondas en las ubicaciones espacialmente definidas en un sustrato que pueden ser utilizadas para producir las bibliotecas de ADN inmovilizadas de la presente invención. La Patente No. 5,837,832 también proporciona referencias para técnicas anteriores, que también pueden ser
- 35 utilizadas. Por lo tanto, las sondas de secuencias de polinucleótido pueden ser sintetizadas in situ en la superficie del sustrato.

Alternativamente, las moléculas en cadena simples deben ser sintetizadas fuera del sustrato sólido y aplicado a cada secuencia pre-formadas en una posición discreta en el sustrato sólido. Por ejemplo, las secuencias de polinucleótidos se pueden imprimir directamente sobre el sustrato mediante
5 dispositivos de robótica equipado bien sea con pernos o pinzas como dispositivos eléctricos.

Las secuencias de la biblioteca son normalmente inmovilizadas sobre las regiones discretas del sustrato sólido. El sustrato debe ser poroso para
10 permitir la inmovilización del sustrato o sustancialmente no porosa, en cuyo caso las secuencias de la biblioteca son típicamente inmovilizadas en la superficie del sustrato. El sustrato sólido puede ser de cualquier material al que los polipéptidos puedan unirse, ya sea directa o indirectamente. Ejemplos de sustratos sólidos adecuados son el vidrio plano, las obleas de
15 silicio, mica, cerámicas y polímeros orgánicos tales como plásticos, incluyendo poliestireno y polimetacrilato. También puede ser posible usar membranas semipermeables, como las membranas de nitrocelulosa o nylon, que están ampliamente disponibles.

Las membranas semipermeables deben ser colocadas sobre una superficie
20 sólida robusta como el vidrio. Opcionalmente, las superficies pueden estar recubiertas por una capa de metal, como oro, platino o de metales de transición.

Preferiblemente, el sustrato sólido es generalmente un material que permite
25 una superficie rígida o semi-rígida. En realizaciones preferenciales, al menos una superficie del sustrato deberá ser prácticamente plana. Sin embargo, en algunas realizaciones puede ser conveniente separar físicamente las regiones de síntesis de los polímeros diferentes, por ejemplo, regiones replanteadas o agujeros grabados. También es preferible que el sustrato
30 sólido sea adecuado para la aplicación de alta densidad de secuencias de ADN estar en zonas discretas de 50 a 100 micras, con una densidad de 10000 a 40000 dots/cm².

Es conveniente dividir el sustrato sólido en secciones. Esto puede lograrse
35 mediante técnicas como el fotograbado, o por la aplicación de tintas hidrofóbico, por ejemplo, teflón tintas de base (Cel-line, EE.UU.).

Posiciones discretas, en las que se encuentran los diferentes miembros de conjuntos de datos, pueden tener cualquier forma conveniente, por ejemplo, circular, rectangular, elíptica, con forma de cuña, etc...

- 5 La unión de las secuencias de polinucleótidos al sustrato puede ser por medio de covalentes o no covalentes. Las secuencias de polinucleótidos pueden asociarse al sustrato a través de una capa de moléculas a las que la base de datos está unida. Por ejemplo, las secuencias de polinucleótidos pueden ser etiquetados con la biotina y el sustrato recubierto con avidina o
- 10 estreptavidina. Una característica conveniente de usar las secuencias de polinucleótidos biotina es que la eficiencia de acoplamiento con el sustrato sólido que se puede determinar fácilmente. Dado que las secuencias de polinucleótidos no se unen de la mejor manera a algunos sustratos sólidos, a menudo es necesario proporcionar una interfaz química entre el sustrato
- 15 sólido (como en el caso del vidrio) y las secuencias de ácido nucleico. Ejemplos de interfaces de químicos adecuados incluyen glicol hexaethylene. Otro ejemplo es el uso de vidrio recubierto de polilisina, luego de ser modificado químicamente mediante el procedimiento habitual para introducir un ligando de afinidad. Otros métodos para fijar las moléculas a las
- 20 superficies del sustrato sólido mediante el uso de agentes de acoplamiento se conocen en el arte, véase, por ejemplo WO98/49557.

- La unión de las secuencias de polinucleótidos complementarias para inmovilizar la base de datos de los ácidos nucleicos, puede ser determinada
- 25 por una variedad de medios tales como cambios en las características ópticas de la secuencia de polinucleótidos envuelta (es decir, por el uso de bromuro de etidio) o por el uso de la etiqueta los ácidos nucleicos, como los polipéptidos marcados con fluorocromos. Otras técnicas de detección que no requieren el uso de etiquetas incluyen técnicas ópticas, como optoacoustics,
- 30 reflectometría, elipsometría y la resonancia de plasmones de superficie (ver WO97/49989).

- Por lo tanto, la presente invención proporciona un sustrato sólido que inmoviliza al respecto por lo menos un polinucleótido de la presente
- 35 invención, preferiblemente dos o más secuencias de polinucleótidos diferentes de la presente invención.

La presente invención también puede utilizarse como profiláctico o terapéutico, que puede ser utilizado para el propósito de estimular la respuesta inmune humoral y celular en los animales, como pollos y cerdos, proporcionando así la protección contra la colonización con especies

5 Brachyspira, incluyendo mas no limitando a, B. hyodysenteriae, B. suanatina B. . intermedia, B. alvinipulli, B. aalborgi, B. Innocens B, murdochii B. y B. pilosicoli. La infección natural con una especie de Brachyspira, como la B. hyodysenteriae induce los anticuerpos circulantes contra las proteínas

10 descritos en este documento. Por lo tanto, las secuencias de aminoácidos descritos en este documento o sus partes, tienen el potencial para formar la base de una forma sistémica o por vía oral profilácticos o terapéuticos para proporcionar protección contra spirochaetosis intestinal.

15 Como consecuencia, en una realización de la presente invención, se proporcionan las secuencias de aminoácidos aquí descritos o fragmentos de los anticuerpos que se unen las secuencias de aminoácidos o las secuencias de polinucleótidos también aquí descritos en una cantidad terapéuticamente efectiva mezclado con un portador farmacéuticamente aceptable, diluyente o excipiente.

20 La expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" se utiliza aquí para hacer referencia a una cantidad suficiente para reducir en al menos un 15%, 50%, y aún más preferible en un 90%, y más preferiblemente evitar un déficit clínicamente significativo en la actividad, función y la respuesta del huésped

25 animal. Alternativamente, una cantidad terapéuticamente efectiva es suficiente para lograr una mejora en una condición clínicamente significativa en el animal huésped.

La frase "farmacéuticamente aceptable" se refiere a entidades moleculares y

30 composiciones que son fisiológicamente tolerables y no suelen producir una reacción alérgica o reacciones adversas similares, tales como molestias gástricas y similares, cuando se le administra al animal. El término "porteador" se refiere a un diluyente, coadyuvantes, excipiente o conductor con el que se administra el compuesto. Estos conductos farmacéuticos de

35 líquidos pueden ser estériles. Por ejemplo el agua y aceites, incluyendo el petróleo animal o vegetal o los de origen sintético, como el aceite de maní, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, etc. El agua o las

soluciones salinas y las soluciones de dextrosa y las soluciones acuosas de glicerol, son preferentemente empleados como conductores, en particular para soluciones inyectables. Las adaptaciones a los conductores farmacéuticos se describen en: Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, (1990).

En una forma más específica de la invención se proporcionan composiciones farmacéuticas que contienen cantidades terapéuticamente efectivas de las secuencias de aminoácidos descritas en este documento o un análogo, fragmento o un producto derivado de ellos o los anticuerpos correspondientes, junto con diluyente farmacéuticamente aceptable, conservantes, solubilización, emulsionantes, aditivos y / o conductores. Dichas composiciones son diluyentes de los diferentes contenidos de amortiguación (por ejemplo, Tris-HCl, acetato, fuerza de fosfato), el pH y iónicos y otros aditivos, como por ejemplo, los detergentes y agentes solubilizantes (Tween 80, polisorbato 80), antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico, metabisulfito de sodio), conservantes (por ejemplo, Thimersol, alcohol bencílico) y sustancias volumen (por ejemplo, la lactosa, manitol). El material debe ser incorporado en los preparativos de partículas de compuestos de polímeros, como el ácido poliláctico, ácido poliglicólico, etc. o en liposomas. El ácido Hylauronic también debe ser utilizado. Tales composiciones pueden influir en el estado físico, la estabilidad, la tasa de liberación en vivo, y la tasa de aclaramiento en vivo de las proteínas presentes y derivados. Véase, por ejemplo, Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed (1990, Mack Publishing Co., Easton, PA 18042) 1435-1712 páginas que se incorporan por referencia en este documento. Las composiciones deben ser preparados en forma líquida, o puede ser en polvo seco, como forma de liofilizado.

Alternativamente, los polinucleótidos de la invención pueden ser optimizados por la expresión en las plantas (por ejemplo, el maíz). La planta puede ser transformada con plásmidos que contienen los polinucleótidos optimizados. Entonces, la planta se cultiva y las proteínas de la invención se expresan en la planta, o la versión optimizada de la planta se expresa. La planta es más tarde cosechada y la sección de la planta que contiene las proteínas de la invención es procesada para la alimentación de los animales. Esta alimentación de los animales impartirá la inmunidad contra *B. hyodysenteriae*

cuando es comida por el animal. Ejemplos de la técnica en detalle estos métodos se pueden encontrar en U. S. Patent 5,914,123 (Arntzen, et al.), U. S. Patent 6,034,298 (Lam et al.), U. S. Patent 6,136,320 (Arntzen, et al.).

Se puede apreciar que las composiciones farmacéuticas siempre de acuerdo a la invención pueden ser administradas por cualquier medio conocido en el arte. Preferiblemente, las composiciones farmacéuticas para la administración son administradas por inyección, por vía oral, pulmonar, o por vía nasal. Las secuencias de aminoácidos que se describen en este documento o anticuerpos derivados de los mismos son preferiblemente administrados por vía intravenosa, vía intraarterial, intraperitoneal, intramuscular o subcutánea. Alternativamente, la secuencia de aminoácidos descritos en este documento o anticuerpos derivados de los mismos, bien definidas, puede ser administrado por vía nasal u oral.

Se incluye también en la presente invención el uso de secuencias de polinucleótidos de la invención, así como el antisentido y las secuencias de polinucleótidos ribozima hybridizable a una secuencia de polinucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos según la invención, para la fabricación de un medicamento para la modulación de una enfermedad asociada con *B. hyodysenteriae*.

Las secuencias de polinucleótidos que codifica las secuencias antisentido son construidas o ribozimado para su uso en métodos terapéuticos son deseablemente administrados directamente como un ácido nucleico desnudo. La captación de ácido nucleico desnudo construido por las células bacterianas, se ve reforzada por varias técnicas de transfección conocidas, por ejemplo, aquellas que incluyen el uso de agentes de transfección. Ejemplo de estos agentes son los agentes catiónicos (por ejemplo fosfato de calcio y DEAE-dextrano) y lipofectants. Normalmente, el ácido nucleico de las construcciones, se mezclan con el agente de transfección para producir una composición.

Alternativamente, los antisentidos construidos o ribozimados pueden combinarse con un portador farmacéuticamente aceptable diluyente para producir una composición farmacéutica. Los conductores convenientes y diluyentes incluyen la solución salina isotónica, por ejemplo, la solución salina de fosfato tamponado. La composición puede formularse para la

administración parenteral, intramuscular, intravenosa, subcutánea, intraocular, oral o transdérmica. Las vías de administración descritas están destinadas sólo como una guía, ya que un médico experto podrá determinar fácilmente la ruta óptima de administración así como la dosis de cualquier animal en particular y el estado.

La invención también incluye los kits para la detección en los animales que sospechosamente pueden estar infectados con una especie *Brachyspira*, como *B. hyodysenteriae* o confirmar que un animal está infectado con una especie *Brachyspira*, como *B. hyodysenteriae*. En una realización de esta invención, los equipos adecuados para su uso por un especialista puede estar preparado para determinar la presencia o ausencia de especies *Brachyspira*, incluyendo pero no limitado a *B. hyodysenteriae*, *B. suanatina*, *B. intermedia*, *B. alvinipulli*, *B. aalborgi*, *B. Innocens*, *B. murdochii*. y *B. pilosicoli* ante la sospecha de animales infectados o para medir cuantitativamente una especie *Brachyspira*, incluyendo mas no limitado a *hyodysenteriae* *B.*, *B suanatina*, *B. intermedia*, *B. alvinipulli*, *B. aalborgi* infección *B. pilosicoli*. De conformidad con las técnicas de prueba que se mencionaron anteriormente, estos kits pueden contener al menos una versión de la etiqueta de una de las secuencias de aminoácidos aquí descritas o de su pareja de unión, por ejemplo, un anticuerpo específico al respecto y las direcciones en función del método seleccionado, por ejemplo, "competitivo", "sandwich", "DASP" y similares. Como alternativa, estos kits pueden contener, al menos una secuencia de polinucleótidos complementarios a una porción de una de las secuencias de polinucleótidos descritos en este documento, junto con instrucciones para su uso. Los kits también pueden contener reactivos de periféricos, tales como amortiguadores, estabilizadores, etc.

Como consecuencia, un kit de prueba para la demostración de la presencia de una especie *Brachyspira*, incluyendo mas no limitando a *B. hyodysenteriae*, *B. suanatina*, *B. intermedia*, *B. alvinipulli*, *B. aalborgi*, *B. Innocens.*, *B. murdochii* y *B. pilosicoli*, debe contener lo siguiente:

(a) una cantidad determinada de al menos un reactivo marcado inmuniquímicamente obtenido por la fijación directa o indirecta de una de las secuencias de aminoácidos que se describen en este documento o de una pareja de unión específica al mismo, en una etiqueta detectable;

(b) otros reactivos, y

(c) las instrucciones para el uso de dicho kit.

Más concretamente, el kit de prueba de diagnóstico puede incluir:

5 (a) una cantidad conocida de una de las secuencias de aminoácidos que aquí se describen como se describió anteriormente (pareja o un enlace), generalmente ligado a una fase sólida para formar un inmunoensayo, o como alternativa, unida a una etiqueta adecuada, o bien habrá una pluralidad de productos finales, tales, etc;

(b) si es necesario, otros reactivos, y

10 (c) las instrucciones para el uso de dicho equipo para la prueba.

En una variante más, el kit de prueba puede contener:

(a) un componente etiquetado que ha sido obtenido por un acoplamiento de las secuencias de aminoácidos que aquí se describen a una etiqueta detectable;

15 (b) uno o más reactivos de inmunoquímica adicional de que al menos un reactivo es un ligando o un ligando inmovilizado, que ligando es seleccionado del grupo consistente en:

(i) un ligando capaz de unirse con el componente de etiquetado (a);

20 (ii) un ligando capaz de unirse con una pareja de unión de los componentes etiquetados (a);

(iii) un ligando capaz de unirse con al menos uno de los componente (s) que se determinen, o

25 (iv) un ligando capaz de unirse con al menos uno de los socios de la unión de al menos uno de los componente (s) que se determinen, y

30 (c) las instrucciones para la realización de un protocolo para la detección y / o determinación de uno o más componentes de una reacción inmunoquímica entre una de las secuencias de aminoácidos que se describe en este documento y una pareja de unión específica al mismo.

Preparación de la biblioteca genómica

35 Una biblioteca genómica se prepara utilizando un campo aislado de la especie porcina de Australia hyodysenteriae B. (WA1 cepa). Esta variedad ha sido bien caracterizada y demostrada ser virulenta y ser el desafío

experimental de cerdos. El método de bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) se utiliza para preparar el ADN cromosómico de alta calidad adecuada para la preparación de las bibliotecas de ADN genómico. *B. hyodysenteriae* se cultiva en 100 ml de tripticasa anaeróbica de cultivo de soja a una densidad celular de 10⁹ células / ml. Las células se cosechan a 4.000 xg durante 10 minutos, el sedimento celular es resuspendido en 9,5 ml de buffer TE. SDS. Posteriormente se añade a una concentración final de 0,5% (w / v), y las células lisis a 37 ° C durante 1 hora con 100 mg de proteinasa K. Se añade el NaCl a una concentración final de 0,7 M y 1,5 ml de CTAB / NaCl (solución al 10% w / v CTAB, 0,7 M NaCl), antes de incubar la solución a los 65 ° C durante 20 minutos. El lisado se extrae con un volumen igual de cloroformo / alcohol isoamílico, y el tubo se centrifuga a 6.000 xg durante 10 minutos para separar las fases. La fase acuosa se transfiere a un tubo nuevo y se añaden 0,6 volúmenes de isopropanol para precipitar el ADN de alto peso molecular. El precipitado de ADN se recoge mediante una varilla de vidrio conectado y transferido a un tubo que contiene 1 ml de 70% (v / v) de etanol. El tubo se centrifuga a 10.000 xg y el ADN en pelotas se redisuelven en 4 ml de TE de la noche a la mañana. Un gradiente de cloruro de cesio que contiene 1,05 g / ml CsCl y 0,5 mg / ml de bromuro de etidio se prepara utilizando la solución de ADN redisuelto. El gradiente se transfiere a tubos herméticos de 4 ml y se centrifuga a 70.000 xg durante la noche a 15 ° C. El ADN separado se visualiza bajo una luz ultravioleta, y el ADN de alto peso molecular se retira del gradiente usando una aguja de 15-g. El bromuro de etidio se extrae el ADN mediante extracción secuencial con isopropanol saturado de CsCl. El ADN cromosómico purificado es dializado con 2 litros de TE y se precipita con isopropanol. El DNA genómico resuspendido se corta con una tijera de genes (Genomic Solutions, Ann Arbor, MI), y el ADN cortado usando polimerasa Klenow de ADN para generar fragmentos de punta roma. Un centenar de ng de fragmentos de ADN de punta roma se liga con 25 ng de vector VC pSMART (Lucigen, Meddleton, WI) usando ligasa de ADN CloneSmart. El ADN ligado es a continuación electroporado en células de *E. coli*. Una inserción de una pequeña (2-3 kb) biblioteca y una inserción de una mediana (3-10 kb) biblioteca se construye en la versión de copia baja del vector VC pSMART.

Secuenciación de genomas

Después que se obtiene la biblioteca genómica, son recogidos clones individuales de *E. coli* que contiene el vector de CV pSMART. El ADN plásmido es purificado y secuenciado. Los plásmidos purificados son sometidos a secuenciación directa automatizada del vector VC pSMART con el avance y retroceso cebadores específicos para el vector de CV pSMART. Cada reacción de secuenciación se lleva a cabo en un volumen de 10 μ l compuesto de 200 ng de ADN plásmido, 2 pmol de cebador, y 4 μ l de la ABI PRISM™ BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Mix (PE Applied Biosystems, Foster City, CA). Las condiciones cíclicas incluyen 2 minutos de desnaturalización a 96 ° C, seguido de 25 ciclos de desnaturalización a 96 ° C durante 10 segundos, y una combinación de cebador y un paso de extensión a 60 ° C durante 4 minutos. Los Terminadores de tinte residuales se eliminan de los productos de secuenciación por precipitación con un 95% (v / v) de etanol que contiene 85 mM de acetato de sodio (pH 5,2), 3 mM de EDTA (pH 8), y **secada** al vacío. Los plásmidos se ordenan por duplicado utilizando cada cebador. Los productos de secuenciación se analizan utilizando un secuenciador de ADN ABI 373A (PE Applied Biosystems).

Anotación

Las secuencias parciales del genoma de *B. hyodysenteriae* se ensamblan y se anotan usando una serie de herramientas de bioinformática de dominio público para analizar y volver a analizar las secuencias como parte de un procedimiento de aseguramiento de calidad en el análisis de datos. Los marcos de lectura abierta (ORF) son previstos utilizando una variedad de programas, incluyendo GeneMark, Glimmer, Orfeo, SELFID y GetORF. ORF Putativos se examinan en busca de homología (ADN y proteínas) con bases de datos internacionales existentes mediante búsquedas incluyendo BLAST y FASTA. Todos los ORF previstos se analizan para determinar su localización celular mediante programas que incluyen PSI-BLAST, FASTA, motivos, FINDPATTERNS, PHD, SignalP y PSORT. Se utilizan bases de datos incluidas, Interpro, Prosite, PRODOM, Pfam y Blocks para predecir la superficie de las proteínas asociadas tales como los dominios

transmembrana, los péptidos líder, homologías a las proteínas de superficie conocidas, la firma de lipoproteínas, los motivos de anclaje de la membrana externa y dominios de unión de la célula huésped. Los análisis Filogenéticos y de evolución molecular se realizan con genes identificados y con otras especies para ayudar en la asignación de la función. El análisis in silicio de ambos genomas secuenciados produce una lista completa de todos los ORFs presentes en la secuencia de datos disponibles. Cada ORF es interrogado por información descriptiva, como el peso molecular previsto, punto isoelectrico, hidrofobicidad, y la localización subcelular que permitan su correlación con las propiedades in vitro del producto del gen nativo. Los genes previstos que codifican proteínas similares a la superficie de los componentes localizados y / o factores de virulencia en otras bacterias patógenas son seleccionados como objetivos potenciales de la vacuna.

15

Resultados Bioinformáticos

La secuenciación del genoma de *B. hyodysenteriae* resulta en 94,6% (3.028,6 KB de 3200 kb previstos) del genoma que ha sido secuenciado. La secuencia de *B. hyodysenteriae* se compone de 294 contigs con un tamaño promedio de 10,3 kb. Para la *B. hyodysenteriae*, 2.593 marcos de lectura abierta (ORF) se preveen de los 294 contigs. La comparación de los ORF previstos con genes presentes en el ácido nucleico y bases de datos de proteínas indican que aproximadamente el 70% de los ORFs tienen una homología con genes contenidos en las bases de datos públicas. No se conoce la identidad del 30% restante de los ORF previstos.

25

Candidatos a Vacunas

Para ayudar a reducir el número de ORFs que pueden ponerse a prueba como candidato a vacuna, las ORF que muestren una homología razonable (E-valor inferior a E-15) con proteínas de superficie exterior, proteínas secretadas, y posibles factores de virulencia, presentes en las bases de datos públicas son seleccionadas como posibles candidatas a vacunas. De los 2.593 ORFs obtenidos en la secuenciación genómica, muchos pasaron este examen, pero los resultados de treinta y tres genes se presentan aquí. El cuadro 1 muestra treinta y tres genes seleccionados como blanco

35

potencial de la vacuna y su similitud con otras secuencias de aminoácido conocidas, obtenidas de la base de datos SWISS-PROT. Cabe señalar que la identidad de los aminoácidos no llega a más de 58%, mientras que la similitud u homología de aminoácidos sigue siendo menos del 71%, lo que indica que estos ORFs son únicos.

Cuadro 1

Gen	Identidad de la proteína con más alta homología	Identidad (amino ácidos)	Similaridad (amino ácidos)	Número de accesión
NAV-H54	Proteína de superficie Variable(VspD) de <i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	106/223 (47%)	136/223 (60%)	O68157
NAV-H55	Proteína Flagelar B de <i>Leptospira interrogans</i>	58/213 (27%)	108/213 (50%)	Q72SJ3
NAV-H56	Antígeno mayor de la cuasi miosina	288/1509 (19%)	609/1509 (40%)	P21249
NAV-H57	Transglycosylato Lítico de murein (membrana externa, posiblemente)	97/318 (25%)	158/318 (41%)	Q6F7W9
NAV-H58	Proteína exterior de la membrane de <i>Treponema pallidum</i>	57/175 (32%)	90/175 (51%)	P96127
NAV-H59	Antígeno mayor de la cuasi miosina	204/1012 (20%)	432/1012 (42%)	P21249
NAV-H60	Proteína de membrane exterior y lipoproteína de peptidoglycan asociada	46/139 (33%)	68/139 (48%)	COG2885
NAV-H61	Lipoproteína putative de <i>Treponema denticola</i>	336/805 (41%)	483/805 (60%)	Q73NT0
NAV-H62	NlpA lipoproteína de <i>Streptococcus suis</i>	92/269 (34%)	151/269 (56%)	Q303L3
NAV-H63	NlpA lipoproteína de <i>Streptococcus suis</i>	106/312 (33%)	167/312 (53%)	Q303L3
NAV-	NlpA lipoproteína de	112/337	198/337	Q303L3

H64	<i>Streptococcus suis</i>	(33%)	(58%)	
NAV-H65	Proteína putativa secretada de <i>Streptomyces violaceoruber</i>	50/127 (39%)	68/127 (53%)	Q849M9
NAV-H66	Toxina (YoeB) de <i>Escherichia coli</i>	42/85 (58%)	60/85 (76%)	P69349
NAV-H67	Proteína de membrana exterior (TolC)	80/350 (20%)	171/350 (39%)	Q2Z054
NAV-H68	Proteína probablemente relacionada con la hemolysina <i>Dehalococcoides</i> sp.	121/415 (29%)	204/415 (49%)	Q3ZYX1
NAV-H69	Proteína de superficie externa de <i>Bacillus cereus</i>	193/357 (54%)	256/357 (71%)	Q4MWS0
NAV-H70	Lipoproteína de membrana asociada a <i>Vibrio vulnificus</i>	146/417 (35%)	203/417 (48%)	Q2SRL9
NAV-H71	Proteína de capa de superficie de <i>Methanosarcina barkeri</i>	72/201 (36%)	112/201 (49%)	Q8TJE3
NAV-H72	Transglycosylato Lítico de murein (membrana externa, posiblemente)	51/141 (36%)	6/141 (53%)	P44049
NAV-H73	Toxina (YoeB) de <i>Escherichia coli</i>	42/84 (50%)	62/84 (73%)	P69349
NAV-H74	Proteína de membrana exterior/antigen protectorio	210/833 (25%)	339/833 (40%)	COG4775
NAV-H22	Proteína de superficie variable (VspH) de <i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	29% (133/454)	43% (199/454)	AAK14803.1
NAV-H23	Lipoproteína asociada a la membrana de <i>Mycoplasma mycoides</i>	43% (114/263)	60% (159/263)	AAF27178.1
NAV-	Lipoproteína de	32%	53%	ZP00300921.1

H24	membraba externa de Geobacter metallireducens	(46/142)	(76/142)	
NAV- H30	Antigen de superficie (BspA) de Bacteroides forsythus	38% (83/216)	55% (120/216)	AAC82625.1
NAV- H32	Proteína hemolítica (HlpA) de Nostoc sp.	35% (49/137)	56% (77/137)	NP488469.1
NAV- H33	Proteína hemolítica de Prevotella intermedia	54% (64/117)	70% (83/117)	AAC05836.1
NAV- H37	Proteína de mediación virulenta (VirC) de Vibrio parahaemolyticus	36% (58/159)	63% (101/159)	NP800579.1
NAV- H40	transglycosylaso lítico de murein (contiene LysM/dominios invasivos)	26% (120/449)	41% (185/449)	ZP00146104.1
NAV- H41	Antigen de superfice BspA de Bacteroides forsythus	41% (84/201)	57% (115/201)	AAC82625.1
NAV- H43	Hemolysinas y proteínas relacionadas de Anabaena variabilis	35% (150/425)	56% (242/425)	ZP00162711.2
NAV- H44	Membrana exterior de Leptospira interrogans	20% (79/393)	41% (163/393)	YP001419.1
NAV- H45	Proteína de factor de virulancia (MviN) de Geobacter sulfurreducens	32% (153/469)	49% (231/469)	NP952225.1

El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H54 se encuentran en los números ID SEC: 1 y 2, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H55 se encuentran en los números ID SEC: 3 y 4, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H56 se encuentran en los números ID SEC: 5 y 6, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H57 se encuentran en los números ID SEC: 7 y 8, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H58 se encuentran en los números ID SEC: 9 y 10, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H59 se encuentran en los

números ID SEC: 11 y 12, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H60 se encuentran en los números ID SEC: 13 y 14, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H61 se encuentran en los números ID SEC: 15 y 16, respectivamente. El ADN y las

5 secuencias de aminoácidos de NAV-H62 se encuentran en los números ID SEC: 17 y 18, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H63 se encuentran en los números ID SEC: 19 y 20, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H64 se encuentran en los números ID SEC: 21 y 22, respectivamente. El ADN y las secuencias de

10 aminoácidos de NAV-H65 se encuentran en los números ID SEC: 23 y 24, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H66 se encuentran en los números ID SEC: 25 y 26, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H67 se encuentran en los números ID SEC: 27 y 28, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de

15 NAV-H68 se encuentran en los números ID SEC: 29 y 30, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H69 se encuentran en los números ID SEC: 31 y 32, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H70 se encuentran en los números ID SEC: 33 y 34, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H71 se

20 encuentran en los números ID SEC: 35 y 36, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H72 se encuentran en los números ID SEC: 37 y 38, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H73 se encuentran en los números ID SEC: 39 y 40, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H74 se encuentran en los

25 números ID SEC: 41 y 42, respectivamente.

El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H22 se encuentran en los números ID SEC: 43 y 44, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H23 se encuentran en los números ID SEC: 45 y 46, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H24 se

30 encuentran en los números ID SEC: 47 y 48, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H30 se encuentran en los números ID SEC: 49 y 50, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H32 se encuentran en los números ID SEC: 51 y 52, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H33 se encuentran en los

35 números ID SEC: 53 y 54, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H37 se encuentran en los números ID SEC: 55 y 56, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H40 se

- encuentran en los números ID SEC: 57 y 58, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H41 se encuentran en los números ID SEC: 59 y 60, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H43 se encuentran en los números ID SEC: 61 y 62, respectivamente.
- 5 El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H44 se encuentran en los números ID SEC: 63 y 64, respectivamente. El ADN y las secuencias de aminoácidos de NAV-H45 se encuentran en los números ID SEC: 65 y 66, respectivamente.
- 10 Para reducir aún más el número de ORFs que se pondrán a prueba como una vacuna, son abandonados los productos de genes, previstos por el análisis en silicio, que se localicen en el citoplasma o en la membrana interna de la espiroqueta. Como resultado, veinte de los treinta y tres genes presentan en la Tabla 1 se analiza con mayor profundidad. Estos incluyen
- 15 NAV-H58, H60-NAV, NAV-H62, H64-NAV, NAV-H66, NAV-H67, H69-NAV, NAV-H71, H73-NAV, NAV-H22, H23-NAV, NAV-H24, NAV-H30, NAV-H32, H33-NAV, NAV-H37, H40-NAV, NAV-H41, NAV-H43, H44-NAV, y NAV-H45.

20 Análisis de la distribución de genes mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

- Uno o dos primeros pares que se ajustan fuertemente a las diferentes regiones del gen objetivo de la región codificada están diseñados y optimizados para la detección PCR. Los primeros individuales están
- 25 diseñados utilizando Oligo Explorer 1.2 y son seleccionados los primeros grupos con temperaturas calculadas de fusión de aproximadamente 55-60 ° C. Estos primeros grupos son también seleccionados para generar productos PCR superiores a 200 pb. Una primera temperatura de 50 ° C para un refuerzo de un medio –rígido, es seleccionada para el análisis de PCR de
- 30 distribución. Las condiciones del medio- rígido permitirán a las posibles secuencias menores no coincidentes (debido a diferencias de tensión) y que ocurren en los primeros sitios de unión, no afectar las primeras uniones. El análisis de la distribución del objetivo de los genes de veintiún *B. hyodysenteriae* se realizan en 23 cepas de *B. hyodysenteriae*; incluyendo
- 35 dos cepas que hayan demostrado ser virulentas. El análisis PCR se realiza en un volumen total de 25 µ L utilizando una Taq de polimerasa de ADN (Biotech International, Thurmont, MD). La mezcla de amplificación consta de

1x tampón PCR (que contiene 1,5 mM de MgCl₂), 1 U de Taq ADN polimerasa, 0,2 mM de cada dNTP (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ), 0,5 μ M del primer par, y 1 μ l purificado plantilla de ADN cromosómico. Las condiciones cíclicas implican un primer paso de

5 desnaturalización de 5 minutos a 94 ° C, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94 ° C durante 30 segundos, hibridación a 50 ° C durante 15 segundos, y una primer extension a 68 ° C durante 4 minutos. Los productos PCR son sometidos a electroforesis en 1% (w / v) de geles de agarosa en tampón 1x TAE (40 mM Tris-acetato, 1 mM EDTA), se tiñeron

10 con un 1 μ g / ml de solución de bromuro de etidio y la visión sobre la luz UV. Los iniciadores utilizados para los genes de los dieciocho (de los veinte uno) se indican en la Tabla 2. De estos genes de dieciocho años, tres de ellos (NAV-H23, NAV-NAV-H41 y H71) están presentes en el 83% de las cepas de B. hyodysenteriae de prueba, tres de ellos (NAV-H24, NAV-NAV-H30 y H73)

15 están presentes en el 87% de las cepas estudiadas, siete de ellos (NAV-H22, NAV-H32, H33-NAV, NAV-H37, H43-NAV, NAV-NAV-H64 y H69) están presentes en el 91% de las cepas de prueba, y tres de ellos (NAV-H40, NAV-H44, H45 y NAV-) están presentes en el 100% de las cepas analizadas. Los otros tres genes están presentes en menos del 80% de las cepas de B.

20 hyodysenteriae prueba. La mala distribución de estos genes hace menos útiles como una subunidad de la vacuna. Por esta razón, el nuevo análisis de estos genes se ha abandonado.

Cuadro 2

Gen	Primer nombre	Primer Sequencia (5'-3')
NAV-H22	H22-F4	AAACGTTTATATTTTATTTTATC (SEQ ID NO: 67)
	H22-R1308	AAACTTCCAAGTGATACC (SEQ ID NO: 68)
NAV-H23	H23-F4	AAATATAAACCTACAAGCAG (SEQ ID NO: 69)
	H23-R2366	AATATTTTCAGTTAATCTAAAATC (SEQ ID NO: 70)
NAV-H24	H24-F19	ACTTTAATCTTTGTATTAATTTTG (SEQ ID NO: 71)
	H24-R729	TTGTTTTAATTTGATAATATCAG (SEQ ID NO: 72)

Cuadro 2 (continúa)

Gen	Primer nombre	Primer Secuencia (5'-3')
NAV-H30	H30-F4	AAAAAAATTATTTTATTAATTTTATATT (SEQ ID NO: 73)
	H30-R969	TTCTCTTATAATCTTTACAGTTG (SEQ ID NO: 74)
NAV-H32	H32-F4	CATATTTCTGGTGATTCTC (SEQ ID NO: 75)
	H32-R564	TTTTTTGATAAATAAGTTTTTTTATTTG (SEQ ID NO: 76)
NAV-H33	H33-F4	TTTAATACTCCTATATTATTAATTATTT (SEQ ID NO: 77)
	H33-R396	AAGGAGAATCACCAGAAA (SEQ ID NO: 78)
NAV-H37	H37-F4	AATGATATTATTAAAGTGATAAA (SEQ ID NO: 79)
	H37-R825	AAAATCTAATATAACGGATT (SEQ ID NO: 80)
NAV-H40	H40-F16	AAATATGCTTCCATTATAGG (SEQ ID NO: 81)
	H40-R1815	ACTTTTAGGAAGAAGTTTAAC (SEQ ID NO: 82)
NAV-H41	H41-F19	TATATTTTCATTATATATTTATTAG (SEQ ID NO: 83)
	H41-R1067	CTAGGCATAGATTTTCCA (SEQ ID NO: 84)
NAV-H43	H43-F46	TTTGCCATGTCTGGAAATTGCAG (SEQ ID NO: 85)
	H43-R1236	TATTCTAGCACCGTCCATATC (SEQ ID NO: 86)
NAV-H44	H44-F43	GTATGTTTATATGCTCAGGATAC (SEQ ID NO: 87)
	H44-R2931	AACAGCAGCACTATCTTGTA (SEQ ID NO: 88)
	H44-F80	CAGCAGCAACAAATAATACTACTG (SEQ ID NO: 89)

	H44-R929	TGAATATAAACACCTTCTCTCAAAG (SEQ ID NO: 90)
NAV-H45	H45-F52	AAAATGTCATTGGTAACTACTGTAAG (SEQ ID NO: 91)
	H45-R1595	CTTGATAATCTGCCTTTAAACATAC (SEQ ID NO: 92)
NAV-H62	H62-F69	ATGTGAGGAAAAACAGAAAG (SEQ ID NO: 93)
	H62-R866	TCATTACCAGAAAACCATACTC (SEQ ID NO: 94)
NAV-H64	H64-F69	AGGAAATAAAGCTCCTGCTGCTTCAGC (SEQ ID NO: 95)
	H64-R253	GCATAGCAGCAACTTCAGAAGGTCCA (SEQ ID NO: 96)
NAV-H66	H66-F114	CTTATTAATTGGTATAGGAAAACC (SEQ ID NO: 97)
	H66-R200	AATCTATGTTCTTGATTTATTAGCC (SEQ ID NO: 98)
NAV-H69	H69-F546	AGAAGCTACTTTTGGACCTTGGCCTGT (SEQ ID NO: 99)
	H69-R662	ACACAGTCAACACCAAGAGC (SEQ ID NO: 100)
NAV-H71	H71-F568	AAACAGCAGACTAGCTGGTG (SEQ ID NO: 101)
	H71-R773	TGACCATTACTTACACCGGATACCCCA (SEQ ID NO: 102)
	H71-F37	TTAATGACTATATCGCTTTCATACACTTTC (SEQ ID NO: 103)
	H71-R1241	TCAATTCTTCCAGACATAAAATCAGTAAG (SEQ ID NO: 104)
NAV-H73	H73-F37	TATATAGAGTGGGTATCAGAAG (SEQ ID NO: 105)
	H73-R254	TCATAATGGTATTTACAAGATG (SEQ ID NO: 106)

Extracción del plásmido pTrcHis

Los clones *Escherichia coli* clones JM109 que albergan el plásmido pTrcHis
5 plásmido (Invitrogen, Carlsbad, CA) son alineados fuera del almacenamiento
del glicerol Luria-Bertani (LB) dentro de la placas de agar completado con
100 mg / l de ampicilina y encubado a 37 ° C durante 16 horas. Una sola
colonia se utiliza para inocular 10 ml de caldo LB completado con 100 mg / l
de ampicilina, y el caldo de cultivo se incuba a 37 ° C durante 12 horas con
10 agitación. El cultivo nocturno se centrifuga a 5.000 xg durante 10 minutos, y
el plásmido contenido en las células, se obtiene mediante los QIAprep
Miniprep Spin Kit (Qiagen, Doncaster VIC). Las células granuladas son
resuspendidas a 250 µl buffer P1 celular y luego se seccionan con la adición
de 250 lisis µl buffer P2 celular. Las células lisas son neutralizadas con 350
15 de N3 de neutralización µl, y los restos de las células granuladas se
centrifugan 20.000 xg durante 10 minutos. El sobrante se transfiere a una
columna giratoria y se centrifuga a 10.000 xg durante 1 minuto. Después de
descartar el flujo 500 se utiliza el tampón de lavado a la columna y se
centrifuga como el paso anterior. El flujo se descarta y la columna se seca
20 con centrifugación a 20.000 xg durante 3 minutos. El plásmido de ADN es
eluido de la columna con 100 de elución µl EB. El plásmido purificado se
cuantificará mediante un fluorímetro Dynaquant ADN (Hoefer, San Francisco,
CA), y la concentración de ADN se ajusta a 100 µg / ml por dilución con
tampón TE. El plásmido pTrcHis purificado se almacena a -20 ° C.

25

Preparación del Vector

Dos µg del plásmido purificado de pTrcHis es digerido a 37 ° C durante 1-4
horas en un volumen total de 50 µL con 5 U de dos enzimas de restricción
30 en 100 mM de Tris-HCl (pH 7,5), 50 mM NaCl, 10 mM de MgCl₂, 1 mM de
DTT y 100 µg / ml de BSA. El primer par de enzimas para la restricción que
se usan depende de la secuencia de las primeras y de la secuencia ORF. El
objetivo es utilizar cebos que no se extraen de la ORF. El vector restringido
es verificado por electrophoresing 1 µl de la reacción de la digestión a través
35 de un 1% (w / v) de gel de agarosa en buffer TAE 1X a 90 V durante 1 hora.

La electroforesis de DNA se tiñe con bromuro de $1 \mu\text{g} / \text{ml}$ de etidio para que se vea mejor con los rayos ultravioleta (UV).

El vector Linealizado pTrcHis es purificado con ayuda de la Limpieza PCR
5 UltraClean-up Kit (Mo Bio Laboratories, Carlsbad, CA). En resumen, la
reacción de restricción (50 microlitro) se mezcla con el B1 250 μl SpinBind de
amortiguamiento, y el volumen total se agrega a una columna giratoria.
Después de la centrifugación a 8.000 xg durante 1 minuto, el flujo continuo se
descarta y se añaden 300 μl B2 búfer SpinClean a la columna. La columna
10 se centrifuga como antes y el flujo es descartado antes del secado de la
columna a 20.000 xg durante 3 minutos. El vector purificado es eluido de la
columna con 50 μl buffer TE. El Vector lineal purificado se evalúa mediante
un fluorímetro, y la concentración de ADN se ajusta a $50 \mu\text{g} / \text{ml}$ por dilución
con un tampón TE. El vector purificado restringido se almacena a -20°C .

15

Primer diseño de para la preparación insertada:

Los primeros pares están diseñados para ampliar lo máximo posible la región
codificada del gen objetivo utilizando el ADN genómico como punto de
20 partida. Todas las primeras secuencias incluyen sitios de enzima terminal
para permitir la cohesión final como resultado del pTrcHis. Los primeros, se
analizarán con el Amplify 1,2 (Universidad de Wisconsin, Madison, WI) y la
secuencia de ampliación teórica se inserta en la posición adecuada en la
secuencia de vectores pTrcHis. Esta translación deducida de la expresión
25 química, se realiza utilizando la versión del Vector NTI 6 (Informax), a fin
de confirmar que el gen se inserta en el marco de lectura correcto. El Cuadro
3 también proporciona el tamaño del gen, el tamaño de la proteína, la
predicción de peso molecular de la proteína nativa en daltons y el IP predicho
de la proteína. Cabe señalar que la histidina-fusión de la proteína
30 recombinante añade aproximadamente 4 kDa de peso molecular para la
proteína nativa predicha.

35

Cuadro 3

Gen	Tamaño del Gen (bp)	Tamaño de la Proteína (aa)	Proteína nativa MW predictada (Da)	pl predictada
NAV-H40	1815	605	97,733	9.4853
NAV-H41	1068	356	39,870	5.2168
NAV-H44	2940	980	113,722	5.1864
NAV-H62	1014	338	37642	4.3944
NAV-H64	1011	337	36468	4.4953
NAV-H66	264	88	10629	9.3027
NAV-H69	1080	360	41525	5.7123
NAV-H73	258	86	10527	9.5920

5 La amplificación del gen insertado:

Utilizando el ADN genómico, todos los genes insertados se amplifican por el PCR en un volumen total de 100 µ L, usando la polimerasa Taq polimerasa de ADN (Biotech International) y la polimerasa Pfu DNA (Promega, Madison, WI). La mezcla de amplificación consta de 1x de PCR (que contiene 1,5 mM de MgCl₂), 1 U de Taq polimerasa de ADN, 0,01 U Pfu ADN polimerasa, 0,2 mM de cada dNTP (Amersham Pharmacia Biotech), 0,5 µ M de la pareja de imprimación adecuada y 1 µ l de ADN cromosómico purificada. El ADN cromosómico se prepara de la misma *B. hyodysenteriae* utilizado para la secuenciación del genoma. Las condiciones cíclicas implican un paso inicial de desnaturalización de 5 minutos a 94 ° C, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94 ° C durante 30 segundos, hibridación a 50 ° C durante 15 segundos, y primer extension a 68 ° C durante 4 minutos. Los productos de PCR son sometidos a electroforesis en 1% (w / v) de geles de agarosa en tampón TAE 1x, se tiñen con un 1 µ g / ml de solución de bromuro de etidio y de esa manera se podrán apreciar mejor a la luz UV. Después de verificar la presencia y el tamaño correcto del producto PCR, la reacción de PCR se purifica mediante la PCR UltraClean Clean-up Kit (Mo Bio Laboratorios, Carlsbad, CA). La reacción de PCR (100 microlitro) se mezcla con el B1 500 µl SpinBind de amortiguamiento y el volumen total se agrega a una columna

giratoria. Después de la centrifugación a 8.000 xg durante 1 minuto, el flujo continuo se descarta, y 300 µl B2 de búfer SpinClean se añade a la columna. La columna se centrifuga como antes y el flujo es descartado antes del secado de la columna a 20.000 xg durante 3 minutos. El vector purificado es eluido columna con 100 µl buffer TE.

Digestión de la enzima de restricción del gen insertado

Treinta µl de producto PCR purificado es digerido en un volumen total de 50 µl con 1 U de cada enzima de restricción compatible con la restricción terminal de sitio endonucleasa determinado mediante la clonación del primer olinucleótido. La reacción de la restricción contiene 100 mM Tris-HCl (pH 7.5), 50 mM NaCl, 10 mM MgCl₂, 1 mM DTT and 100 µg/ml BSA con 1 U de cada enzima de restricción a 37°C for 1-4 horas. El DNA digerido insertado es purificado mediante el uso de UltraClean PCR Clean-up Kit (ver abajo). EL DNA digerido purificado es cuantificado usando el fluorímetro. La concentración de DNA se ajusta 20 µg/ml con el mediante la dilución con el TE buffer. EL DNA restringido purificado es usado inmediatamente por el vector de ligación.

Ligación del gen insertado en el vector pTrcHis

Las reacciones de ligación son todas realizadas en un volumen total de 20 µl. 100 ng de pTrcHis linearizados se encuban con 20 ng con inserciones restringidas a 16°C por 16 horas in 30 mM Tris-HCl (pH 7.8), 10 mM MgCl₂, 10 mM DTT y 1 mM ATP conteniendo 1 U de T4 DNA (Promega). Una ligación idéntica que contenga DNA no insertado, también se incluye como vector de control negativo de re-circulación. Las enzimas apropiadas son usadas para cada reacción.

Transformación de las ligaciones pTrcHis en células *E. coli*

Las células *E. coli* JM109 (Promega) competentes son descongeladas a -80°C, almacenados en hielo y posteriormente 50 µl de las células son transformadas en tubos microfugados de 1.5 ml de hielo frío que contienen 5 µl de las reacciones de ligación nocturna (equivalentes a 25 ng del vector pTrcHis). Los tubos son mezclados mediante un suave movimiento de la

- punta de cada tubo en la rejilla. Esto se deja en hielo por 30 minutos. Las células son posteriormente golpeadas por el calor metiendo los tubos en un baño de agua 42°C por 45 segundos antes de devolver los tubos al hielo durante 2 minutos. Las células transformadas son recompuestas en 1 ml LB de cultivo por una hora a 37°C mediante una mezcla suave. Las células recompuestas se cultivan a 2,500 x g por 5 minutos. Las células son resuspendidas en 50 µl de LB cultivo fresco. Todo el contenido de 50 µl de células recompuestas se esparce incluso dentro del plato agar LB que contiene 100 mg/l de ampicilina, usando un vidrio esterilizado cultivo. Los platos son incubados a 37°C por 16 horas.

La detección de pTrcHis recombinante en construcciones de E. coli por el PCR

- 15 Doce colonias transformantes únicas para cada construcción son alineadas en LB frescos con 100 mg / l de ampicilina. Estos últimos deben ser incubados a 37 ° C durante 16 horas. Una sola colonia de cada evento de transformación se resuspende en 50 µ l de TE y se hierve durante 1 minuto. Dos µ l de agua de células hervidas se utilizan como plantilla para la PCR. La
- 20 mezcla de amplificación consta de 1x tampón PCR (que contiene 1,5 mM de MgCl₂), 1 U de Taq ADN polimerasa, 0,2 mM de cada dNTP, 0,5 µ M de la pTrcHis de primeros F (5' - CAATTTATCAGACAATCTGTGTG-3 ', SEQ ID NO: 107) y 0,5 µ M de la pTrcHis imprimador R (5'- TGCCTGGCAGTTCCTACTCTCG-3 ', SEQ ID NO: 108). Las condiciones
- 25 cíclicas implican un paso inicial de desnaturalización de 5 minutos a 94 ° C, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94 ° C durante 30 segundos, hibridación a 60 ° C durante 15 segundos, y una extensión de imprimación a 72 ° C durante 1 minuto . Los productos PCR son sometidos a electroforesis en 1% (w / v) de geles de agarosa en tampón TAE 1x, se tiñen con un 1 µ g /
- 30 ml de solución de bromuro de etidio y se ven más de la luz UV. La clonación de los insertos en los distintos vectores de expresión recombinante produce construcciones de pTrcHis de diferentes tamaños.

Expresión piloto de proteínas recombinantes His-agregadas

De cinco a diez colonias aisladas de pTrcHis recombinante construidas en E. coli JM109 se inoculan LB 3 ml de caldo en un tubo de 5 ml con 100 mg / l de ampicilina y 1 mM IPTG. Se incuba a 37 ° C durante 16 horas con agitación. Las células se cultivan por centrifugación a 5.000 xg durante 10 minutos a 4 ° C. El sobrenadante se desecha, y cada pastilla se resuspende con 10 µl de Ni-NTA desnaturalización tampón de lisis (100 mM NaH₂PO₄, 10 mM Tris-HCl, urea 8 M, pH 8,0). Después de la agitación del tubo durante 1 minuto, los restos celulares son granulados por centrifugación a 10.000 xg durante 10 minutos a 4 ° C. El sobrenadante se transfiere a un tubo nuevo y se almacenan a -20 ° C hasta su análisis.

Electroforesis del gel poliacrilamida de Sulfato dodecil de sodio (SDS-PAGE)

El análisis SDS-PAGE de la proteína se realiza mediante un sistema discontinuo Tris buffer de glicina. Treinta µl de la muestra de proteínas se mezclan con 10 µl de 4x para el tratamiento de la muestra (250 mM Tris-HCl (pH 6,0), 8% (w / v) SDS, 200 mM DTT, 40% (v / v) de glicerol y de 0,04% (w / v) de azul de bromofenol). Las muestras se hierven durante 5 minutos inmediatamente anteriores a la carga 10 µl de la muestra en los pocillos del gel. El gel consta de un gel de apilamiento (125 mM Tris-HCl pH 6,8, 4% w / v acylamide, 0,15% w / v bis-acrilamida y 0,1% w / v SDS) y un gel de separación (375 mM Tris-HCl pH 8,8, 12% w / acylamide V, 0,31% w / v bis-acrilamida y 0,1% w / v SDS). Estos geles son polimerizados por la adición de 0,1% (v / v) y TEMED 0,05% (w / v) recién preparada una solución de sulfato de amonio y adicionado a las células de doble placa mini-proteica (Bio-Rad, Hercules, California). Las muestras se ejecutan a 150 V a temperatura ambiente (RT) hasta que el colorante azul de bromofenol alcanza el fondo del gel. Los estándares de peso de pre-teñido molecular son sometidos al proceso de electroforesis paralelamente con las muestras, a fin de permitir las estimaciones del peso molecular. Inmediatamente después de la electroforesis, el gel se tiñe con Coomassie G250 (Bio-Rad) azul brillante o es sometido a una electro-transferencia en la membrana de nitrocelulosa para el borrado Western.

Análisis de Western blot

La transferencia de electroforéticos de proteínas separadas desde el gel de SDS-PAGE para la membrana de nitrocelulosa se realiza mediante la
5 transferencia del sistema Towbin. Después de la electroforesis, el gel se equilibra en tampón de transferencia (25 mM Tris, 192 mM glicina, 20% v / v de metanol, pH 8,3) durante 15 minutos. Las proteínas en el gel son electro-transferidas a membranas de nitrocelulosa (PROTRAN, Schleicher y Schuell BioScience, Inc., Keene, NH), utilizando el mini-aparato proteico transblot
10 (Bio-Rad) a 30 V durante la noche a 4 ° C. La membrana de nitrocelulosa recién transferida que contiene las proteínas separadas se bloquea con 10 ml de solución salina tamponada de Tris (TBS) con 5% (w / v) de leche desnatada en polvo durante 1 hora a temperatura ambiente. La membrana se lava con TBS el cual contiene 0,1% (v / v) de Tween 20 (TBST) y luego se
15 incuba con 10 ml de anticuerpo anti- his de ratón (diluidos 5.000 veces, con TBST) durante 1 hora a temperatura ambiente. Tras lavar tres veces durante 5 minutos con TBST, la membrana se incuba con 10 ml de anti- mouse IgG de cabra (molécula completa)-AP diluidos 5.000 veces en TBST durante 1 hora a temperatura ambiente. La membrana se desarrolla utilizando el
20 sustrato de fosfatasa alcalina Kit (Bio-Rad). La reacción de desarrollo es detenida por el lavado de la membrana con agua destilada. La membrana se seca y se analizan en busca de presentación.

Verificación de la lectura del marco pTrcHis recombinante construido 25 mediante el análisis de secuencia directa

Dos clones transformantes para cada construcción que producen la medida correcta PCR se inoculan en 10 ml de caldo de LB con 100 mg / l de ampicilina y se incuban a 37 ° C durante 12 horas con agitación. Los cultivos
30 nocturnos se centrifugan a 5.000 xg durante 10 minutos, y el plásmido que figuran en las células se extraen utilizando el QIAprep Miniprep Spin Kit como se describió anteriormente. El plásmido purificado se cuantificará mediante un fluorímetro. Ambos plásmidos purificados son sometidos a secuenciación directa automática de lapTrcHis utilizando el pTrcHis-F y pTrcHis primers R.
35 Cada reacción de secuenciación se lleva a cabo en un volumen de 10 l μ compuesta de 200 ng de ADN plásmido, 2 pmol de cebador, y 4 μ l de la ABI PRISM TM BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Mix (PE

Applied Biosystems, Foster City, CA). Las condiciones cíclicas requieren de 2 minutos de desnaturalización a 96 ° C, seguido de 25 ciclos de desnaturalización a 96 ° C durante 10 segundos, y un primer combinado más un paso de extensión a 60 ° C durante 4 minutos. Los residuos finales de tinta se eliminan de los productos de secuenciación por precipitación con un 95% (v / v) de etanol que contienen acetato de sodio 85 mM (pH 5,2), 3 mM de EDTA (pH 8), y se secan al vacío. Los plásmidos se ordenan por duplicado utilizando cada primer. Los productos de secuencia se analizan utilizando un secuenciador de ADN ABI 373A (PE Applied Biosystems). La secuenciación de nucleótidos de la pTrcHis se realiza para verificar que la expresión está en el marco de lectura correcto para cada una de las construcciones.

Expresión y purificación del marcado-His recombinante

Una colonia sola del pTrcHis recombinante es construida en células E. coli JM109. Se inocula en 50 ml de caldo de LB en un matraz cónico de 250 ml con 100 mg / l de ampicilina y se incuba a 37 ° C durante 16 horas con agitación. En un erlenmeyer de 2 litros con 1 l de caldo de LB lleno con 100 mg / l de ampicilina se inocula con 10 ml del cultivo durante la noche y se incuba a 37 ° C, hasta que la densidad óptica de las células a 600 nm sea de 0,5 (aproximadamente 3-4 horas). El cultivo es inducido gracias a la adición de IPTG a una concentración final de 1 mM, y las células se devuelven a 37 ° C con agitación. Después de 5 horas de inducción, el cultivo se transfiere a botellas de 250 ml de centrifugación. Estas botellas se centrifugan a 5.000 xg durante 20 minutos a 4 ° C. El sobrenadante se desecha, y cada pastilla se desnaturaliza con 8 ml Ni-NTA de lisis (100 mM NaH₂PO₄, 10 mM Tris-HCl, urea 8 M, pH 8,0). Las células resuspendidas se almacenan a -20 ° C durante la noche.

La suspensión celular se retira del almacenamiento a -20 ° C para ser descongeladas en hielo. Entonces, el lisado de células se realiza sobre hielo 3 veces durante 30 segundos y 1 minuto de incubación en hielo entre las rondas de sonicación. La lisis de las células se retira por centrifugación a 20.000 xg durante 10 minutos a 4 ° C, y el sobrenadante se transfiere a una columna de 15 ml que contiene una cuneta de 0,5 ml de volumen de resina

agarosa Ni-NTA (Qiagen). La proteína His6 recombinante puede ahora unirse a la resina durante 1 hora a 4 ° C extremo a extremo de la mezcla. La resina se lava con 30 ml de Ni-NTA de lavado de desnaturalización (100 mM NaH₂PO₄, 10 mM Tris-HCl, urea 8 M, pH 6,3) antes de elución con 12 ml de Ni-NTA elución desnaturalización (100 mM NaH₂PO₄, 10 mM Tris-HCl, urea 8 M, pH 4,5). Cuatro fracciones de 3 ml del eluido se recogen y se almacenan a 4 ° C. Treinta µl de cada eluido se trata con 10 µl de 4x tratamiento de la muestra y se hierve durante 5 minutos. Las muestras son sometidas a SDS-PAGE y se tiñen con Coomassie G250 (Bio-Rad) azul brillante. El gel teñido se equilibra en agua destilada durante 1 hora y se seca entre dos láminas de celulosa durante la noche a temperatura ambiente. La expresión de los clones recombinantes seleccionados E. coli se realiza en un medio de escala para generar proteínas recombinantes suficiente para la vacunación de ratones (véase más abajo).

15

Diálisis y liofilización de la proteína recombinante His-marcada.

Las proteínas se agrupan y se eluyen y se transfieren a un tubo de diálisis hidratado (Spectrum Laboratories, Inc., Los Angeles, CA) con un corte de peso (MWCO) de 3.500 Da. Una parte de 200 µL del eluido combinados se toma y se cuantifica mediante un ensayo comercial de proteínas (Bio-Rad). Las proteínas son dializadas frente a 2 l de agua destilada a 4 ° C con agitación. El buffer de diálisis se cambia 8 veces en intervalos de 12 horas. Las proteínas de diálisis se transfieren desde el tubo de diálisis en un tubo de centrifugación de 50 ml (40 ml de volumen máximo) y se colocan -80 ° C durante la noche. Los tubos se colocan en una congelación MAXI-secadora (HETO-Holten, Allerød, Dinamarca), se liofilizan y se secan. Las proteínas son entonces liofilizadas rehidratadas con PBS hasta una concentración calculada de 2 mg / ml y almacenadas a -20 ° C. Después de la diálisis y liofilización, antígeno recombinante estable, es producido con éxito. Ocho de los genes de dieciocho años tienen clonado con éxito en la expresión de E. coli del sistema y de la proteína recombinante puede ser expresado establemente de estos clones.

35

Serología usando proteína recombinante purificada

Veinte mg de proteína recombinante purificada se carga en un 7 cm IEF bien, a través de electroforesis un 10% (w / v) de gel de SDS-PAGE, y son electro-transferidas a las membranas de nitrocelulosa. La membrana se bloquea con leche-TBS descremada (5% w / v) y se ensamblan en un aparato multi-
5 pantalla (Bio-Rad). Los pozos se incuban con 100 μ l de suero de cerdo diluido (100 veces) durante 1 hora a temperatura ambiente. El suero de cerdo se obtiene de cerdos de alto estatus de salud (n = 3), cerdos con SD (n = 5), clínicos, cerdos seroconverting infectados naturalmente (n = 5), y cerdos recuperados de una infección natural (n = 4). La membrana luego se quita
10 del aparato y se lava tres veces con TBST (0,1% v / v) antes de la incubación con 10 ml de cabra anti-IgG porcina (molécula completa)-AP (5.000 veces) durante 1 hora a temperatura ambiente. La membrana se lava tres veces con TBST antes de que se desarrolle el color utilizando sustrato de fosfatasa alcalina Kit (Bio-Rad). La membrana se lava con agua suficiente cuando el
15 desarrollo se haya producido, se seca y se escanea para su presentación. La reactividad del suero de cerdos obtenidos de animales en diferentes estados de salud se muestra en la tabla de abajo. Todas las proteínas son reconocidas por el 100% del grupo de suero lo que indica que los genes se expresan en vivo y que son capaces de inducir una respuesta inmune
20 sistémica tras la exposición a la espiroqueta.

Tabla 4. La distribución de genes y la reactividad serológica de los ocho expresada con éxito vacunas *B. hyodysenteriae*.
La distribución de genes por PCR se analizó utilizando un panel de 23 cepas
25 diferentes. La serología se realizó con 19 muestras de suero de cinco categorías diferentes de la enfermedad.

Gen	Distribución (%)	Serologia (%)
NAV-H40	100	100%
NAV-H41	83	100%
NAV-H44	100	100%
NAV-H62	96	100%
NAV-H64	91	100%
NAV-H66	96	100%
NAV-H69	91	100%
NAV-H73	87	100%

La vacunación de ratones utilizando proteínas recombinantes purificadas His-marcadas.

- Por cada una de las proteínas recombinantes purificadas su-puso proteínas,
- 5 diez ratones son inmunizados por vía oral y sistémica, para determinar si la proteína recombinante sería inmunogénica. La proteína recombinante se emulsiona con el 30% (v / v) de agua en adyuvante oleoso y se inyecta por vía intramuscular en el músculo cuádriceps de diez ratones (Balb / CJ: 5 semanas de edad los varones). Todos los ratones reciben 100 mg de
- 10 proteínas en un volumen total de 100 microlitros. Tres semanas después de la primera vacunación, todos los ratones, reciben segunda vacuna idéntica de la primera vacunación por vía intramuscular. Todos los ratones se matan a las dos semanas después de la segunda vacunación. Los sueros se obtienen a partir del corazón post-mortem y probados en el análisis de
- 15 Western blot para detectar anticuerpos contra los extractos celulares de *B. hyodysenteriae*.

Análisis de Western blot

- 20 Veinte mg de proteína recombinante purificada se carga en un 7 cm IEF bien, a través de electroforesis un 10% (w / v) de gel de SDS-PAGE, y electro-transferidas a membranas de nitrocelulosa. La membrana se bloquea con leche-TBS descremada (5% w / v) y ensamblados en el aparato multi-pantalla (Bio-Rad). Los pozos se incuban con 100 μ l de suero de ratón
- 25 diluido (100 veces) durante 1 hora a temperatura ambiente. La membrana se quita del aparato y se lava tres veces con TBST (0,1% v / v) antes de la incubación con 10 ml de cabra anti-IgG de ratón (molécula completa)-AP (5.000 veces) durante 1 hora a temperatura ambiente. La membrana se lava tres veces con TBST desarrollando el color antes de utilizar un sustrato de
- 30 fosfatasa alcalina Kit (Bio-Rad). La membrana se lava con agua suficiente y cuando el desarrollo se ha producido, se seca y se escanea para su presentación.

- El análisis de Western blot muestra un aumento significativo en la reactividad
- 35 de anticuerpos en los ratones a los antígenos de la vacuna recombinante tras la vacunación. Todos los ratones reconocen proteínas recombinantes, que son similares en peso molecular a la Coomassie azul manchada de las

proteínas recombinantes purificadas. Estos experimentos proporcionan evidencia de que las proteínas recombinantes son inmunogénicas cuando se usan para vacunar a los ratones y que el protocolo de vacunación empleado puede inducir títulos de anticuerpos circulantes específicos frente al antígeno.

- 5 Los resultados indican que las proteínas recombinantes pueden ser útiles en una vacuna eficaz para la especie animal de ser colonizada por *B. hyodysenteriae*.

10 La vacunación de los cerdos con proteínas His- marcadas recombinantes purificadas.

- 15 Por cada una de las proteínas His-marcadas recombinantes purificadas, se inyectan diez cerdos sero-negativos por vía intramuscular con 1 mg de antígeno en particular en el volumen 1 ml de vacuna. El antígeno se emulsiona con un volumen igual de agua en adyuvante oleoso. Los cerdos fueron vacunados en tres semanas de edad y de nuevo a las seis semanas de edad. Un segundo grupo de diez cerdos sero-negativo se utilizaron como controles negativos y se quedan sin vacunar. Todos los cerdos son ensayados con 100 ml de una cultivo activo *B. hyodysenteriae* (~ 10⁹ células / ml) a las ocho semanas de edad. Los cerdos se observan para señales clínicas de disentería porcina, durante el experimento (hasta el puesto de seis semanas-de ensayo) y en el examen post-mortem.

25 Kit de diagnóstico:

- 30 El suero se obtiene de cerdos en pocilga con infección conocida de *B. hyodysenteriae*, de cerdos de los que se sabe que no han sido infectados con *B. hyodysenteriae* y de cerdos en pocilga con un infección desconocida de *B. hyodysenteriae*. Veinte mg de proteína recombinante purificada se carga bien en un 7 cm IEF, a través de electroforesis con un 10% (w / v) de gel de SDS-PAGE, y son -transferidas a membranas de nitrocelulosa. La membrana se bloquea con leche-TBS-leche descremada (5% w / v) y ensamblados en el aparato multi-pantalla (Bio-Rad). Los pozos se incuban con 100 µl de suero de cerdo diluido (100 veces) durante 1 hora a temperatura ambiente. La membrana luego se quita el aparato y se lava tres veces con TBST (0,1% v / v) antes de la incubación con 10 ml de cabra anti-IgG porcina (molécula completa)-AP (5.000 veces) durante 1 hora a

temperatura ambiente. La membrana se lava tres veces con TBST antes de que se desarrolle el color utilizando sustrato de fosfatasa alcalina Kit (Bio-Rad). La membrana se lava con agua suficiente para el desarrollo cuando se ha producido, se seca y escaneado para su presentación. Uno puede
5 determinar si los cerdos están infectados con *B. hyodysenteriae* comparando los resultados con el control positivo y negativo.

Aunque esta invención ha sido descrita con referencia a las modalidades específicas, será obvio para aquellos con competencias normales en la
10 materia que las variaciones en estos métodos y composiciones pueden ser utilizados y que está previsto que la invención puede ser practicada de otra manera que como específicamente aquí se describen. En consecuencia, esta invención incluye todas las modificaciones comprendidas dentro del espíritu y el alcance de la invención tal como se define en las reivindicaciones.

15 Aunque esta invención ha sido descrita con referencia a las modalidades específicas, será obvio para aquellos con competencias normales en la materia, que las variaciones en estos métodos y composiciones pueden ser utilizadas y practicadas de otra manera como específicamente aquí se
20 describen. En consecuencia, esta invención incluye todas las modificaciones comprendidas dentro del espíritu y el alcance de la invención tal como se define en las reivindicaciones.

25

30

35

REIVINDICACIONES

- Reivindicación 1. Un polinucleotido que comprende la secuencia seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 21, 19, 17, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, y 65.
- Reivindicación 2. Un plásmido que comprende el polinucleotido de la reivindicación 1.
- Reivindicación 3. El plásmido de la reivindicación 2 en donde dicho plásmido es un vector de expresión.
- Reivindicación 4. Una célula que contiene el plásmido de la reivindicación 2.
- Reivindicación 5. Una célula que contiene el plásmido de la reivindicación 3.
- Reivindicación 6. Una composición inmunogénica que comprende el plásmido de la reivindicación 3.
- Reivindicación 7. Una composición vacuna para el tratamiento o prevención de *Brachyspira hyodysenteriae* que comprende el vector de expresión de la reivindicación 3.
- Reivindicación 8. Una composición vacuna para el tratamiento o prevención de *Brachyspira hyodysenteriae* que comprende la célula de la reivindicación 4.
- Reivindicación 9. Una molécula de ADN que comprende una secuencia que es al menos 70% idéntica a la del polinucleotido de la reivindicación 1.
- Reivindicación 10. Un plásmido que comprende el polinucleotido de la reivindicación 9.
- Reivindicación 11. La molécula de ADN de la reivindicación 9 en donde dicha molécula de ADN es al menos 80% idéntica a la del polinucleotido de la reivindicación 1.
- Reivindicación 12. Un plásmido que comprende el polinucleotido de la reivindicación 11.
- Reivindicación 13. La molécula de ADN de la reivindicación 9 en donde dicha molécula de ADN es al menos 90% idéntica a la del polinucleotido de la reivindicación 1.
- Reivindicación 14. Un plásmido que comprende el polinucleotido de la reivindicación 13.
- Reivindicación 15. Un polipeptido que comprende la secuencia seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NOs: 22, 20, 18, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, y 66.
- Reivindicación 16. Un polinucleotido que comprende una secuencia que codifica el polipeptido de la reivindicación 15.
- Reivindicación 17. Un plásmido que comprende el polinucleotido de la reivindicación 16.

Reivindicación 18. El plasmido de la reivindicación 17 en donde dicho plasmido es un vector de expresión.

Reivindicación 19. Una célula que contiene el plasmido de la reivindicación 17.

5 Reivindicación 20. Una composición inmunogénica que comprende el plasmido de la reivindicación 19.

Reivindicación 21. Una proteína que comprende la secuencia que es al menos 70% homologa a la del polipéptido de la reivindicación 15.

Reivindicación 22. La proteína de la reivindicación 21 en donde dicha proteína es al menos 80% homologa a la del polipéptido de la reivindicación 15.

10 Reivindicación 23. La proteína de la reivindicación 22 en donde dicha proteína es al menos 90% homologa a la del polipéptido de la reivindicación 15.

Reivindicación 24. Una composición inmunogénica que comprende la proteína de la reivindicación 23.

15 Reivindicación 25. Una composición inmunogénica que comprende el polipéptido de la reivindicación 15.

Reivindicación 26. Una composición de vacuna para el tratamiento o prevención de *Brachyspira hyodysenteriae* que comprende el polipéptido de la reivindicación 15.

20 Reivindicación 27. Un anticuerpo monoclonal que se une al polipeptido de la reivindicación 15.

Reivindicación 28. Un kit para el diagnostico de la presencia de *Brachyspira hyodysenteriae* en un animal, dicho kit comprende el anticuerpo monoclonal de la reivindicación 27.

25 Reivindicación 29. Un kit para el diagnostico de la presencia de *Brachyspira hyodysenteriae* en un animal, dicho kit comprende el polipeptido de la reivindicación 15.

Reivindicación 30. Un kit para el diagnostico de la presencia de *Brachyspira hyodysenteriae* en un animal, dicho kit comprende los polinucleótidos de la reivindicación 1.

30 Reivindicación 31. Un método para generar una respuesta inmune a la *Brachyspira hyodysenteriae* en un animal que comprende la administración a dicho animal de la composición inmunogénica de la reivindicación 24.

35 Reivindicación 32. Un método para generar una respuesta inmune a la *Brachyspira hyodysenteriae* en un animal que comprende la administración a dicho animal de la composición inmunogénica de la reivindicación 25.

Reivindicación 33. Un método para generar una respuesta inmune a la *Brachyspira hyodysenteriae* en un animal que comprende la administración a dicho animal de la composición inmunogénica de la reivindicación 6.

Reivindicación 34. Un método para generar una respuesta inmune a la *Brachyspira hyodysenteriae* en un animal que comprende la administración a dicho animal de la composición inmunogénica de la reivindicación 20.

5 Reivindicación 35. Un método para tratar o prevenir una enfermedad causada por la *Brachyspira hyodysenteriae* en un animal en necesidad de dicho tratamiento que comprende la administración a dicho animal de una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición vacuna de la reivindicación 7.

10 Reivindicación 36. Un método para tratar o prevenir una enfermedad causada por la *Brachyspira hyodysenteriae* en un animal en necesidad de dicho tratamiento que comprende la administración a dicho animal de una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición vacuna de la reivindicación 8.

15 Reivindicación 37. Un método para tratar o prevenir una enfermedad causada por la *Brachyspira hyodysenteriae* en un animal en necesidad de dicho tratamiento que comprende la administración a dicho animal de una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición vacuna de la reivindicación 26.

Reivindicación 38. Uso de la proteína de la reivindicación 23 para la preparación de un medicamento para generar una respuesta inmune a la *Brachyspira hyodysenteriae* en un animal.

20 Reivindicación 39. Uso de la proteína de la reivindicación 15 para la preparación de un medicamento para generar una respuesta inmune a la *Brachyspira hyodysenteriae* en un animal.

Reivindicación 40. Uso del plasmido de la reivindicación 3 para la preparación de un medicamento para generar una respuesta inmune a la *Brachyspira hyodysenteriae* en un animal.

25 Reivindicación 41. Uso de la célula de la reivindicación 19 para la preparación de un medicamento para generar una respuesta inmune a la *Brachyspira hyodysenteriae* en un animal.

30 Reivindicación 42. Uso del vector de expresión de la reivindicación 3 para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad causada por *Brachyspira hyodysenteriae* en un animal en necesidad de dicho tratamiento.

Reivindicación 43. Uso de la célula de la reivindicación 4 para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad causada por *Brachyspira hyodysenteriae* en un animal en necesidad de dicho tratamiento.

35 Reivindicación 44. Uso del polipeptido de la reivindicación 15 para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad causada por *Brachyspira hyodysenteriae* en un animal en necesidad de dicho tratamiento.

LISTA DE SECUENCIAS

- <110> Novartis AG

Murdoch University

5 David Hampson

Tom La

Matthew Bellgard
- <120> Nuevos Genes y proteínas de Brachyspira

10 hyodysenteriae y sus consecuentes usos.
- <130> 50346
- <160> 108

15
- <170> FastSEQ para version Windows 4.0
- <210> 1

<211> 600

20 <212> DNA

<213> Brachyspira hyodysenteriae
- <400> 1

atgggtatta gtttagatcc tcaaatcaga tactatacag gaatagattt gctcaatcaa 60

25 gtaagattaa tagttaaata tggtatgaat caaactaaaa ctgcatcaga aacatataca 120

gcttcttctt ttggttttga tticagatta tatttcggag ctatgggttg aaatgttact 180

cttaatcctt tcatcaaagt aacttatgat acttctttag gtgctaaagg taaatctact 240

ggaagttatg aagtattatc agacagtgtt gttattccta caacaactgc agctgattta 300

cttgatagag aaacttatac ttatctata ctctctactt tagctttaga ggcaagcagt 360

30 gatgtagttt ctctttattt agagcctgga ttaggttatt ctatttatga tgatggtaga 420

aaaggttcta aacttaatca ttctttagct tggtcagctt atgcagaact ttatattact 480

cctgttgaag atttagaatg gtattttgag atggatgtaa ataatgaggg aggagttcct 540

attagctttg catctactac aggtattact tggacttgc ctctttcgg agcagcagag 600

35
- <210> 2

<211> 200

<212> PRT
<213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 2

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

<210> 3
<211> 717
35 <212> DNA
<213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 3
atgaaactac aaataggaat ttaactata gtaaatttaa tagcatttat accactatta 60
tatatgttg atatattgg tgttgtaat tattatactt taatgcgtaa taaaatagca 120
cctaattgtac cgggttttt aacaagattc actcaaaaac ctagagtaga agatatgact 180
5 ctttggcta gagaagatct taataaaatg agagaatcat tcaatttaag agaaaaagat 240
ttgcaggctc aggaatcttt aatagcaagc agagcaatag aattgaacac tcaatctgaa 300
ttgatagaac aagacagaca aaatctttta aatgcttggc ctaattatca agctactatg 360
gatgaatctt ctcatgtatca attagtatta actgaccttg ctaataaaaat caatagtatg 420
cctcctcaaa gctctgtggc attacttaat cagttagctg ctaatgggtc tgatgactta 480
10 atcatagatg tattattaga aatggactct atagctgctg ctgaaggaag aaacagtact 540
acttcttacc ttttaagctt aatggatccg aatgttgctg ctagaatatt agaaaaatat 600
gaagcaagat ctaatcctgg aaataataca gtaccttctt cacctaataa cttcccta 660
tatatgctg ataataatga cgctatgtta aatgaaggca taatggatat gggagca 717

15 <210> 4
<211> 239
<212> PRT
<213> Brachyspira hyodysenteriae

20 <400> 4
Met Lys Leu Gln Ile Gly Ile Leu Thr Ile Val Asn Leu Ile Ala Phe
1 5 10 15
Ile Pro Leu Leu Tyr Met Phe Asp Ile Phe Gly Val Val Asn Tyr Tyr
20 25 30
25 Thr Leu Met Arg Asn Lys Ile Ala Pro Asn Val Pro Gly Phe Leu Thr
35 40 45
Arg Phe Thr Gln Lys Pro Arg Val Glu Asp Met Thr Leu Leu Ala Arg
50 55 60
Glu Asp Leu Asn Lys Met Arg Glu Ser Phe Asn Leu Arg Glu Lys Asp
30 65 70 75 80
Leu Gln Ala Gln Glu Ser Leu Ile Ala Ser Arg Ala Ile Glu Leu Asn
85 90 95
Thr Gln Ser Glu Leu Ile Glu Gln Asp Arg Gln Asn Leu Leu Asn Ala
100 105 110
35 Trp Ser Asn Tyr Gln Ala Thr Met Asp Glu Ser Ser Gln Tyr Gln Leu
115 120 125
Val Leu Thr Asp Leu Ala Asn Lys Ile Asn Ser Met Pro Pro Gln Ser

130 135 140
 Ser Val Ala Leu Leu Asn Gln Leu Ala Ala Asn Gly Ser Asp Asp Leu
 145 150 155 160
 Ile Ile Asp Val Leu Leu Glu Met Asp Ser Ile Ala Ala Ala Glu Gly
 5 165 170 175
 Arg Asn Ser Thr Thr Ser Tyr Leu Leu Ser Leu Met Asp Pro Asn Val
 180 185 190
 Ala Ala Arg Ile Leu Glu Lys Tyr Glu Ala Arg Ser Asn Pro Gly Asn
 195 200 205
 10 Asn Thr Val Pro Ser Ser Pro Asn Asp Phe Pro Asn Tyr Met Pro Asp
 210 215 220
 Asn Asn Asp Ala Met Leu Asn Glu Gly Ile Met Asp Met Gly Ala
 225 230 235

 15
 <210> 5
 <211> 4671
 <212> DNA
 <213> *Brachyspira hyodysenteriae*
 20
 <400> 5
 atgtcagatg ttgatgtatt gtaaaagat gaagttaaag ctctatcaag cagattatca 60
 gattttgaag agagaataaa agatgatata gtaagagatt tagatgaata ttctatagaa 120
 ttaaataatc ttactgataa ttagtgaaaa ttaaattcaa gaatagatga tgttaaata 180
 25 caatagaag atagcattaa taaatcttct gaattggaaa ctcttatttc tagtgaaaaa 240
 gaagaattag ataataaact atctactatt aaggatgagt tagtatctaa gtctgaaaat 300
 gatgatacta tagagaaatt attcactcaa gaaaagaaa aattaaatga acttttcaat 360
 caaataaaag atgataataa agagttcaga tatagattag agaaacgtgt tgcttatttt 420
 gaggacactt ggtcagacag cagcagattg aaaaatattt tctcaactga tataagagaa 480
 30 caattggata atatcagaaa tgataatgag attaaatttg aaaattctat aaattatttg 540
 aaagataaag tagaatctat agataatgat atatctaatt ggaaagaaaa cactgttgat 600
 gaattagtta aacaattagg tgaagctaga gaaagcatat ctaattattt gaatgattca 660
 gagataaaag gaaaagaatt agtagataat cttttatcta aaatagatga aaaagaaaat 720
 agcatgtatc agactttaga agataaagag aagaacatgt atcaaacttt agatgataaa 780
 35 gaaaagagta tgtatcaaac tctagatgat agagcaagaa acatgtataa atctttagat 840
 gaaaagaaa agtctatata tgaaatctta gataataaag tacaggaaat agaaagcaga 900
 ttatctctta ttgattctaa attgaatgat gatataactt ctaacttaga aaatctatat 960

gatatgctaa atgaagcagt agctaaatat gatgaagaga taaaaaatat tgagcattat 1020
 agattagatg agaataataa gattttagat gatattgata atgtaggaaa agaaataaga 1080
 tcttcttatg aaaattattc taagcttata gaagagggtt ataataattc tcttaattca 1140
 ttaaaagatt attctaattc tattaagat gagatagaaa aatcaagaga agaaacagaa 1200
 5 gaaagacact tgtctagtga gagagaatat attgatgagt atttgaaagg atattcagaa 1260
 aaattagaat ctcaagtatc tgataagata aatatattga atgatgctaa aactgattta 1320
 gataatatgt taaaatcttc tttgatgat ttagaagcaa gatttaatga atctatgact 1380
 aagtttgaag aatcttcaaa taacagagta ttcaaaactt tacaagatat agagaaaaaa 1440
 gctgatgatg taatttatgg aaacaattat atctacaaga tagaagataa agtaaaagac 1500
 10 ttctatggta aaatagatac taaactactt cattttgctg atagatatga tacttttagag 1560
 aaaaagatat atgatttga gagcaatcaa aattatatat tcagactcga agataaaatt 1620
 agagatttga atgaaaagct agatgataga ataacaaatg ttaatgaaag atatgataat 1680
 ttaagaaaat cttttgatga taaatttgtt catatagaaa gtgctgtatt gaataatgag 1740
 caagttcaga aattgagaga tgatttcatt atttcaaag atgatgtatt gaaagctaat 1800
 15 agagataata taccagagct attcaataaa gaaaaagaaa aatttgaaga gttatttaat 1860
 tcgttcgcta atgatataat atctaaatta gatacttcta atgctaatat agaagagttc 1920
 aaaaatacta tgtatgatga aaagaattct atattagaaa atatggaatc atttagatat 1980
 gagttagatg aattaaagaa caatgattct attgaagctt tagaagctga gaaagctaga 2040
 ttagaagata cttcaattc ttccagagaa gaatttgaag gactttatga tttggaaagt 2100
 20 gaagtttata atttgaaaag taatttagat ggtgttgatt ctaatttaag aagcgtatgt 2160
 gataaattat ttgatgaagt ttctgagttt aaatatgctt tagaagaaaa aatagatat 2220
 ttagaagata atacagtttc tagagattta tttgatgatg acagagaaaa attatattct 2280
 ttatatgatg aactgaagc aggaataaaa gactttaag atttaattga taagagaata 2340
 agttattttg aagatacttg gtctgactct aataaggctt taaaacttta tgaaaatgct 2400
 25 ttaacacctg aagtagataa ttgaaatct gaaatacttt ctaatgtaaa agatcaagta 2460
 aatgaaatag aaaagaactt atctgtttgg aaagatgata attgtctct tcttttagag 2520
 caattaaaag aggctaaaga aaatatcgat aactttatag aaagttctaa agacaagaag 2580
 aatggtatta ttgcaaaaat gatattctct ataaaagagg aaatattagg caaagaaagt 2640
 gagataaata ctgctctga agaaaaactt tcttctgtta atgaaagaat tgctgattta 2700
 30 gaaaatagat taacttctga tgtagcaga ttaataata tgatatctga agcagttgat 2760
 aaatatgaag atgagcttaa gaatatagaa tcttatagat tagaagaaaa tgaatctata 2820
 atgagaaatt tggaagatat tggaagaaat ataattcaa attatgataa ttattctaaa 2880
 atgctagatt ctgtttatga gaataataaa aatgctttag atgagtattc aaacagctta 2940
 agaatagaaa tagaaaaagc tagagttgat actaataaag gttatataga tgaatatttg 3000
 35 agtgaatatt ctctaaagt agaggctgat ataaaagaaa gactagaaga gcttgagaaa 3060
 aataaatata atttagatgt tatgataaat gattcattta ataattgaa tcaaagtatt 3120
 aataatgcag tatctaaaat gatagaagat tctgattcta aattaagaga tgttatagat 3180

aattagaag ttcagataaa tgatcttata gctaataaag aagaagaaat agttagcaga 3240
 atatcagctt atgaaacaga tctaaaaaat gaacagtatt cttcacttga agatattaaa 3300
 aatgagttat taggtcttta taatgagttt aaagagaatg ttaattatga taattgaaa 3360
 gatatactg aaaaattaga tagtatagaa acttcattgt tagaagttaa tactcaatta 3420
 5 gaaaataaag ctaaagatat ttctgataga atagatttag aaaaagaaga attatatgct 3480
 tctgttaata aattgtcttc agaatttgaa gatttcaaat caaatataga tgacagattc 3540
 aaaactcaag taagcgattt tgtatctaata aatgagcata tattatcact ctttggtgaa 3600
 tatagtgaga aaatttcttc tgtaactaat atattggaag acatagaaaa tgtaaagta 3660
 tctttaattg aagaaataaa taaagtaaaa gaagaaatag ataataaata ttaagtctt 3720
 10 actaaagatt tgataaatc aatagatgat ataaaagatg ctgtattaga taagaataat 3780
 atacttcaat attatataaa tgaaaaagaa ttgttatgga aagagattga tgcttgaaa 3840
 gctacttttg ctccaatgaa agataatata ttgaatgcta atgaagcagt tgctaaatat 3900
 gctccttcta tcattgatag tgagaaagtt cgtatacagt ctgttataga cgatgtattt 3960
 gaaactttaa gtgctaaaat aaataataat gaagacagta tttctaattt agaattctt 4020
 15 ttctctgaat ataaatctct tatatcagat gctatagacg gatttaaaga tgaaatttct 4080
 tctataagaa atagtaataa ctatgatgat ttaattgaag agagaaatag attggaagaa 4140
 tcatttaatt ctcttaaaga tgatttctca aaaatagaag atttggaana agatttacet 4200
 ctgtttaaag ctaagttaaa aggtgatgac agcagcttga ttgatgaagt tatgagactt 4260
 tctgatgagc ttgaaatctt gaaagataat gtatcaaata tgaataatac agataataat 4320
 20 gtaaatgata ataataatgat tgatgctatt tatgaagatt tcaaacagtt aaatgaaagt 4380
 ttagaatcat tcaaagaaac tgttattcct caattatcta ctttagtaa attggaagat 4440
 aagatatcag aaaatagaga ggaaatctat aaatatatca atagtataat gtattcttta 4500
 cctgaagctt atataagcag agaagagata tctaatttag aaaataaatt atatgatata 4560
 ttaataaact tcaatgacgg catagtatct ataaagaatg atttagtttt ctatatagag 4620
 25 aaagacacta aagatttcaa agatagaata gaaaagaaga atagagttct t 4671

<210> 6

<211> 1557

<212> PRT

30 <213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 6

Met Ser Asp Val Asp Val Leu Leu Lys Asp Glu Val Lys Ala Leu Ser

1 5 10 15

35 Ser Arg Leu Ser Asp Phe Glu Glu Arg Ile Lys Asp Asp Ile Val Arg

20 25 30

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

35 40 45
Gly Lys Leu Asn Ser Arg Ile Asp Asp Val Lys Ser Gln Ile Glu Asp
50 55 60
Ser Ile Asn Lys Ser Ser Glu Leu Glu Thr Leu Ile Ser Ser Glu Lys
5 65 70 75 80
Glu Glu Leu Asp Asn Lys Leu Ser Thr Ile Lys Asp Glu Leu Val Ser
85 90 95
Lys Ser Glu Asn Asp Asp Thr Ile Glu Lys Leu Phe Thr Gln Glu Lys
100 105 110
10 Glu Lys Leu Asn Glu Leu Phe Asn Gln Ile Lys Asp Asp Asn Lys Glu
115 120 125
Phe Arg Tyr Arg Leu Glu Lys Arg Val Ala Tyr Phe Glu Asp Thr Trp
130 135 140
Ser Asp Ser Ser Arg Leu Lys Asn Ile Phe Ser Thr Asp Ile Arg Glu
15 145 150 155 160
Gln Leu Asp Asn Ile Arg Asn Asp Asn Glu Ile Lys Phe Glu Asn Ser
165 170 175
Ile Asn Tyr Leu Lys Asp Lys Val Glu Ser Ile Asp Asn Asp Ile Ser
180 185 190
20 Asn Trp Lys Glu Asn Thr Val Asp Glu Leu Val Lys Gln Leu Gly Glu
195 200 205
Ala Arg Glu Ser Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Asp Ser Glu Ile Lys Gly
210 215 220
Lys Glu Leu Val Asp Asn Leu Leu Ser Lys Ile Asp Glu Lys Glu Asn
25 225 230 235 240
Ser Met Tyr Gln Thr Leu Glu Asp Lys Glu Lys Asn Met Tyr Gln Thr
245 250 255
Leu Asp Asp Lys Glu Lys Ser Met Tyr Gln Thr Leu Asp Asp Arg Ala
260 265 270
30 Arg Asn Met Tyr Lys Ser Leu Asp Glu Lys Glu Lys Ser Ile Tyr Glu
275 280 285
Ile Leu Asp Asn Lys Val Gln Glu Ile Glu Ser Arg Leu Ser Leu Ile
290 295 300
Asp Ser Lys Leu Asn Asp Asp Ile Thr Ser Asn Leu Glu Asn Leu Tyr
35 305 310 315 320
Asp Met Leu Asn Glu Ala Val Ala Lys Tyr Asp Glu Glu Ile Lys Asn
325 330 335

Ile Glu His Tyr Arg Leu Asp Glu Asn Asn Lys Ile Leu Asp Asp Ile
 340 345 350
 Asp Asn Val Gly Lys Glu Ile Arg Ser Ser Tyr Glu Asn Tyr Ser Lys
 355 360 365
 5 Leu Ile Glu Glu Val Tyr Asn Asn Ser Leu Asn Ser Leu Lys Asp Tyr
 370 375 380
 Ser Asn Ser Ile Lys Asp Glu Ile Glu Lys Ser Arg Glu Glu Thr Glu
 385 390 395 400
 Glu Arg His Leu Ser Ser Glu Arg Glu Tyr Ile Asp Glu Tyr Leu Lys
 10 405 410 415
 Gly Tyr Ser Glu Lys Leu Glu Ser Gln Val Ser Asp Lys Ile Asn Ile
 420 425 430
 Leu Asn Asp Ala Lys Thr Asp Leu Asp Asn Met Leu Lys Ser Ser Phe
 435 440 445
 15 Asp Asp Leu Glu Ala Arg Phe Asn Glu Ser Met Thr Lys Phe Glu Glu
 450 455 460
 Ser Ser Asn Asn Arg Val Phe Lys Thr Leu Gln Asp Ile Glu Lys Lys
 465 470 475 480
 Ala Asp Asp Val Ile Tyr Gly Asn Asn Tyr Ile Tyr Lys Ile Glu Asp
 20 485 490 495
 Lys Val Lys Asp Phe Tyr Gly Lys Ile Asp Thr Lys Leu Leu His Phe
 500 505 510
 Ala Asp Arg Tyr Asp Thr Leu Glu Lys Lys Ile Tyr Asp Leu Glu Ser
 515 520 525
 25 Asn Gln Asn Tyr Ile Phe Arg Leu Glu Asp Lys Ile Arg Asp Leu Asn
 530 535 540
 Glu Lys Leu Asp Asp Arg Ile Thr Asn Val Asn Glu Arg Tyr Asp Asn
 545 550 555 560
 Leu Arg Lys Ser Phe Asp Asp Lys Phe Val His Ile Glu Ser Ala Val
 30 565 570 575
 Leu Asn Asn Glu Gln Val Gln Lys Leu Arg Asp Asp Phe Ile Ile Phe
 580 585 590
 Lys Asp Asp Val Leu Lys Ala Asn Arg Asp Asn Ile Pro Glu Leu Phe
 595 600 605
 35 Asn Lys Glu Lys Glu Lys Phe Glu Glu Leu Phe Asn Ser Phe Ala Asn
 610 615 620
 Asp Ile Ile Ser Lys Leu Asp Thr Ser Asn Ala Asn Ile Glu Glu Phe

625 630 635 640
 Lys Asn Thr Met Tyr Asp Glu Lys Asn Ser Ile Leu Glu Asn Met Glu
 645 650 655
 Ser Phe Arg Tyr Glu Leu Asp Glu Leu Lys Asn Asn Asp Ser Ile Glu
 5 660 665 670
 Ala Leu Glu Ala Glu Lys Ala Arg Leu Glu Asp Thr Phe Asn Ser Phe
 675 680 685
 Arg Glu Glu Phe Glu Arg Leu Tyr Asp Leu Glu Ser Glu Val Tyr Asn
 690 695 700
 10 Leu Lys Ser Asn Leu Asp Gly Val Asp Ser Asn Leu Arg Ser Asp Val
 705 710 715 720
 Asp Lys Leu Phe Asp Glu Val Ser Glu Phe Lys Tyr Ala Leu Glu Glu
 725 730 735
 Lys Ile Asp Ile Leu Glu Asp Asn Thr Val Ser Arg Asp Leu Phe Asp
 15 740 745 750
 Asp Asp Arg Glu Lys Leu Tyr Ser Leu Tyr Asp Glu Leu Glu Ala Gly
 755 760 765
 Asn Lys Asp Phe Lys Asp Leu Met Asp Lys Arg Ile Ser Tyr Phe Glu
 770 775 780
 20 Asp Thr Trp Ser Asp Pro Asn Lys Ala Leu Lys Leu Tyr Glu Asn Ala
 785 790 795 800
 Leu Thr Pro Glu Val Asp Asn Leu Lys Ser Glu Ile Leu Ser Asn Val
 805 810 815
 Lys Asp Gln Val Asn Glu Ile Glu Lys Asn Leu Ser Val Trp Lys Asp
 25 820 825 830
 Asp Asn Leu Ser Leu Leu Leu Glu Gln Leu Lys Glu Ala Lys Glu Asn
 835 840 845
 Ile Asp Asn Phe Ile Glu Ser Ser Lys Asp Lys Lys Asn Gly Ile Ile
 850 855 860
 30 Ala Lys Met Ile Ser Ser Ile Lys Glu Glu Ile Leu Gly Lys Glu Ser
 865 870 875 880
 Glu Ile Asn Thr Arg Leu Glu Glu Lys Leu Ser Ser Val Asn Glu Arg
 885 890 895
 Ile Ala Asp Leu Glu Asn Arg Leu Thr Ser Asp Val Ser Arg Phe Asn
 35 900 905 910
 Asn Met Ile Ser Glu Ala Val Asp Lys Tyr Glu Asp Glu Leu Lys Asn
 915 920 925

Ile Glu Ser Tyr Arg Leu Glu Glu Asn Glu Ser Ile Met Arg Asn Leu
930 935 940
Glu Asp Ile Gly Arg Asn Ile Ile Ser Asn Tyr Asp Asn Tyr Ser Lys
945 950 955 960
5 Met Leu Asp Ser Val Tyr Glu Asn Asn Lys Asn Ala Leu Asp Glu Tyr
965 970 975
Ser Asn Ser Leu Arg Ile Glu Ile Glu Lys Ala Arg Val Asp Thr Asn
980 985 990
Lys Gly Tyr Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Tyr Ser Ser Lys Val Glu
10 995 1000 1005
Ala Asp Ile Lys Glu Arg Leu Glu Glu Leu Glu Lys Asn Lys Tyr Asn
1010 1015 1020
Leu Asp Val Met Ile Asn Asp Ser Phe Asn Asn Leu Asn Gln Ser Ile
1025 1030 1035 1040
15 Asn Asn Ala Val Ser Lys Met Ile Glu Asp Ser Asp Ser Lys Leu Arg
1045 1050 1055
Asp Val Ile Asp Asn Leu Glu Val Gln Ile Asn Asp Leu Ile Ala Asn
1060 1065 1070
Lys Glu Glu Glu Ile Val Ser Arg Ile Ser Ala Tyr Glu Thr Asp Leu
20 1075 1080 1085
Lys Asn Glu Gln Tyr Ser Ser Leu Glu Asp Ile Lys Asn Glu Leu Leu
1090 1095 1100
Gly Leu Tyr Asn Glu Phe Lys Glu Asn Val Asn Tyr Asp Asn Leu Lys
1105 1110 1115 1120
25 Asp Ile Ser Glu Lys Leu Asp Ser Ile Glu Thr Ser Leu Leu Glu Val
1125 1130 1135
Asn Thr Gln Leu Glu Asn Lys Ala Lys Asp Ile Ser Asp Arg Ile Asp
1140 1145 1150
Leu Glu Lys Glu Glu Leu Tyr Ala Ser Val Asn Lys Leu Ser Ser Glu
30 1155 1160 1165
Phe Glu Asp Phe Lys Ser Asn Ile Asp Asp Arg Phe Lys Thr Gln Val
1170 1175 1180
Ser Asp Phe Val Ser Asn Asn Glu His Ile Leu Ser Leu Phe Gly Glu
1185 1190 1195 1200
35 Tyr Ser Glu Lys Ile Ser Ser Val Thr Asn Ile Leu Glu Asp Ile Glu
1205 1210 1215
Asn Val Lys Val Ser Leu Ile Glu Glu Ile Asn Lys Val Lys Glu Glu

	1220	1225	1230
	Ile Asp Asn Lys Tyr Ser Ser Leu Thr Lys Asp Phe Asp Lys Ser Ile		
	1235	1240	1245
	Asp Asp Ile Lys Asp Ala Val Leu Asp Lys Asn Asn Ile Leu Gln Tyr		
5	1250	1255	1260
	Tyr Ile Asn Glu Lys Glu Leu Leu Trp Lys Glu Ile Asp Ala Leu Lys		
	1265	1270	1275 1280
	Ala Thr Phe Ala Ser Met Lys Asp Asn Ile Leu Asn Ala Asn Glu Ala		
	1285	1290	1295
10	Val Ala Lys Tyr Ala Pro Ser Ile Ile Asp Ser Glu Lys Val Arg Ile		
	1300	1305	1310
	Gln Ser Val Ile Asp Asp Val Phe Glu Thr Leu Ser Ala Lys Ile Asn		
	1315	1320	1325
	Asn Asn Glu Asp Ser Ile Ser Asn Leu Glu Ser Ser Phe Ser Glu Tyr		
15	1330	1335	1340
	Lys Ser Leu Ile Ser Asp Ala Ile Asp Gly Phe Lys Asp Glu Ile Ser		
	1345	1350	1355 1360
	Ser Ile Arg Asn Ser Asn Asn Tyr Asp Asp Leu Ile Glu Glu Arg Asn		
	1365	1370	1375
20	Arg Leu Glu Glu Ser Phe Asn Ser Leu Lys Asp Asp Phe Ser Lys Ile		
	1380	1385	1390
	Glu Asp Leu Glu Lys Asp Leu His Leu Val Lys Ala Lys Leu Lys Gly		
	1395	1400	1405
	Asp Asp Ser Ser Leu Ile Asp Glu Val Met Arg Leu Ser Asp Glu Leu		
25	1410	1415	1420
	Glu Ile Leu Lys Asp Asn Val Ser Asn Met Asn Asn Thr Asp Asn Asn		
	1425	1430	1435 1440
	Val Asn Asp Asn Asn Asp Ile Asp Ala Ile Tyr Glu Asp Phe Lys Gln		
	1445	1450	1455
30	Leu Asn Glu Ser Leu Glu Ser Phe Lys Glu Thr Val Ile Pro Gln Leu		
	1460	1465	1470
	Ser Thr Phe Ser Lys Leu Glu Asp Lys Ile Ser Glu Asn Arg Glu Glu		
	1475	1480	1485
	Ile Tyr Lys Tyr Ile Asn Ser Ile Met Tyr Ser Leu Pro Glu Ala Tyr		
35	1490	1495	1500
	Ile Ser Arg Glu Glu Ile Ser Asn Leu Glu Asn Lys Leu Tyr Asp Ile		
	1505	1510	1515 1520

Phe Asn Asn Phe Asn Asp Gly Ile Val Ser Ile Lys Asn Asp Leu Val

1525

1530

1535

Phe Tyr Ile Glu Lys Asp Thr Lys Asp Phe Lys Asp Arg Ile Glu Lys

1540

1545

1550

5 Lys Asn Arg Val Leu

1555

<210> 7

10 <211> 2256

<212> DNA

<213> *Brachyspira hyodysenteriae*

<400> 7

15 atgaaaaata ctattttaa aattttaat aaaagagttt taatatttac acttgtttt 60
 gaaatcattg ttattgtaat gacatccatg ttgggtgctc aggatatatc attacaaaag 120
 aatattatat caaaaaataa aatcaattat ggtacggcat tagaactca taatagagga 180
 aaatatttag aggcttataa tcaatttaca aatatcatga atacagaaga tgatatgac 240
 attagagatt atactatata ttacggagct aaaagtgcct tgctaactaa tatgtataat 300
 20 gaagcaatag atttatatgc ctactaatg aaagaatatc cgcggtcatc attatattcct 360
 tatgcagagc aatataaggc tcttctgag ttatatagag atgattatcc tataagcaat 420
 tttttaatg gtaaacttca aaaatggatt aaagaattg ttggaataag agctttaaga 480
 gatactgatg ataccaataa ggctagaatg atagcttatg aacttttaa cagattcgga 540
 ttaagcgaag ctgctatata ttataataat aatttcctg aagatattc atctttcca 600
 25 aataatttaa aatttaaac agcaaccata ctttatgaag caggatatag aaaagcatct 660
 ttaaagcatt tcagttatt atatgataat aatgcttata aagcaagtc tacatattat 720
 atggctagaa ttaacagaa gtctggagac agaagagatg ctgcggctt attcgatgag 780
 tattatcaa atcttaacaa taaatctcat agaagattag gtctttacta ttctgcagat 840
 aattataata gataaaaaa ttatgaaaaa tcaatagaac ttataatac tttttgaaa 900
 30 gaatatccta gagatgatta tgttcctaga atatataata gtttggttac ttgagtttg 960
 aatagaaata atttagtca ggcaaaaact tatcttacta atgtaatgaa gagatttcct 1020
 aaaagcagat atacagagct tgcattaaaa tcatatttaa gaaaggcatt caaattaaat 1080
 aataaacag aaacttatt tgctactaag gctttagaag caagatatcc tagtttcaga 1140
 catgatttg cattatctg gaatatgtg actgctgaag agtttgaga tattgaaaaa 1200
 35 agagatgaat atttaatgaa aacacttctt acaagtaaaa gccattatt tataaaagg 1260
 gcttgagtc ttccaataa tgaaatgata gctaatttc agcttagcaa tacttattat 1320
 ttaaatgaag ctaaaagata ttatgctgat tctaatttta ctaaattctat gcagatgctt 1380

115 120 125
 Ser Glu Phe Tyr Arg Asp Asp Tyr Pro Ile Ser Asn Phe Phe Asn Gly
 130 135 140
 Lys Ser Gln Lys Trp Ile Lys Glu Phe Val Gly Ile Arg Ala Leu Arg
 5 145 150 155 160
 Asp Thr Asp Asp Thr Asn Lys Ala Arg Met Ile Ala Tyr Glu Leu Leu
 165 170 175
 Asn Arg Phe Gly Leu Ser Glu Ala Ala Ile Tyr Tyr Asn Asn Asn Phe
 180 185 190
 10 Pro Glu Asp Ile Ser Ser Phe Pro Asn Asn Leu Lys Phe Lys Thr Ala
 195 200 205
 Thr Ile Leu Tyr Glu Ala Gly Tyr Arg Lys Ala Ser Leu Lys His Phe
 210 215 220
 Gln Tyr Leu Tyr Asp Asn Asn Ala Tyr Lys Ala Ser Ser Thr Tyr Tyr
 15 225 230 235 240
 Met Ala Arg Ile Lys Gln Lys Ser Gly Asp Arg Arg Asp Ala Ala Ala
 245 250 255
 Leu Phe Asp Glu Tyr Leu Ser Asn Leu Asn Asn Lys Ser His Arg Arg
 260 265 270
 20 Leu Gly Leu Tyr Tyr Ser Ala Asp Asn Tyr Asn Arg Leu Lys Asn Tyr
 275 280 285
 Glu Lys Ser Ile Glu Leu Tyr Asn Thr Phe Leu Lys Glu Tyr Pro Arg
 290 295 300
 Asp Asp Tyr Val Pro Arg Ile Tyr Asn Ser Phe Val Thr Leu Ser Leu
 25 305 310 315 320
 Asn Arg Asn Asn Leu Val Gln Ala Lys Thr Tyr Leu Thr Asn Val Met
 325 330 335
 Lys Arg Phe Pro Lys Ser Arg Tyr Thr Glu Leu Ala Leu Lys Ser Tyr
 340 345 350
 30 Leu Arg Lys Ala Phe Lys Leu Asn Asn Lys Thr Glu Thr Tyr Phe Ala
 355 360 365
 Thr Lys Ala Leu Glu Ala Arg Tyr Pro Ser Phe Arg His Asp Phe Ala
 370 375 380
 Leu Ser Trp Asn Met Trp Thr Ala Glu Glu Phe Gly Asp Ile Glu Lys
 35 385 390 395 400
 Arg Asp Glu Tyr Leu Met Lys Thr Leu Leu Thr Ser Lys Ser His Tyr
 405 410 415

Phe Ile Lys Gly Ala Leu Ser Leu Ala Asn Asn Glu Met Ile Ala Asn
 420 425 430
 Val Gln Leu Ser Asn Thr Tyr Tyr Leu Asn Glu Ala Lys Arg Tyr Tyr
 435 440 445
 5 Ala Asp Ser Asn Phe Thr Lys Ser Met Gln Met Leu Asn Lys Ile Gln
 450 455 460
 Phe Leu Asn Tyr Ile Ala Thr Gly Lys Glu Asp Asn Ile Thr Arg Glu
 465 470 475 480
 Ala Arg Ala Leu Ala Lys Asn Ile Leu Met His Asn Arg Phe Val Lys
 10 485 490 495
 Asp Leu Tyr Ala Asn Arg Ser Glu Asp Asp Leu Phe Asn Glu Leu Ser
 500 505 510
 Leu Gln Thr Arg Arg Glu Val Asn Lys Ala Ile Ile Leu Tyr Tyr Tyr
 515 520 525
 15 Gly Asp Tyr Asp Asn Ala Tyr Thr Glu Phe Asp Lys Ile Phe Lys Lys
 530 535 540
 Thr Gln Val Thr Tyr Pro Leu Phe Tyr Phe Ala Glu Lys Ile Phe Lys
 545 550 555 560
 Asp Ser Gly Asn Thr Lys Arg Leu Ile Gln Val Ser Ala Asn Ile Gly
 20 565 570 575
 Lys Tyr Phe Gly Tyr Pro Tyr Ser Asp Asn Val Asp Leu Leu Pro Asp
 580 585 590
 Glu Phe Arg Lys Arg Val Tyr Pro Arg Tyr Phe Asp Glu Tyr Val Val
 595 600 605
 25 Pro Glu Ala Lys Tyr Tyr Lys Ile Glu Pro Ala Phe Val Tyr Ala Ile
 610 615 620
 Met Arg Glu Glu Ser Leu Phe Asp Pro Lys Ala Lys Ser Trp Val Gly
 625 630 635 640
 Ala Met Gly Leu Met Gln Leu Met Pro Thr Thr Ala Ala Ala Glu Asn
 30 645 650 655
 Lys Lys Ala Arg Tyr Arg Tyr Asn Pro Leu Asp Leu Thr Asp Pro Lys
 660 665 670
 Gln Asn Ile Asn Leu Gly Val Ser His Leu Gly Trp Leu Phe Ser Ser
 675 680 685
 35 Gln Lys Ala Ser Asn Tyr Ile Leu Val Ala Ala Ser Tyr Asn Ala Gly
 690 695 700
 Ser Gly Arg Gly Arg Arg Trp Lys Ala Glu Tyr Gly Thr Asn Asn Met

705 710 715 720
Tyr Arg Thr Gly Arg Phe Ile Asp Ile Glu Glu Thr Glu Tyr Tyr Val
 725 730 735
Glu Arg Val Ile Lys Ser Tyr Glu Tyr Tyr Ser Lys Tyr Tyr Lys Asp
5 740 745 750

<210> 9
<211> 723
10 <212> DNA
<213> *Brachyspira hyodysenteriae*

<400> 9
atggaaacta gattgcttta caactttgaa acattagacg aatggcaacc aatatcaa 60
15 gccagccgct ttatgttttag aggtgataga acaaatgaaa atgggtgtgt aatgaaatat 120
cctaatatga gattgttcgc tacaaaacca tatggtatgg gtaaccaaag ttataattca 180
actaattcat tatcagtaag tgtttctttt ttacagaaaat cttataactt ctttgattta 240
gttccaacag tacaaaaaat cataccaggt aaagctcaaa cttttgatgt ttgggtatgg 300
ggttgtaatt atgactatac tatggaaatg atatttgaag attatcgtgg ttatacttat 360
20 acattacctt taggatctat aagatatata ggttgagaga atatgagtac agcagtgcca 420
tctttcattc ctcaagaaga gccttatgtt cctagagcta aagggttaag atttatgaat 480
ttccgtttct ggtcatcacc agaggaaaga gcagataact ttgtagtttt attggattac 540
ttcaaacag taacagatac attcagagaa gcttatgacg gatctgatat tgaaactaca 600
ttaggtcagg aagttggcgg aagatcttct gaacaatata cagaaggcgg agctaaagta 660
25 gtaggtgaag acggcggtaa cgctggagct gctactacag aacagccaca agaagcgcaa 720
caa

30

<210>	10
<211>	241
<212>	PRT
<213>	Brachyspira hyodysenteriae

<400> 10
Met Glu Thr Arg Leu Leu Tyr Asn Phe Glu Thr Leu Asp Glu Trp Gln
35 1 5 10 15
Pro Ile Ser Asn Ala Ser Arg Phe Met Phe Arg Gly Asp Arg Thr Asn
20 25 30

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

30
<210> 11
<211> 3129
<212> DNA
<213> Brachyspira hyodysenteriae

35
<400> 11
atgattgaag aagaaagaag acaggttgct gaaatgtttg aaagcataca aaatgattct 60

atagatactg atttgagata tcttacagat tcattcagag atgatatcat aaaagtattt 120
 gaagaatcta atgatgagtt cagaaaacgt gtagaagcta gaatagttca tttgaagat 180
 gcttatgctt cacctgatag aataaaagaa ttctataaag atgctatact ttctgaagtg 240
 gacagcttga gaagtgatgc agaacagata cttatagatt taaatgataa ggtagaaaat 300
 5 gcaaaagaac agatagaagt attagaaaat gatagagtaa aagacataat caataaaata 360
 gatgaagcag'aaaatgatat taattcttta ataaatacta taaaagctaa tattaaagaa 420
 caagaaaatg agcttagaat gttgagccaa tctcagaaac atatatctca ggaagtagag 480
 actgttcgca gagagagaga agctcttatg gatatggta aaaactctga tataaatata 540
 agaaacaagc ttgacagttt aacaagtgtc gtatcagaag ctgcagagat tgcttcatct 600
 10 aagatagctg aaaaagaagc agcattcagc agtaaagta aagaagctga agaatatatt 660
 aattcattgt ctgatagaat tacattagaa aataacagtg ctttagataa agctagagaa 720
 gatattaata atttagttgc ttcttcaat gaatcagtta taaaagagac taatgatttg 780
 gcacctcata taactaatac agttcagaat ttcattaata atgaaatgaa aaaatttgat 840
 aaattctcag atgttagaag tgctatagaa ggcattgaga atgatattaa taacaagata 900
 15 actgaagcat tcaataatat gaacaaagaa ctgaagata atattgttga attagaaaag 960
 aaaatagata catatcagga agagtttctc agtgaattaa agatgtctgt aaatgtagag 1020
 ggtgaaaaag ctgttgatga aattaagtct ttacataatg atgaagttgc taaattaaaa 1080
 gagatgtatt taactactga aaaattctat acagatagac aagagaaaaa ccatgaagac 1140
 ttctcaaaat tattgaaga aacttataaa gactataatg aaaaaataga atcattatat 1200
 20 gctcaattag atgatactaa acttcaaata agtacttctg ttgaagatgt tgttgctgat 1260
 ttgaagcagg cttaagcat aaaagatgag ttcttaactt cagttgaaaa taataaagaa 1320
 aaacttgaag ctgttgaaga gcaaatgaat aatttacaga atgaatttgc tccttcagta 1380
 gaaaaattga aagacataat agaagaaaag gcattagaat tacaagagaa aatcaatgaa 1440
 tacttcaag atatagaact tcaaggagat aagtccaatt ctgattgga agagtattct 1500
 25 aataatgcta aatctactat agaagataag gtaactgaat ttgattctat aatagaaaat 1560
 atttctaata aaatggatac ttattagaa gaaaagaatt cagagttcga tgcattaaaa 1620
 gcacattatg aaggactttc agaatcattg acagcattga aagatactat atcagaagca 1680
 gttaatgaaa gaatagaaga agcaaatagc attatagagg aaaatgttca gactatagaa 1740
 gaatcagcta atgaaaaata tgaaaaatac atagcaagac ttaattctaa ttagaacaa 1800
 30 acattgtctc ttttaatgaa cgatgctaaa gaacatatac agaaagctaa agatgaaata 1860
 attaaagctc atactgataa tttagatgag tatgatcaga gaattacaaa tatgaaagat 1920
 attgtttcag ctttagaaga agatataact aaatattctt ctgagataga tgcaagactt 1980
 gaaagtatta atttaagcta tgatgaaaaa acaaatgtta tacttaaaga tttgaaaat 2040
 agaactgatg atttgaaatt gaaattaaat gatgcatctg aatctattga caaaatgctt 2100
 35 gatttaaaaa ctaatgatat ttctttagag tatgaggcta tgaaatcaaa aatagatgat 2160
 atagctaaag atatagaaaa atacatgaat actgttaaag tatttgataa tgctaaagaa 2220
 atggcagatt ctataagaga tgacgtttct aagttgaatg ctttggttga ggatactaaa 2280

gctacaacaa ttgaaatgaa taagactatg tccgaatttg atagcttaa gaaaatgcat 2340
caggaaatat taggatatgc agaaagtctt aaaaaggaaa aagacagctt gaaagatact 2400
caggaaaaag taaatatgtt aatggaaatg tctggtgaaa ttcaagagag attcgtaat 2460
atagcagaaa ataatgctat gatagagcat gctgaggaag gaatacaggt tgttatagat 2520
5 atagcatctc aaatagaaaa taaactttca ttcattaagg ataaggaaga gtatgcagat 2580
gatatattac agcaaataag aaaagctgaa gtagaaaccg aaactathtt agaaagagta 2640
gatagtataa aagaagctat ggttgaagtt gaagatacta gaaagaactt tatggataag 2700
atttattctt tagaaagaga tatggctaaa atagataaga atgataaaaa agttcagttg 2760
tttatttcta aattagaaga gataaatgat ataatagatg ccatacagga tcaaagagaa 2820
10 aatcttggtc gtatgaagaa tcagtatgat gattatgata agaacatagt taagaatttg 2880
gaaagagctg aatattttgt aagatattta gagactttac tagataatgc tgataaatat 2940
atgtctgata aaggttctaa gacttctaaa aaaggaacag ctgctaaaat agatagtaag 3000
aaagaagagt ttataattag aatgtataaa gaaggttggg aaccagatga gatagttaaa 3060
aatagttcat attcaagaga tgaagttgaa agaactataa aagcatggaa agataagcaa 3120
15 tccagagga 3129

<210> 12
<211> 1043
<212> PRT
20 <213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 12
Met Ile Glu Glu Glu Arg Arg Gln Val Ala Glu Met Phe Glu Ser Ile
1 5 10 15
25 Gln Asn Asp Ser Ile Asp Thr Asp Leu Arg Tyr Leu Thr Asp Ser Phe
20 25 30
Arg Asp Asp Ile Ile Lys Val Phe Glu Glu Ser Asn Asp Glu Phe Arg
35 40 45
Lys Arg Val Glu Ala Arg Ile Val His Phe Glu Asp Ala Tyr Ala Ser
30 50 55 60
Pro Asp Arg Ile Lys Glu Phe Tyr Lys Asp Ala Ile Leu Ser Glu Val
65 70 75 80
Asp Ser Leu Arg Ser Asp Ala Glu Gln Ile Leu Ile Asp Leu Asn Asp
85 90 95
35 Lys Val Glu Asn Ala Lys Glu Gln Ile Glu Val Leu Glu Asn Asp Arg
100 105 110
Val Lys Asp Ile Ile Asn Lys Ile Asp Glu Ala Glu Asn Asp Ile Asn

115 120 125
 Ser Leu Ile Asn Thr Ile Lys Ala Asn Ile Lys Glu Gln Glu Asn Glu
 130 135 140
 Leu Arg Met Leu Ser Gln Ser Gln Lys His Ile Ser Gln Glu Val Glu
 5 145 150 155 160
 Thr Val Arg Arg Glu Arg Glu Ala Leu Met Asp Met Val Lys Asn Ser
 165 170 175
 Asp Ile Asn Ile Arg Asn Lys Leu Asp Ser Leu Thr Ser Ala Val Ser
 180 185 190
 10 Glu Ala Ala Glu Ile Ala Ser Ser Lys Ile Ala Glu Lys Glu Ala Ala
 195 200 205
 Phe Ser Ser Lys Val Lys Glu Ala Glu Glu Tyr Ile Asn Ser Leu Ser
 210 215 220
 Asp Arg Ile Thr Leu Glu Asn Asn Ser Ala Leu Asp Lys Ala Arg Glu
 15 225 230 235 240
 Asp Ile Asn Asn Leu Val Ala Ser Phe Asn Glu Ser Val Ile Lys Glu
 245 250 255
 Thr Asn Asp Leu Ala Pro His Ile Thr Asn Thr Val Gln Asn Phe Ile
 260 265 270
 20 Asn Asn Glu Met Lys Lys Phe Asp Lys Phe Ser Asp Val Arg Ser Ala
 275 280 285
 Ile Glu Gly Ile Glu Asn Asp Ile Asn Asn Lys Ile Thr Glu Ala Phe
 290 295 300
 Asn Asn Met Asn Lys Glu Leu Glu Asp Asn Ile Val Glu Phe Arg Lys
 25 305 310 315 320
 Lys Ile Asp Thr Tyr Gln Glu Glu Phe Ile Ser Glu Leu Lys Met Ser
 325 330 335
 Val Asn Val Glu Gly Glu Lys Ala Val Asp Glu Ile Lys Ser Leu His
 340 345 350
 30 Asn Asp Glu Val Ala Lys Leu Lys Glu Met Tyr Leu Thr Thr Glu Lys
 355 360 365
 Phe Tyr Thr Asp Arg Gln Glu Lys Asn His Glu Asp Phe Ser Lys Leu
 370 375 380
 Phe Glu Glu Thr Tyr Lys Asp Tyr Asn Glu Lys Ile Glu Ser Leu Tyr
 35 385 390 395 400
 Ala Gln Leu Asp Asp Thr Lys Leu Gln Ile Ser Thr Ser Val Glu Asp
 405 410 415

Val Val Ala Asp Leu Lys Gln Ala Leu Ser Ile Lys Asp Glu Phe Leu
 420 425 430
 Thr Ser Val Glu Asn Asn Lys Glu Lys Leu Glu Ala Val Glu Glu Gln
 435 440 445
 5 Met Asn Asn Leu Gln Asn Glu Phe Ala Pro Ser Val Glu Lys Leu Lys
 450 455 460
 Asp Ile Ile Glu Glu Lys Ala Leu Glu Leu Gln Glu Lys Ile Asn Glu
 465 470 475 480
 Tyr Ser Gln Asp Ile Glu Leu Gln Gly Asp Lys Phe Asn Ser Arg Leu
 10 485 490 495
 Glu Glu Leu Ser Asn Asn Ala Lys Ser Thr Ile Glu Asp Lys Val Thr
 500 505 510
 Glu Phe Asp Ser Ile Ile Glu Asn Ile Ser Asn Lys Met Asp Thr Leu
 515 520 525
 15 Leu Glu Glu Lys Asn Ser Glu Phe Asp Ala Leu Lys Ala His Tyr Glu
 530 535 540
 Gly Leu Ser Glu Ser Leu Thr Ala Leu Lys Asp Thr Ile Ser Glu Ala
 545 550 555 560
 Val Asn Glu Arg Ile Glu Glu Ala Asn Ser Ile Ile Glu Glu Asn Val
 20 565 570 575
 Gln Thr Ile Glu Glu Ser Ala Asn Glu Lys Tyr Glu Lys Tyr Ile Ala
 580 585 590
 Arg Leu Asn Ser Asn Leu Glu Gln Thr Leu Ser Leu Leu Met Asn Asp
 595 600 605
 25 Ala Lys Glu His Ile Gln Lys Ala Lys Asp Glu Ile Ile Lys Ala His
 610 615 620
 Thr Asp Asn Leu Asp Glu Tyr Asp Gln Arg Ile Thr Asn Met Lys Asp
 625 630 635 640
 Ile Val Ser Ala Leu Glu Glu Asp Ile Thr Lys Tyr Ser Ser Glu Ile
 30 645 650 655
 Asp Ala Arg Leu Glu Ser Ile Asn Leu Ser Tyr Asp Glu Lys Thr Asn
 660 665 670
 Val Ile Leu Lys Asp Phe Glu Asn Arg Thr Asp Asp Leu Lys Leu Lys
 675 680 685
 35 Leu Asn Asp Ala Ser Glu Ser Ile Asp Lys Met Leu Asp Leu Lys Thr
 690 695 700
 Asn Asp Ile Ser Leu Glu Tyr Glu Ala Met Lys Ser Lys Ile Asp Asp

705 710 715 720
 Ile Ala Lys Asp Ile Glu Lys Tyr Met Asn Thr Val Lys Val Phe Asp
 725 730 735
 Asn Ala Lys Glu Met Ala Asp Ser Ile Arg Asp Asp Val Ser Lys Leu
 5 740 745 750
 Asn Ala Leu Val Glu Asp Thr Lys Ala Thr Thr Ile Glu Met Asn Lys
 755 760 765
 Thr Met Ser Glu Phe Asp Ser Leu Lys Lys Met His Gln Glu Ile Leu
 770 775 780
 10 Gly Tyr Ala Glu Ser Leu Lys Lys Glu Lys Asp Ser Leu Lys Asp Thr
 785 790 795 800
 Gln Glu Lys Val Asn Met Leu Met Glu Met Ser Gly Glu Ile Gln Glu
 805 810 815
 Arg Phe Val Asn Ile Ala Glu Asn Asn Ala Met Ile Glu His Ala Glu
 15 820 825 830
 Glu Gly Ile Gln Val Val Ile Asp Ile Ala Ser Gln Ile Glu Asn Lys
 835 840 845
 Leu Ser Phe Ile Lys Asp Lys Glu Glu Tyr Ala Asp Asp Ile Leu Gln
 850 855 860
 20 Gln Ile Arg Lys Ala Glu Val Glu Thr Glu Thr Ile Leu Glu Arg Val
 865 870 875 880
 Asp Ser Ile Lys Glu Ala Met Val Glu Val Glu Asp Thr Arg Lys Asn
 885 890 895
 Phe Met Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Glu Arg Asp Met Ala Lys Ile Asp
 25 900 905 910
 Lys Asn Asp Lys Lys Val Gln Leu Phe Ile Ser Lys Leu Glu Glu Ile
 915 920 925
 Asn Asp Ile Ile Asp Ala Ile Gln Asp Gln Arg Glu Asn Leu Val Arg
 930 935 940
 30 Met Lys Asn Gln Tyr Asp Asp Tyr Asp Lys Asn Ile Val Lys Asn Leu
 945 950 955 960
 Glu Arg Ala Glu Tyr Phe Val Arg Tyr Leu Glu Thr Leu Leu Asp Asn
 965 970 975
 Ala Asp Lys Tyr Met Ser Asp Lys Gly Ser Lys Thr Ser Lys Lys Gly
 35 980 985 990
 Thr Ala Ala Lys Ile Asp Ser Lys Lys Glu Glu Phe Ile Ile Arg Met
 995 1000 1005

Tyr Lys Glu Gly Trp Lys Pro Asp Glu Ile Val Lys Asn Ser Ser Tyr
1010 1015 1020
Ser Arg Asp Glu Val Glu Arg Thr Ile Lys Ala Trp Lys Asp Lys Gln
1025 1030 1035 1040
5 Ser Arg Gly

<210> 13
10 <211> 729
<212> DNA
<213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 13
15 atgataaaaa aaattttaac ttaatcttt gtattaattt tggcagcttc atgttctact 60
aatgataaac atgttgtagt attagctttt agtaaacagc ttcattgctgt actttataat 120
gataatagtc agtctacaaa aacagcatca aaaacatata tacaaaaaga tgatattaca 180
actgtagcag atcctataaa agaaaaaaaa gaatatacaa atactcaagc acaagtaagt 240
aaaaaagcag aagaaaaaaaa agaagaactt acaataacg atgctttaga agaagaaaaa
20 300
cctcaagtta taaagcaaac tgagggtata cagaaagatg ataagagat tcttcttact 360
gcaaataata tatcttttga ttttgattct tatgaattaa aaaatgaata taatgaaggg 420
atagatgaaa ttgcaaata ttaaataat aatcgagata ttaatctaata aatagaagga 480
catagcgaca gtatagggga ctcaaattat aatatatatt tatctgaaaa cagagcaaaa 540
25 gcgatatttg ataaattagt agataaagga atagataaag atagacttag atatatagga 600
tatggctcta ctattcatc tgagtataat gataaagaca gaaaatgcc aattgttata 660
ataaataatt cagatgaaga gcaggaatac aaaaaagaaa acgaaactga tattatcaaa 720
ttaaaacaa 729

30 <210> 14
<211> 243
<212> PRT
<213> Brachyspira hyodysenteriae

35 <400> 14
Met Ile Lys Lys Ile Leu Thr Leu Ile Phe Val Leu Ile Leu Ala Ala
1 5 10 15

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

30

- <210> 15
- <211> 2475
- 35 <212> DNA
- <213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 15
 atgaaattga ataataaagt ttatataaa ttcccaatat taatactggt tataatatta 60
 ttatcatggt ctaatagtca ggaagaaata gagcaaaaag aaatagacag aggcggagca 120
 ttaatagata aaataatata tgaagtaaga acagatatga caatagctat taaagatgtg 180
 5 gcagacggca gagcagattt aatggcaagc ggaatagacg gaagtacata ttatcatta 240
 ggcgaaagtg atttagagaa acttgatact tatgcagtac cttcagggtc atggtcatta 300
 ttgtttaatc ccgtaccaa taaagctcca tacacagtta caacaagaga cggaaaaact 360
 cattttaatc ctctagctat aaaagaagta agatttgcta tgaacttctt aattgataga 420
 aaaaagcttg ttgatgaaat ttaagaggg gcaggacagc cttcatttac acaagcaaca 480
 10 ccggggcagc cgggtactta tagatataat cttatacctt caaaaatggg tatgacagaa 540
 aacggtaatc aggaaaaagc tcttaatgat ataaataaag ctatggaaaa agctgctaata 600
 ttaccagaga atagaggaaa attagtaaaa gaaaatggat ggtggaaata taatggagaa 660
 gtagtaacta ttaaattgt tataagaggt gatgatccta caggaagact tccagctggt 720
 aatgcaatat ctgatttaat agaaaaaaca ggaataaaag ttgagaaatt attgtatgac 780
 15 agaaataaat ctactcaagt tgtatacggg tcagacccaa aagattatga atggaatatt 840
 ataacagagg ctgggggagc aggtgctact cgtgcttggt gggatgttac attaagacag 900
 atgtatgtaa gggaaggcaa ttatatgcct ggtgctaata tatctgagtt ttggaattat 960
 gataataaag aagcttcaag aataagcgac aagaattcaa atggctggtt ttgactgcc 1020
 gatgaatatt ggaatggtaa tatgcgtttg caggagattg gactgaaga tgctgtcaga 1080
 20 atatatttaa attctcagac tcagttttt gtagcgaata aagaaagatt caatagaaga 1140
 atgctttacg gagtaggtga cgggggtaat gattggtcta taagaagtgc tgatataaaa 1200
 ccaaatagaa atggtgaaaa agtattaaga gttcttcagc attctgcca aggttcatta 1260
 ttataagtc cttgggatcc ttaggagta ggaggatttt ctgatgccta ttctgctata 1320
 atgataggac ctgtttctga tgcagggtgct acatttgaat cgccttcac tgctaagaca 1380
 25 gaattcatalc ttggtgaagc tgacaccaac agtttagaaa taggagtgag agcaggaaat 1440
 aatggaatac ctgttggtac tgtaaatgtt cctcaaatg caataatgta taatccttat 1500
 actcagaaat gggaagaggg ttaacagtt aaagttaatg ataaaggcga attagtttac 1560
 acaaaatcgg ataacttac tgcttatgtg aaatgtgatt ttaagcctag aagttttaa 1620
 tggcatcatg gcatagattc atcttggtt gatttgatgt atggaagcgt attcattgct 1680
 30 aatataataa caaagactaa tgaaaacgat aaatattatg attctgctat ggctggaaga 1740
 tatctttctg ctatggacgg agctgtagga agcattataa atgaggacgg aagttttact 1800
 ttatacggaa attattattg gcctatggat atggacagac aaattgctgt tgctgctgta 1860
 agtcctaaaa taggcaatcc taatagaaat actgttattc ctttcgagat aaatgaagct 1920
 ataataaaaa ttgttctga aggcctaaa tctggaaatg ttatactat ttacaggat 1980
 35 cagtctttaa ctccataga tgtaaaaaat cctacatgtg tatcagatat aaaagaaaaa 2040
 ttaatagaaa tgcgtgattc tcagtatata cctgctggaa tagaagattt tataactaaa 2100
 gaagatgcag taaagagata tcaagctgcc attgatttta tagataaata cggacatgct 2160

tatatatcaa atggtccttt ctttatttca agaatagatt caaaggcaaa ttatatagaa 2220
ttaacagctt ttaaagatta tagctatact gctgattatt ggatagatag attatctacc 2280
aaaatgagca gaatagaaga tattgatatg cctgctatag caaacagaaa caatgatatg 2340
aatatagata ttatgtttc ttcatataat tatcctgaca atgcattaga aatgccagat 2400
5 cctaatacaa cagtaaaagt attacttcaa ttacaaatgg agggcgaaaa agaataataat 2460
gcagttttta gaaaa 2475

<210> 16
<211> 825
10 <212> PRT
<213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 16
Met Lys Leu Asn Asn Lys Val Leu Tyr Lys Phe Pro Ile Leu Ile Leu
15 1 5 10 15
Phe Ile Ile Leu Leu Ser Cys Ser Asn Ser Gln Glu Glu Ile Glu Gln
20 25 30
Lys Glu Ile Asp Arg Gly Gly Ala Leu Ile Asp Lys Ile Ile Tyr Glu
35 40 45
20 Val Arg Thr Asp Met Thr Ile Ala Ile Lys Asp Val Ala Asp Gly Arg
50 55 60
Ala Asp Leu Met Ala Ser Gly Ile Asp Gly Ser Thr Tyr Leu Ser Leu
65 70 75 80
Gly Glu Ser Asp Leu Glu Lys Leu Asp Thr Tyr Ala Val Pro Ser Gly
25 85 90 95
Ser Trp Ser Leu Leu Phe Asn Pro Val Pro Asn Lys Ala Pro Tyr Thr
100 105 110
Val Thr Thr Arg Asp Gly Lys Thr His Phe Asn Pro Leu Ala Ile Lys
115 120 125
30 Glu Val Arg Phe Ala Met Asn Phe Leu Ile Asp Arg Lys Lys Leu Val
130 135 140
Asp Glu Ile Leu Arg Gly Ala Gly Gln Pro Ser Phe Thr Gln Ala Thr
145 150 155 160
Pro Gly Gln Pro Gly Thr Tyr Arg Tyr Asn Leu Ile Pro Ser Lys Met
35 165 170 175
Gly Met Thr Glu Asn Gly Asn Gln Glu Lys Ala Leu Asn Asp Ile Asn
180 185 190

Lys Ala Met Glu Lys Ala Ala Asn Leu Pro Glu Asn Arg Gly Lys Leu
 195 200 205
 Val Lys Glu Asn Gly Trp Trp Lys Tyr Asn Gly Glu Val Val Thr Ile
 210 215 220
 5 Lys Phe Val Ile Arg Val Asp Asp Pro Thr Gly Arg Leu Pro Ala Gly
 225 230 235 240
 Asn Ala Ile Ser Asp Leu Ile Glu Lys Thr Gly Ile Lys Val Glu Lys
 245 250 255
 Leu Leu Tyr Asp Arg Asn Lys Ser Thr Gln Val Val Tyr Gly Ser Asp
 10 260 265 270
 Pro Lys Asp Tyr Glu Trp Asn Ile Ile Thr Glu Ala Trp Gly Ala Gly
 275 280 285
 Ala Thr Arg Ala Trp Trp Asp Val Thr Leu Arg Gln Met Tyr Val Arg
 290 295 300
 15 Glu Gly Asn Tyr Met Pro Gly Ala Asn Val Ser Glu Phe Trp Asn Tyr
 305 310 315 320
 Asp Asn Lys Glu Ala Ser Arg Ile Ser Asp Lys Asn Ser Asn Gly Trp
 325 330 335
 Phe Leu Thr Ala Asp Glu Tyr Trp Asn Gly Asn Met Arg Leu Gln Glu
 20 340 345 350
 Ile Gly Leu Glu Asp Ala Val Arg Ile Tyr Leu Asn Ser Gln Thr Gln
 355 360 365
 Phe Phe Val Ala Asn Lys Glu Arg Phe Asn Arg Arg Met Leu Tyr Gly
 370 375 380
 25 Val Gly Asp Gly Val Asn Asp Trp Ser Ile Arg Ser Ala Asp Ile Lys
 385 390 395 400
 Pro Asn Arg Asn Gly Glu Lys Val Leu Arg Val Leu Gln His Ser Ala
 405 410 415
 Gln Gly Ser Leu Phe Ile Ser Pro Trp Asp Pro Val Gly Val Gly Gly
 30 420 425 430
 Phe Ser Asp Ala Tyr Ser Ala Ile Met Ile Gly Pro Cys Ser Asp Ala
 435 440 445
 Gly Ala Thr Phe Glu Ser Pro Ser Thr Ala Lys Thr Glu Phe Ile Leu
 450 455 460
 35 Gly Glu Ala Asp Thr Asn Ser Leu Glu Ile Gly Val Arg Ala Gly Asn
 465 470 475 480
 Asn Gly Ile Pro Val Gly Thr Val Asn Val Pro Gln Asn Ala Ile Met

485 490 495
 Tyr Asn Pro Tyr Thr Gln Lys Trp Glu Glu Gly Leu Thr Val Lys Val
 500 505 510
 Asn Asp Lys Gly Glu Leu Val Tyr Thr Lys Ser Asp Asn Leu Thr Ala
 5 515 520 525
 Tyr Val Lys Cys Asp Phe Lys Pro Arg Ser Phe Lys Trp His His Gly
 530 535 540
 Ile Asp Ser Ser Leu Val Asp Leu Met Tyr Gly Ser Val Phe Ile Ala
 545 550 555 560
 10 Asn Ile Ile Thr Lys Thr Asn Glu Asn Asp Lys Tyr Tyr Asp Ser Ala
 565 570 575
 Met Ala Gly Arg Tyr Leu Ser Ala Met Asp Gly Ala Val Gly Ser Ile
 580 585 590
 Ile Asn Glu Asp Gly Ser Phe Thr Leu Tyr Gly Asn Tyr Tyr Trp Pro
 15 595 600 605
 Met Asp Met Asp Arg Gln Ile Ala Val Ala Ala Val Ser Pro Lys Ile
 610 615 620
 Gly Asn Pro Asn Arg Asn Thr Val Ile Pro Phe Glu Ile Asn Glu Ala
 625 630 635 640
 20 Ile Met Lys Ile Val Leu Glu Gly Ser Lys Ser Gly Asn Val Tyr Thr
 645 650 655
 Ile Ser Gln Asp Gln Ser Leu Thr Ser Ile Asp Val Lys Asn Pro Thr
 660 665 670
 Cys Val Ser Asp Ile Lys Glu Lys Leu Ile Glu Met Arg Asp Ser Gln
 25 675 680 685
 Tyr Ile Pro Ala Gly Ile Glu Asp Phe Ile Thr Lys Glu Asp Ala Val
 690 695 700
 Lys Arg Tyr Gln Ala Ala Ile Asp Phe Ile Asp Lys Tyr Gly His Ala
 705 710 715 720
 30 Tyr Ile Ser Asn Gly Pro Phe Phe Ile Ser Arg Ile Asp Ser Lys Ala
 725 730 735
 Asn Tyr Ile Glu Leu Thr Ala Phe Lys Asp Tyr Ser Tyr Thr Ala Asp
 740 745 750
 Tyr Trp Ile Asp Arg Leu Ser Thr Lys Met Ser Arg Ile Glu Asp Ile
 35 755 760 765
 Asp Met Pro Ala Ile Ala Asn Arg Asn Asn Asp Met Asn Ile Asp Ile
 770 775 780

Tyr Val Ser Ser Tyr Asn Tyr Pro Asp Asn Ala Leu Glu Met Pro Asp
785 790 795 800
Pro Asn Thr Thr Val Lys Val Leu Leu Gln Leu Gln Met Glu Gly Glu
 805 810 815
5 Lys Glu Tyr Asn Ala Val Phe Arg Lys
 820 825

<210> 17
10 <211> 1014
 <212> DNA
 <213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 17
15 gtggtctgca atatgaataa gaagaacatt atattattat tatctattat tatgatgctg 60
 attgtatcat gtgaggaaaa aacagaaagt actgtgacaa tacaaaaata tccaataaga 120
 gttggatata tgccagattt ttctggaagt tctgctgttg ctatagcaaa agaaaagggt 180
 tattttgatg aagaaaattt agatgttaca ttggttgagt ttttagatgg tccttctgaa 240
 gtagaggaga tgcttttaaa aaatttagaa ttgcttata taggacatgg tgcacatgct 300
20 ttagctattg aaggtaaagt taatgtatta ttctctaag gttaagcag atctgaacaa 360
 attatagtaa gaaatgcttc tcaaatagaa tctattaaag atttaagagg taaaaaagtt 420
 ggaacacaat taggaacttc tcagaaatt ttactttatt tggctcttca gtcattaggt 480
 attaaagcag aagaagtaga tattataaat atggatggaa atactatagt atcatctata 540
 gctgatggta ctattgatgc tgcttcagtg caagctccat atacttttga aatattaaat 600
25 aatactgaaa acaatgtaaa gtctatagct acaactgttg attattctga tgtaggttct 660
 ttctctagca gctggatagt tacaccttct tatcaaagta ataatacaga tatagttaat 720
 agattttcaa gagctatact taaagctatg gactatagac aacttaatat gagtgaagct 780
 gtgcaattgg ttgctaacat gaatagtaaa acagttgaag aagttgattt agaaagagaa 840
 acaggagtat ggttttctgg taatgagata aagcaagcat atattaatgg tgatgctggt 900
30 aaatggtata aaacacagca gaatatattt atttatacta aaactattac aaataatatt 960
 gatattaata attatgtgca gttaaaatac atgggtgata atgtatttaa tgaa 1014

<210> 18
 <211> 338
35 <212> PRT
 <213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 18

Val Val Cys Asn Met Asn Lys Lys Asn Ile Ile Leu Leu Leu Ser Ile
 1 5 10 15
 Ile Met Met Leu Ile Val Ser Cys Glu Glu Lys Thr Glu Ser Thr Val
 5 20 25 30
 Thr Ile Gln Lys Tyr Pro Ile Arg Val Gly Tyr Met Pro Asp Phe Ser
 35 40 45
 Gly Ser Ser Ala Val Ala Ile Ala Lys Glu Lys Gly Tyr Phe Asp Glu
 50 55 60
 10 Glu Asn Leu Asp Val Thr Leu Val Glu Phe Leu Asp Gly Pro Ser Glu
 65 70 75 80
 Val Glu Glu Met Leu Leu Lys Asn Leu Glu Phe Ala Tyr Ile Gly His
 85 90 95
 Gly Ala His Ala Leu Ala Ile Glu Gly Lys Val Asn Val Leu Phe Pro
 15 100 105 110
 Asn Gly Leu Ser Arg Ser Glu Gln Ile Ile Val Arg Asn Ala Ser Gln
 115 120 125
 Ile Glu Ser Ile Lys Asp Leu Arg Gly Lys Lys Val Gly Thr Gln Leu
 130 135 140
 20 Gly Thr Ser Ser Glu Ile Leu Leu Tyr Leu Ala Leu Gln Ser Leu Gly
 145 150 155 160
 Ile Lys Ala Glu Glu Val Asp Ile Ile Asn Met Asp Gly Asn Thr Ile
 165 170 175
 Val Ser Ser Ile Ala Asp Gly Thr Ile Asp Ala Ala Ser Val Gln Ala
 25 180 185 190
 Pro Tyr Thr Phe Glu Ile Leu Asn Asn Thr Glu Asn Asn Val Lys Ser
 195 200 205
 Ile Ala Thr Thr Val Asp Tyr Ser Asp Val Gly Ser Phe Pro Ser Ser
 210 215 220
 30 Trp Ile Val Thr Pro Ser Tyr Gln Ser Asn Asn Thr Asp Ile Val Asn
 225 230 235 240
 Arg Phe Ser Arg Ala Ile Leu Lys Ala Met Asp Tyr Arg Gln Leu Asn
 245 250 255
 Met Ser Glu Ala Val Gln Leu Val Ala Asn Met Asn Ser Lys Thr Val
 35 260 265 270
 Glu Glu Val Asp Leu Glu Arg Glu Thr Gly Val Trp Phe Ser Gly Asn
 275 280 285

Glu Ile Lys Gln Ala Tyr Ile Asn Gly Asp Ala Gly Lys Trp Tyr Lys
290 295 300
Thr Gln Gln Asn Ile Phe Ile Tyr Thr Lys Thr Ile Thr Asn Asn Ile
305 310 315 320
5 Asp Ile Asn Asn Tyr Val Gln Leu Lys Tyr Met Val Asp Asn Val Phe
325 330 335
Asn Glu

10

<210> 19
<211> 981
<212> DNA
<213> Brachyspira hyodysenteriae

15

<400> 19
atgaaaaaag ttttattagc tgaacattt attttatat ttagttttt aatatcatgc 60
ggtaagaaaa caaatgaaaa tgcaggtaaa ataagagtag catatcaccc aaatgtagga 120
ggagctctg caataattac aggtatacag cagaattatt ttaaagatga aggtttggat 180
20 atagaacttg ttaaatttac aagcggacct acagaaatag cagctatggt ttcaggagat 240
atacaaatag gttatatagg tttggagca catacattgg cagcagaagg aaaagttcaa 300
ataatagcta ctgacggaat agctgttgta gaaggtatta gaacattaaa aacttcaggc 360
ataaactctg ttgaaaaatt aaaaggcaga agtttaataa ctcaattagg tacatcagga 420
gaaactatta tagatcaggt attagcagga acaggagtta ataaaacaga tataaatata 480
25 cttaatgctg aagtttcaag tgctgttgca tcattcttgg ctaataaagt tgatgctata 540
tctgtatggc ctccttatac tgttgaaata gataatagaa ttggtataga gaatttgtat 600
attataaaac ctcaggatgt aggagttgat tctactgcaa gctggatagt aactcctaac 660
tatttgaag ctaatactga tacagttata aaattcaca gagcattata taaatcaatg 720
gattatagaa aatcacattt agatgaagct attacaaatg tatcaaactt tataggttta 780
30 gatatagcta cagtttcaca agagaaatac agttctgact ggatggattc tcaaacaatg 840
aaaagcagaa taaatgacgg aagcataagt aatatttata aaaaacaaat agactatttt 900
gtacagaata atagattaaa ttctgagcct gttcctgtag acaaatatgt aagaatcgac 960
attatagaaa aagcattaaa t 981

35

<210> 20
<211> 327
<212> PRT

<213> *Brachyspira hyodysenteriae*

<400> 20

Met Lys Lys Val Leu Leu Ala Val Thr Phe Ile Phe Ile Phe Ser Phe
5 1 5 10 15
Leu Ile Ser Cys Gly Lys Lys Thr Asn Glu Asn Ala Gly Lys Ile Arg
 20 25 30
Val Ala Tyr His Pro Asn Val Gly Gly Ala Ser Ala Ile Ile Thr Gly
 35 40 45
10 Ile Gln Gln Asn Tyr Phe Lys Asp Glu Gly Leu Asp Ile Glu Leu Val
 50 55 60
Lys Phe Thr Ser Gly Pro Thr Glu Ile Ala Ala Met Val Ser Gly Asp
65 70 75 80
Ile Gln Ile Gly Tyr Ile Gly Phe Gly Ala His Thr Leu Ala Ala Glu
15 85 90 95
Gly Lys Val Gln Ile Ile Ala Thr Asp Gly Ile Ala Val Val Glu Gly
 100 105 110
Ile Arg Thr Leu Lys Thr Ser Gly Ile Asn Ser Val Glu Lys Leu Lys
 115 120 125
20 Gly Arg Ser Leu Ile Thr Gln Leu Gly Thr Ser Gly Glu Thr Ile Ile
 130 135 140
Asp Gln Val Leu Ala Gly Thr Gly Val Asn Lys Thr Asp Ile Asn Ile
145 150 155 160
Leu Asn Ala Glu Val Ser Ser Ala Val Ala Ser Phe Leu Ala Asn Lys
25 165 170 175
Val Asp Ala Ile Ser Val Trp Pro Pro Tyr Thr Val Glu Ile Asp Asn
 180 185 190
Arg Ile Gly Ile Glu Asn Leu Tyr Ile Ile Lys Pro Gln Asp Val Gly
 195 200 205
30 Val Asp Ser Thr Ala Ser Trp Ile Val Thr Pro Asn Tyr Leu Glu Ala
 210 215 220
Asn Thr Asp Thr Val Ile Lys Phe Thr Arg Ala Leu Tyr Lys Ser Met
225 230 235 240
Asp Tyr Arg Lys Ser His Leu Asp Glu Ala Ile Thr Asn Val Ser Asn
35 245 250 255
Leu Ile Gly Leu Asp Ile Ala Thr Val Ser Gln Glu Lys Tyr Ser Ser
 260 265 270

Asp Trp Met Asp Ser Gln Thr Met Lys Ser Arg Ile Asn Asp Gly Ser

275

280

285

Ile Ser Asn Ile Tyr Lys Lys Gln Ile Asp Tyr Phe Val Gln Asn Asn

290

295

300

5 Arg Leu Asn Ser Glu Pro Val Pro Val Asp Lys Tyr Val Arg Ile Asp

305

310

315

320

Ile Ile Glu Lys Ala Leu Asn

325

10

<210> 21

<211> 1011

<212> DNA

<213> *Brachyspira hyodysenteriae*

15

<400> 21

atgaaaaaaaa ctatgtttat ttctatttta tcaatggcag tgatatcttt aataatatcc 60

tggtcaggag gaaataaagc tctgtctgct tcagcagatg gtacacttga taaaataaga 120

gttgcttatt ttgcagattt tgcaggaact tcttctgttg ctatagctca ggaaaaaaggt 180

20 tttttaag aagaaaatt agatgtgaa ttagttaaatt tttaaattg accttctgaa 240

gttgctgcta tgctctctgg agatatacaa ttgcatata taggacatgg tgcacattct 300

ctagctattc aaggtaaagt taatgtatta ttctaatg gtttaggtaa atctgaagaa 360

attatagtgtg gtaaattggc caatgttaat gatttagcag gattaaagg aaaaactata 420

ggtactcagc ttgtacttc tggagatata gtattggata ttgcattaag aaaagttaga 480

25 ctttcaaag aagatgttaa tgttgtcaat atggatgtaa gcggaataqt atcttctatg 540

attggtaaaa aagtagatgc agttcttta tgggctcctt atacttttga aataactaaa 600

cagcttgag atgaagctgt tgaattgct tctattaca attattaga tgaagctgta 660

tttcctagca gttagatagt tactcctgat tatcaaaata ataatcaaga catagtgaat 720

agattctcta aagctatatt taaagctatg gattatagaa gtgagaatat ggatgaggct 780

30 gttgaaattg tagctaaatt aaatggaact cctgttgatt ctgttgcttt agaaaaagaa 840

actgctatat ggcttagttc ttctgatata aaaaattctt atactgatgg aacagctgct 900

aaatggtatc aagctcagca gaaaatattt ttaaactcag aagtagttac tgaagaagta 960

gatgttaata attatgtaca gataaattat ataattgata atgtgcttaa a 1011

35 <210> 22

<211> 337

<212> PRT

<213> *Brachyspira hyodysenteriae*

<400> 22

Met Lys Lys Thr Met Phe Ile Ser Ile Leu Ser Met Ala Val Ile Ser
 5 1 5 10 15
 Leu Ile Ile Ser Cys Ser Gly Gly Asn Lys Ala Pro Ala Ala Ser Ala
 20 25 30
 Asp Gly Thr Leu Asp Lys Ile Arg Val Ala Tyr Leu Ala Asp Phe Ala
 35 40 45
 10 Gly Thr Ser Ser Val Ala Ile Ala Gln Glu Lys Gly Phe Phe Lys Glu
 50 55 60
 Glu Asn Leu Asp Val Glu Leu Val Lys Phe Leu Asn Gly Pro Ser Glu
 65 70 75 80
 Val Ala Ala Met Leu Ser Gly Asp Ile Gln Phe Ala Tyr Ile Gly His
 15 85 90 95
 Gly Ala His Ser Leu Ala Ile Gln Gly Lys Val Asn Val Leu Phe Pro
 100 105 110
 Asn Gly Leu Gly Lys Ser Glu Glu Ile Ile Val Gly Lys Trp Ala Asn
 115 120 125
 20 Val Asn Asp Leu Ala Gly Leu Lys Gly Lys Thr Ile Gly Thr Gln Leu
 130 135 140
 Gly Thr Ser Gly Asp Ile Val Leu Asp Ile Ala Leu Arg Lys Val Gly
 145 150 155 160
 Leu Ser Lys Glu Asp Val Asn Val Val Asn Met Asp Val Ser Gly Ile
 25 165 170 175
 Val Ser Ser Met Ile Gly Lys Lys Val Asp Ala Val Ser Leu Trp Ala
 180 185 190
 Pro Tyr Thr Phe Glu Ile Thr Lys Gln Leu Gly Asp Glu Ala Val Val
 195 200 205
 30 Ile Ala Ser Ile Thr Asn Tyr Leu Asp Glu Ala Val Phe Pro Ser Ser
 210 215 220
 Trp Ile Val Thr Pro Asp Tyr Gln Asn Asn Asn Gln Asp Ile Val Asn
 225 230 235 240
 Arg Phe Ser Lys Ala Ile Phe Lys Ala Met Asp Tyr Arg Ser Glu Asn
 35 245 250 255
 Met Asp Glu Ala Val Glu Ile Val Ala Lys Leu Asn Gly Thr Pro Val
 260 265 270

Asp Ser Val Ala Leu Glu Lys Glu Thr Ala Ile Trp Leu Ser Ser Ser
275 280 285
Asp Ile Lys Asn Ser Tyr Thr Asp Gly Thr Ala Ala Lys Trp Tyr Gln
290 295 300
5 Ala Gln Gln Lys Ile Phe Leu Asn Ser Glu Val Val Thr Glu Glu Val
305 310 315 320
Asp Val Asn Asn Tyr Val Gln Ile Asn Tyr Ile Ile Asp Asn Val Leu
325 330 335
Lys
10

<210> 23
<211> 615
15 <212> DNA
<213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 23
atggcaagaa gaaaaaagaa aaaatcatct cctttattaa tactatttat ttattaata 60
20 gcagcaggat actattatta taataatata tataataaaa aagaaatatt aaaaacagaa 120
aagcccaaaa aagaaactat tacaagatac aatagagatg attggggaga ttgggctgat 180
gaagataatg acggacttaa tacaaggcat gaggtattag caagagcatc attagtaaaa 240
cctgtaatat ctaataacag agtaatatca ggaaaatggt atgataagtt tacaggaaaa 300
tattttacta atgcaaaaga ttagatata gatcatttag tgcctttaa aaatgcacat 360
25 atcagcgggtg ctagtaattg gagtaaagaa aagaaaaatg aatactacaa ttatatgaaa 420
aacgaaaatc atttgtagc tgatcaaaa ggtgcaaatt gttctaaagg tgataaatcc 480
ccggtagaat ggctccctcc taatgaagaa tatcaatgag aatatgtaag agaattggtat 540
aaaatcaaaa ccgattgggg gcttacaata gaagaagggt ttgatgaagt tcaaacaga 600
gtatgcaaag gaaaa 615
30

<210> 24
<211> 205
<212> PRT
<213> Brachyspira hyodysenteriae
35

<400> 24
Met Ala Arg Arg Lys Lys Lys Lys Ser Ser Pro Leu Leu Ile Leu Phe

113

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

<210> 25

<211> 264

30 <212> DNA

<213> *Brachyspira hyodysenteriae*

<400> 25

atgaataaaa tttttatga taaagcttgg gaagattatc tttatttca aaagaatgac 60
 35 aaaaaaatat tacagaaaat taatgatttt ataaaagata tagaaagaaa tggcttatta 120
 attggtatag gaaaaccaga gagattaa ggtgagttaa acggattgta ttcaaggcta 180
 ataaatcaag aacatagatt agtatattat attgaagata ataatttatt tatagttgga 240

tgtaaaacac attataaaaa taat 264

<210> 26

<211> 88

5 <212> PRT

<213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 26

Met Asn Lys Ile Phe Tyr Asp Lys Ala Trp Glu Asp Tyr Leu Tyr Phe

10 1 5 10 15

Gln Lys Asn Asp Lys Lys Ile Leu Gln Lys Ile Asn Asp Phe Ile Lys

20 25 30

Asp Ile Glu Arg Asn Gly Leu Leu Ile Gly Ile Gly Lys Pro Glu Arg

35 40 45

15 Leu Lys Gly Glu Leu Asn Gly Leu Tyr Ser Arg Leu Ile Asn Gln Glu

50 55 60

His Arg Leu Val Tyr Tyr Ile Glu Asp Asn Asn Leu Phe Ile Val Gly

65 70 75 80

Cys Lys Thr His Tyr Lys Asn Asn

20 85

<210> 27

<211> 1503

25 <212> DNA

<213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 27

gtgtaagga aatgatata tattatTTTT ttgcattcaa ttcttttaa ttttttatt 60

30 ttgcacaaa ctaatgaatc agctatatta aattacactc aatatatgga aagaataaaa 120

tccataatac cagaaatgaa attaactgca tctcaagaaa gcaatgccta taataattta 180

acaaaagcaa aaagctccgg agacgttaaa ttgatttgc aggctggtgc tataggaatg 240

caaagccatt ttgatgaata caattttta gcaacatcag attttaatta taatgggttt 300

agaatagggtg caggattcag cggacttcta ccatactctg gaactagatg gtctgtagaa 360

35 attaaacatg acagttttt cggcgacttt aatacaggag atatttcatt accggttgat 420

acgcctctag gtagaataaa tggaaaactt ccaaatttaa gtactaatga ttttaaatac 480

tattatccaa geataaaaaat tcaaatagct cagcctattt taagggatTT ttttggtaaa 540

ttgatagat abcctataaa agatgcagaa tatcagctta ccatagcaaa attaaaaaga 600
 ataatagacg acaacagcgt attaacatct tatcagaaaa ttattatca atggataatg 660
 gcaagaaaat taatagattt atatgatgat atgataagag aagcaagaag ttgtgaaat 720
 caagtataca gaagatatac aagcggagtt atagataatg actcatatca gaatgcaaaa 780
 5 agacaaacat taaaatatat agaagcaaga gataaatctg aattaatgct taaaaaata 840
 atgagaaata ttcaattctt tatacctgaa gaaaatatac agccaaatga agatgattgg 900
 aatcagacat tagaaacctc tataaatgct aaaatagata tagtaccatt ttagaaagt 960
 gctcagggac aaatggctta tcaattaaaa ttaagaagcg aatatgctat ttcagtaatg 1020
 aaaaataatg ctctgcctga ttatctata gtaggaagcg tatcattatc aagtttagat 1080
 10 gacagcggat attttaaate ttttctacc atgactaatg ttgattattt ttagggcctt 1140
 atgtttcct accccatagg cggacgtgat gctaaagcta aaatggaaga tgcttatgct 1200
 gctttgaatg ctgttacggc tgatttgat aggggaaca gagatttga cgttcagata 1260
 ggtacttatt atgatgagtt tgaggcatac aaaaaaatgc tagaaaataa aaaattggaa 1320
 gttaatgcta tagtatcaag aataaatatc caaatgcta aattcagaca aggaagactc 1380
 15 cctatagatg aaataataaa tgcaaggctt gatttagcac aggcaagagc agaacttctt 1440
 aattgcagt attaataat aagcactgtt atggattata attctctggt gctgcttaac 1500
 aat 1503

<210> 28
 20 <211> 501
 <212> PRT
 <213> *Brachyspira hyodysenteriae*

<400> 28
 25 Val Leu Arg Lys Leu Ile Tyr Ile Ile Phe Leu His Ser Ile Leu Phe
 1 5 10 15
 Asn Phe Phe Ile Phe Ala Gln Thr Asn Glu Ser Ala Ile Leu Asn Tyr
 20 25 30
 Thr Gln Tyr Met Glu Arg Ile Lys Ser Ile Ile Pro Glu Met Lys Leu
 30 35 40 45
 Thr Ala Ser Gln Glu Ser Asn Ala Tyr Asn Asn Leu Thr Lys Ala Lys
 50 55 60
 Ser Ser Gly Asp Val Lys Phe Asp Leu Gln Ala Gly Ala Ile Gly Met
 65 70 75 80
 35 Gln Ser His Phe Asp Glu Tyr Asn Phe Leu Ala Thr Ser Asp Phe Asn
 85 90 95
 Tyr Asn Gly Phe Arg Ile Gly Ala Gly Phe Ser Gly Leu Val Pro Tyr

100 105 110
Ser Gly Thr Arg Trp Ser Val Glu Ile Lys His Asp Ser Phe Phe Gly
115 120 125
Asp Phe Asn Thr Gly Asp Ile Ser Leu Pro Val Asp Thr Pro Leu Gly
5 130 135 140
Arg Ile Asn Gly Lys Leu Pro Asn Leu Ser Thr Asn Asp Phe Lys Tyr
145 150 155 160
Tyr Tyr Pro Ser Ile Lys Ile Gln Ile Ala Gln Pro Ile Leu Arg Asp
165 170 175
10 Phe Phe Gly Lys Leu Asp Arg Tyr Pro Ile Lys Asp Ala Glu Tyr Gln
180 185 190
Leu Thr Ile Ala Lys Leu Lys Arg Ile Ile Asp Asp Asn Ser Val Leu
195 200 205
Thr Ser Tyr Gln Lys Ile Tyr Tyr Gln Trp Ile Met Ala Arg Lys Leu
15 210 215 220
Ile Asp Leu Tyr Asp Asp Met Ile Arg Glu Ala Arg Ser Phe Glu Asn
225 230 235 240
Gln Val Tyr Arg Arg Tyr Thr Ser Gly Val Ile Asp Asn Asp Ser Tyr
245 250 255
20 Gln Asn Ala Lys Arg Gln Thr Leu Lys Tyr Ile Glu Ala Arg Asp Lys
260 265 270
Ser Glu Leu Met Leu Lys Lys Ile Met Arg Asn Ile Gln Phe Phe Ile
275 280 285
Pro Glu Glu Asn Ile Gln Pro Asn Glu Asp Asp Trp Asn Gln Thr Leu
25 290 295 300
Glu Thr Ser Ile Asn Ala Lys Ile Asp Ile Val Pro Phe Leu Glu Ser
305 310 315 320
Ala Gln Gly Gln Met Ala Tyr Gln Leu Lys Leu Arg Ser Glu Tyr Ala
325 330 335
30 Ile Ser Val Met Lys Asn Asn Ala Leu Pro Asp Leu Ser Ile Val Gly
340 345 350
Ser Val Ser Leu Ser Ser Leu Asp Asp Ser Gly Tyr Phe Lys Ser Phe
355 360 365
Ser Thr Met Thr Asn Val Asp Tyr Phe Val Gly Leu Met Phe Ser Tyr
35 370 375 380
Pro Ile Gly Gly Arg Asp Ala Lys Ala Lys Met Glu Asp Ala Tyr Ala
385 390 395 400

Ala Leu Asn Ala Val Thr Ala Asp Phe Asp Arg Val Asn Arg Asp Phe
405 410 415
Asp Val Gln Ile Gly Thr Tyr Tyr Asp Glu Phe Glu Ala Tyr Lys Lys
420 425 430
5 Met Leu Glu Asn Lys Lys Leu Glu Val Asn Ala Ile Val Ser Arg Ile
435 440 445
Asn Thr Gln Asn Ala Lys Phe Arg Gln Gly Arg Leu Pro Ile Asp Glu
450 455 460
Ile Ile Asn Ala Arg Leu Asp Leu Ala Gln Ala Arg Ala Glu Leu Leu
10 465 470 475 480
Asn Leu Gln Tyr Leu Ile Ile Ser Thr Val Met Asp Tyr Asn Ser Leu
485 490 495
Val Leu Leu Asn Asn
500
15

<210> 29
<211> 1386
<212> DNA
20 <213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 29
atggaaatac tactagtta ttatttgaa atattataa ttattattct tattatgctc 60
tctgctttat ttctggaag tgagactgca tatacatcta ttgatgatgt tactttaatg 120
25 cgtttggtca gagagaaaa aatcaaagaa gaagataaaa aatattggga aaagtcaagt 180
tctatgatac ctaccctact tgttggaat aacatagtta atatatcagc aagttccatt 240
ataactgtat ttgctgtaag gcttgctgac attctgccgc atgtatcaac aaatgtgatg 300
gttacaatat caactgccac aataacaata cttattatta tattcggaaga aatacttct 360
aaagtcttaa tgagagttaa tgctgaaaaa atgatgcctt atcttctata tttatgaag 420
30 tttgtcatt ttatattcaa gcctataact ttcttaatgg ataaagtaac tactttata 480
atgaattatt ttgtacctaa aagattaaga gatgctgaaa aaagaagtgc ttatcaagt 540
atggaagata tcactactat aatacatttg gggcataaag aaggaataat aaaagaatat 600
acacatgaaa tgcttacagg agtaatagat ttagaaaata aaactgtaga agagataatg 660
acgccccgtg ttgatatggt atgtattgaa gctgaaacag atgtaaatga aataataaaa 720
35 cttactgtag aatcaggact tcaagattt cctgtttatg aggaaacagt agatcatata 780
ataggtatat tccatacaag agctttattt aaagaatatg ttaaaggcgg cggaaagatg 840
aaciaagtaa aaaagaaagc aatagattat ataatgcttc cctactttgt acctgaaact 900

aaaactataa gcagcttatt tagtgatatg caaaagaaaa aacttcagat ggtaattact 960
attgatgaat acggcggaac tgccggactt gttactatgg aagatataat agaagagata 1020
atgggtgata tagaagatga aagtgataaa aaagaagctg atgtaataag atttaagggga 1080
aaaagaatta taataaatgg aatgcttct atagaagatg tcaacaaaac tttaaatta 1140
5 gaattagagc atgaagaata tcaaaactata gcaggatatg ttattgatat gcttgatcat 1200
atacctgaaa caaatgagag attcatatta aaaggatata gggtaagaat aatgaaagt 1260
gaagacagaa gaatagttga aatggaattt actcctataa aatttgcaag aacaaatgaa 1320
agtgataata ttgatataca agagacatct gattcagaaa aaaatgattt agaaatttta 1380
aatgaa 1386

10

<210> 30
<211> 462
<212> PRT
<213> Brachyspira hyodysenteriae

15

<400> 30
Met Glu Ile Leu Leu Val Tyr Leu Phe Glu Ile Phe Ile Ile Ile Ile
1 5 10 15
Leu Ile Met Leu Ser Ala Leu Phe Ser Gly Ser Glu Thr Ala Tyr Thr
20 20 25 30
Ser Ile Asp Asp Val Thr Leu Met Arg Leu Val Arg Glu Lys Lys Ile
35 40 45
Lys Glu Glu Asp Lys Lys Tyr Trp Glu Lys Ser Ser Ser Met Ile Pro
50 55 60
25 Thr Leu Leu Val Gly Asn Asn Ile Val Asn Ile Ser Ala Ser Ser Ile
65 70 75 80
Ile Thr Val Phe Ala Val Arg Leu Ala Asp Ile Leu Pro His Val Ser
85 90 95
Thr Asn Val Met Val Thr Ile Ser Thr Ala Thr Ile Thr Ile Leu Ile
30 100 105 110
Ile Ile Phe Gly Glu Ile Leu Pro Lys Val Leu Met Arg Val Asn Ala
115 120 125
Glu Lys Met Met Pro Tyr Leu Leu Tyr Phe Met Lys Phe Cys His Phe
130 135 140
35 Ile Phe Lys Pro Ile Thr Phe Leu Met Asp Lys Val Thr Thr Phe Ile
145 150 155 160
Met Asn Tyr Phe Val Pro Lys Arg Leu Arg Asp Ala Glu Lys Arg Ser

165 170 175
 Ala Leu Ser Ser Met Glu Asp Ile Thr Thr Ile Ile His Leu Gly His
 180 185 190
 Lys Glu Gly Ile Ile Lys Glu Tyr Thr His Glu Met Leu Thr Gly Val
 5 195 200 205
 Ile Asp Phe Arg Asn Lys Thr Val Glu Glu Ile Met Thr Pro Arg Val
 210 215 220
 Asp Met Val Cys Ile Glu Ala Glu Thr Asp Val Asn Glu Ile Ile Lys
 225 230 235 240
 10 Leu Thr Val Glu Ser Gly Leu Ser Arg Phe Pro Val Tyr Glu Glu Thr
 245 250 255
 Val Asp His Ile Ile Gly Ile Phe His Thr Arg Ala Leu Phe Lys Glu
 260 265 270
 Tyr Val Lys Gly Gly Gly Lys Met Asn Lys Val Lys Lys Lys Ala Ile
 15 275 280 285
 Asp Tyr Ile Met Leu Pro Tyr Phe Val Pro Glu Thr Lys Thr Ile Ser
 290 295 300
 Ser Leu Phe Ser Asp Met Gln Lys Lys Lys Leu Gln Met Val Ile Thr
 305 310 315 320
 20 Ile Asp Glu Tyr Gly Gly Thr Ala Gly Leu Val Thr Met Glu Asp Ile
 325 330 335
 Ile Glu Glu Ile Met Gly Asp Ile Glu Asp Glu Ser Asp Lys Lys Glu
 340 345 350
 Ala Asp Val Ile Arg Phe Lys Gly Lys Arg Ile Ile Ile Asn Gly Asn
 25 355 360 365
 Ala Ser Ile Glu Asp Val Asn Lys Thr Leu Lys Leu Glu Leu Glu His
 370 375 380
 Glu Glu Tyr Gln Thr Ile Ala Gly Tyr Val Ile Asp Met Leu Asp His
 385 390 395 400
 30 Ile Pro Glu Thr Asn Glu Arg Phe Ile Leu Lys Gly Tyr Arg Val Arg
 405 410 415
 Ile Met Lys Val Glu Asp Arg Arg Ile Val Glu Met Glu Phe Thr Pro
 420 425 430
 Ile Lys Phe Ala Arg Thr Asn Glu Ser Asp Asn Ile Asp Ile Gln Glu
 35 435 440 445
 Thr Ser Asp Ser Glu Lys Asn Asp Leu Glu Ile Leu Asn Glu
 450 455 460

<210> 31

<211> 1080

5 <212> DNA

<213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 31

atgaaagagt taggaatatc catttaccct tttactcaa aaatggaaga taataaatat 60
10 tatatagatt tggcttctaa atacggattc gcaagatggt ttatgtgtct gctttcagtt 120
gatagatcta aagatgaaat aataaatgaa tttcaacta taataaatta tgctaaagaa 180
aaaggataaa aaactacttt agatatatct ccggctgtat tcaaacattt ggatatagat 240
tataaaaaatc ttgacttttt tcataaattg ggagcttggg gcgtaagatt agatttaggg 300
tttacaggta atgaagaaag ttaatgaca tataacgaat atgatttgaa aatagaatta 360
15 aatatgagca atgatacaga ttatcttgat aatataatga aatattatcc taatactgat 420
aatttgatag gctgttataa ttctatcct catgcatata caggactaga cagaacactt 480
tttaaaagca gcatgaaacg tttaaaaaaa tattctataa gtcatctgc attgttaat 540
gccaaagaag ctacttttgg accttggcct gtaagcgatg gtatttgcac attggaagaa 600
catagagata tgcctataga tgcacaggct atggaattat ttgctcttgg tgttgactgt 660
20 gttttcattg ctaactgtta tgcagatgaa aatactttta aaacattata taatatggat 720
aaaagattaa taacttttaa agtagaatta gttgattcta ttctaaaga agaaaagagt 780
atagtattag atatgcttca tcaaaacaga ttagatgctt ctgctgatgt tataagatct 840
tcagatacaa gagcaaaata taaggacat aatttcaaaa tatttaatgc tgtttccgat 900
ataaaaagag gagatatatt aatagattca tcagaatacg gcagttatac cggagaaatg 960
25 cagatagctt tgaaagattt aaaaaatacc ggaagaacta atgtagtagg cagaattaa 1020
gatgaatatt tatttctgct agattatata agtccggcta aaagatttat tataagagaa 1080

<210> 32

30 <211> 360

<212> PRT

<213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 32

35 Met Lys Glu Leu Gly Ile Ser Ile Tyr Pro Phe His Ser Lys Met Glu
1 5 10 15
Asp Asn Lys Tyr Tyr Ile Asp Leu Ala Ser Lys Tyr Gly Phe Ala Arg

20 25 30
 Cys Phe Met Cys Leu Leu Ser Val Asp Arg Ser Lys Asp Glu Ile Ile
 35 40 45
 Asn Glu Phe Ser Thr Ile Ile Asn Tyr Ala Lys Glu Lys Gly Ile Lys
 5 50 55 60
 Thr Thr Leu Asp Ile Ser Pro Ala Val Phe Lys His Leu Asp Ile Asp
 65 70 75 80
 Tyr Lys Asn Leu Asp Phe Phe His Lys Leu Gly Ala Trp Gly Val Arg
 85 90 95
 10 Leu Asp Leu Gly Phe Thr Gly Asn Glu Glu Ser Leu Met Thr Tyr Asn
 100 105 110
 Glu Tyr Asp Leu Lys Ile Glu Leu Asn Met Ser Asn Asp Thr Asp Tyr
 115 120 125
 Leu Asp Asn Ile Met Lys Tyr Tyr Pro Asn Thr Asp Asn Leu Ile Gly
 15 130 135 140
 Cys Tyr Asn Phe Tyr Pro His Ala Tyr Thr Gly Leu Asp Arg Thr Leu
 145 150 155 160
 Phe Lys Ser Ser Met Lys Arg Phe Lys Lys Tyr Ser Ile Ser Ser Ser
 165 170 175
 20 Ala Phe Val Asn Ala Lys Glu Ala Thr Phe Gly Pro Trp Pro Val Ser
 180 185 190
 Asp Gly Ile Cys Thr Leu Glu Glu His Arg Asp Met Pro Ile Asp Ala
 195 200 205
 Gln Ala Met Glu Leu Phe Ala Leu Gly Val Asp Cys Val Phe Ile Ala
 25 210 215 220
 Asn Cys Tyr Ala Asp Glu Asn Thr Phe Lys Thr Leu Tyr Asn Met Asp
 225 230 235 240
 Lys Arg Leu Ile Thr Phe Lys Val Glu Leu Val Asp Ser Ile Pro Lys
 245 250 255
 30 Glu Glu Lys Ser Ile Val Leu Asp Met Leu His Gln Asn Arg Leu Asp
 260 265 270
 Ala Ser Ala Asp Val Ile Arg Ser Ser Asp Thr Arg Ala Lys Tyr Lys
 275 280 285
 Gly His Asn Phe Lys Ile Phe Asn Ala Val Ser Asp Ile Lys Arg Gly
 35 290 295 300
 Asp Ile Leu Ile Asp Ser Ser Glu Tyr Gly Ser Tyr Thr Gly Glu Met
 305 310 315 320

Gln Ile Ala Leu Lys Asp Leu Lys Asn Thr Gly Arg Thr Asn Val Val
 325 330 335
 Gly Arg Ile Lys Asp Glu Tyr Leu Phe Leu Leu Asp Tyr Ile Ser Pro
 340 345 350
 5 Ala Lys Arg Phe Ile Ile Arg Glu
 355 360

<210> 33
 10 <211> 2574
 <212> DNA
 <213> Brachyspira hyodysenteriae

 <400> 33
 15 ttgatgaaga aatacaagcc tgaaacaaaa caagaattag aacaattggg atatactgac 60
 ggaataaaac tctatgatgt agatacgagt cttataacag atatgagcga gcttttcat 120
 aacagcacca gaaaagattt tgaaggcata gaagattggg acgtttctaa tgttgaggat 180
 atgtcctata tgttgccca tatgagttat gatagttatg aaaaccgttc taaagctaag 240
 tttaatcata atcttaataa ttggaatgta tctaaagtta agcatatgag ttttatgttt 300
 20 tattattgtc aggattttaa tcagccttta gataaatggg acgtttctaa tggtcaggat 360
 acatttagaa tgttgataa ttgtaaaaaa ttcaatcagc ctttaaatag ctggaatgta 420
 tctaattgaa caaatatgag cggtatgttt caggtagcag aaagttcaa tcagccttta 480
 gacaagtggg acgtttcaaa agttacaact atgagggcta tgtttaatta tgctaaagct 540
 tttaatcaag atataagtaa ttggaatgtt agtaaagttg aagatatggg ttatatgttt 600
 25 agtatatgcg ttaattttaa tcagcctatt aatgattggg acgtatctaa agtaaaaact 660
 atggaaggta tgtttagaag tgcttttaaa ttcaatcagc ctttagataa atggaatact 720
 tcaaagggtg aaaatatgaa tcagatgttt aatgaggcct taaaatttaa tcagccttta 780
 aatagctgga atgtttccaa tgtaaaaaact atggaatgta tgttcgcgg tactgaagct 840
 tttaatcagc ctttgataa atgggataca aaaaaattaa aaacaatgtt tggaatgttt 900
 30 gactttgctg aagggtataa tagtttgac tcattagcaa actgggattt aaataaagta 960
 tcagaaatga gtaatttatg ttttaaaagg tatgaagaac ttctttaag aattaaagca 1020
 tatcttcagg cattttatgg ttcttataaa gattatttaa ctgttacaaa agataatgtc 1080
 aaagaaatat atgatcttat ttcaaaagac acaataaaaa aagttttgtc atttaaaaag 1140
 agattagaaa gcgagtttag tgaggaactt tcatctgtta cagataatta taatttcaaa 1200
 35 tctatagaag aagcagaaaa gtatgttgaa aataattata ataaaaaaga tgataagaaa 1260
 gttagcttta taaatgatta taaagtttg ataaaagata aatcaagaga agtgaaaaat 1320
 aaagttttta aatatatata ttggaatat ttgctcctta aaagagatgt taaaaaatta 1380

gtgcagattg ataatatagt taatttactt gataaagaat catttataaa atttattaaa 1440
 aatgtttatg atgaaactaa taaagaaaca gccgctttta ttatggcat atacggagga 1500
 gatgaggcag taaaaaatat atataaaaaa gaaaaagaca ctaaactttc actattaata 1560
 attaaattaa atatagaaag taaatatgca cttagaatat tatatgaaat atattcaa 1620
 5 acaaaaaaat ctgaagttag ttatgaagct gataaattga ttgatgaagt aatggaaaaa 1680
 atggatatta gttataatga attccaatta agatattcat ctgatttagg atttaattct 1740
 aaaggtgaaa aagaattgaa taaagattat aaattaattt tgaatagcga ttattcttg 1800
 agtcttttg atataaaaaa taataaggaa cttaaaaaag cccctcaaaa tcttaatgaa 1860
 gatttaaaag aagaaataac aaaattaaga aaagaaattc cttattttat gaaaaacact 1920
 10 gcttctcttt tagctgtttt attagcaagc ggtgaaaaat acagttatga ttattcaaa 1980
 gagattttta ttgataatgc cattatgaat agatttgctt catctttaat atggaatcta 2040
 tatgacaaag attctaattt tataacaact ttcagatatt caggcgatgg aagttattca 2100
 aactgtgaag atgaagaagt aaaaattaat gataatagtt ttgtaagttt agcaagccct 2160
 gtggaaatgg atgatgaaac tatagataaa tggagaaaac agcttgaaga ttatgagata 2220
 15 gcacagccaa taagtcaatt aactgtcata aaattagata aagataattt gaaaagcgaa 2280
 gtagaaaaaa tagataattt agaaatagct tatggtactt tcaaggcttt cggtgaaaga 2340
 tatgaaatgt atagcgagta tataggttat gatgttgta aaagttattc attagaatca 2400
 aagaacggag acactttcac tatagacgct gatgttaatt caaaaactga tttcatgac 2460
 agagtaaaaa ttaatattaa tttgataat gaaaatgggtg aggaagtaag taaagattt 2520
 20 atttatactt tgtagtatt aatgatttgg gatttagat taacagattt attt 2574

<210> 34

<211> 858

<212> PRT

25 <213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 34

Leu Met Lys Lys Tyr Lys Pro Glu Thr Lys Gln Glu Leu Glu Gln Leu

1 5 10 15

30 Val Tyr Thr Asp Gly Ile Lys Leu Tyr Asp Val Asp Thr Ser Leu Ile

20 25 30

Thr Asp Met Ser Glu Leu Phe His Asn Ser Thr Arg Lys Asp Phe Glu

35 40 45

Gly Ile Glu Asp Trp Asp Val Ser Asn Val Glu Asp Met Ser Tyr Met

35 50 55 60

Phe Ala His Met Ser Tyr Asp Ser Tyr Glu Asn Arg Ser Lys Ala Lys

65 70 75 80

Phe Asn His Asn Leu Asn Asn Trp Asn Val Ser Lys Val Lys His Met
 85 90 95
 Ser Phe Met Phe Tyr Tyr Cys Gln Asp Phe Asn Gln Pro Leu Asp Lys
 100 105 110
 5 Trp Asp Val Ser Asn Val Gln Asp Thr Phe Arg Met Phe Asp Asn Cys
 115 120 125
 Lys Lys Phe Asn Gln Pro Leu Asn Ser Trp Asn Val Ser Asn Val Thr
 130 135 140
 Asn Met Ser Gly Met Phe Gln Val Ala Glu Ser Phe Asn Gln Pro Leu
 10 145 150 155 160
 Asp Lys Trp Asp Val Ser Lys Val Thr Thr Met Arg Ala Met Phe Asn
 165 170 175
 Tyr Ala Lys Ala Phe Asn Gln Asp Ile Ser Asn Trp Asn Val Ser Lys
 180 185 190
 15 Val Glu Asp Met Gly Tyr Met Phe Ser Ile Cys Val Asn Phe Asn Gln
 195 200 205
 Pro Ile Asn Asp Trp Asp Val Ser Lys Val Lys Thr Met Glu Gly Met
 210 215 220
 Phe Arg Ser Ala Phe Lys Phe Asn Gln Pro Leu Asp Lys Trp Asn Thr
 20 225 230 235 240
 Ser Lys Val Glu Asn Met Asn Gln Met Phe Asn Glu Ala Leu Lys Phe
 245 250 255
 Asn Gln Pro Leu Asn Ser Trp Asn Val Ser Asn Val Lys Thr Met Glu
 260 265 270
 25 Cys Met Phe Arg Gly Thr Glu Ala Phe Asn Gln Pro Leu Asp Lys Trp
 275 280 285
 Asp Thr Lys Lys Leu Lys Thr Met Phe Gly Met Phe Asp Phe Ala Glu
 290 295 300
 Gly Tyr Asn Ser Phe Asp Ser Leu Ala Asn Trp Asp Leu Asn Lys Val
 30 305 310 315 320
 Ser Glu Met Ser Asn Leu Cys Phe Lys Arg Tyr Glu Glu Leu Pro Leu
 325 330 335
 Arg Ile Lys Ala Tyr Leu Gln Ala Phe Tyr Gly Ser Tyr Lys Asp Tyr
 340 345 350
 35 Leu Thr Val Thr Lys Asp Asn Val Lys Glu Ile Tyr Asp Leu Ile Ser
 355 360 365
 Lys Asp Thr Asn Lys Lys Val Leu Ser Phe Lys Lys Arg Leu Glu Ser

370 375 380
 Glu Phe Ser Glu Glu Leu Ser Ser Val Thr Asp Asn Tyr Asn Phe Lys
 385 390 395 400
 Ser Ile Glu Glu Ala Glu Lys Tyr Val Glu Asn Asn Tyr Asn Lys Lys
 5 405 410 415
 Asp Asp Lys Lys Val Ser Phe Ile Asn Asp Tyr Lys Val Leu Ile Lys
 420 425 430
 Asp Lys Ser Arg Glu Val Glu Asn Lys Val Leu Lys Tyr Ile Tyr Leu
 435 440 445
 10 Glu Tyr Leu Leu Leu Lys Arg Asp Val Lys Lys Leu Val Gln Ile Asp
 450 455 460
 Asn Ile Val Asn Leu Leu Asp Lys Glu Ser Phe Ile Lys Phe Ile Lys
 465 470 475 480
 Asn Val Tyr Asp Glu Thr Asn Lys Glu Thr Ala Ala Phe Ile Tyr Gly
 15 485 490 495
 Ile Tyr Gly Gly Asp Glu Ala Val Lys Asn Ile Tyr Lys Lys Glu Lys
 500 505 510
 Asp Thr Lys Leu Ser Leu Leu Ile Ile Lys Leu Asn Ile Glu Ser Lys
 515 520 525
 20 Tyr Ala Leu Arg Ile Leu Tyr Glu Ile Tyr Ser Asn Thr Lys Lys Ser
 530 535 540
 Glu Val Ser Tyr Glu Ala Asp Lys Leu Ile Asp Glu Val Met Glu Lys
 545 550 555 560
 Met Asp Ile Ser Tyr Asn Glu Phe Gln Leu Arg Tyr Ser Ser Asp Leu
 25 565 570 575
 Gly Phe Asn Ser Lys Gly Glu Lys Glu Leu Asn Lys Asp Tyr Lys Leu
 580 585 590
 Ile Leu Asn Ser Asp Tyr Ser Leu Ser Leu Phe Asp Ile Lys Asn Asn
 595 600 605
 30 Lys Glu Leu Lys Lys Ala Pro Gln Asn Leu Asn Glu Asp Leu Lys Glu
 610 615 620
 Glu Ile Thr Lys Leu Arg Lys Glu Ile Pro Tyr Phe Met Lys Asn Thr
 625 630 635 640
 Ala Ser Leu Leu Ala Val Leu Leu Ala Ser Gly Glu Lys Tyr Ser Tyr
 35 645 650 655
 Asp Leu Phe Lys Glu Ile Phe Ile Asp Asn Ala Ile Met Asn Arg Phe
 660 665 670

Ala Ser Ser Leu Ile Trp Asn Leu Tyr Asp Lys Asp Ser Asn Phe Ile
675 680 685
Thr Thr Phe Arg Tyr Ser Gly Asp Gly Ser Tyr Ser Asn Cys Glu Asp
690 695 700
5 Glu Glu Val Lys Ile Asn Asp Asn Ser Phe Val Ser Leu Ala Ser Pro
705 710 715 720
Val Glu Met Asp Asp Glu Thr Ile Asp Lys Trp Arg Lys Gln Leu Glu
725 730 735
Asp Tyr Glu Ile Ala Gln Pro Ile Ser Gln Leu Thr Val Ile Lys Leu
10 740 745 750
Asp Lys Asp Asn Leu Lys Ser Glu Val Glu Lys Ile Asp Asn Leu Glu
755 760 765
Ile Ala Tyr Gly Thr Phe Lys Ala Phe Gly Glu Arg Tyr Glu Met Tyr
770 775 780
15 Ser Glu Tyr Ile Gly Tyr Asp Val Val Lys Ser Tyr Ser Leu Glu Ser
785 790 795 800
Lys Asn Gly Asp Thr Phe Thr Ile Asp Ala Asp Val Asn Ser Lys Thr
805 810 815
Asp Phe His Asp Arg Val Lys Ile Asn Ile Asn Phe Asp Asn Glu Asn
20 820 825 830
Gly Glu Glu Val Ser Lys Arg Phe Ile Tyr Thr Leu Leu Val Leu Met
835 840 845
Ile Trp Asp Phe Arg Leu Thr Asp Leu Phe
850 855
25

<210> 35
<211> 2100
<212> DNA
30 <213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 35
atgagaataa aacttctagc gggtatagta ttatttttaa tgactatatc gctttcatac 60
actttcgaca aaactccgta ttatgtaaac acagaaactt atgactcata cagagagtta 120
35 ttgagagggg tgcattatta taatcaggaa agatatgatg catccatagc tagttttaga 180
aactctctta atacaaatcc tactgataag ttcataagat attggtatag taagtcttta 240
tacaaagccg gatatatgtc cttagctatt aatgaatggc ttaatattac gagaatgggt 300

tatgaagatc ctataatact ttctaaaatt aataaatatg attctgcaaa tgftaatgaa 360
 gagagagaaa atattttgag taattttatt tatttgaaag cattctctac aaatcttaat 420
 tttagaaaaa atattaatca gcctatacaa ataaaagtaa tgtctgatgg aagtttatat 480
 gtttggatt atagtgattc tcattaaag aaatttgata ttaatggaaa tctaataggt 540
 5 aaaatatccc atggaaaaag attagaaaaa cagcagacta gctggtggag aaatttactt 600
 cagtttgacg caaaagttta tccttatgaa aaattagaaa atcctagagg tttgatata 660
 gatgcaaacg gatatatata tatagccaat actaaaaaag ataaaatatt aaaatatgat 720
 gctaatacata attatattac aaatattggg gtatccggtg taagtaatgg tcagcttctt 780
 ggaccttcat ctgttgctgt tgatagagaa ggaaatttat atgtttctga tacaggaaat 840
 10 aatagaatag ttatattga tatagaagga aatttcttat atagtttgg aaaacttgg 900
 gaaaataatg gagagttctt ttctctgcg ggcatagcgg ttgatgacaa atatatttat 960
 gttgctgata tgggtaataa aagaatacag caatttgatt tgagcggaaa ttatattcag 1020
 agtataaagc ataatttatt taatgagcct agaggtttat ctttgctaa agatggaaat 1080
 ctttatatag ctgatggaag taaggttttt tattataata tagctgaatc agattttaca 1140
 15 atatttaata attccgaaag atatacagta actcctactt ctattgctga gggacctgat 1200
 ggaaatatat atcttactga tttatgtct ggaagaattg atgtatatac tagaaaagaa 1260
 gaatattacg ctaatttaga tgtatttga gacagagaat atttaaatag attccctgtt 1320
 gtttagactt ctgttacagt gagagataga gctatgaacc ctgtagtgg attaactcct 1380
 gaaaatttct ttgttacaga gaatgcaggt gttgctcata aagttgggtt ttatgatgct 1440
 20 cctgaattgc atgaatatag attcgtgtat ttaatagaag atagtcttgc tgctaaacct 1500
 tatgagagca gaattaaaga agagattagt aattttacta tgagcttaac taataatgat 1560
 gaagttttag ttatacatta taatgatcag gtttacaagt ctgataatta tgatgctaga 1620
 aatttaagaa tacttgaaaa tgctaagctt ttccatttta caggcggaat atctgctttg 1680
 gatgatgctt attatgaagc tataagactt tcaggaaata gtttaagaa aactgctatt 1740
 25 atacattttt cagtaactag tcctgacgac agagtatttg atatgatgaa ctttaatgat 1800
 gtagcaagtt ttgctaaaaa caatgcagtt tcattaaacc aagtttatat cggtaacaaat 1860
 aaatctaatt atttcttaga tttaatgact gagaatactt acggttatat tatagatgct 1920
 gattattcta taaattatac tgctgagctt aatagaatga aaaatataaa ttttgaaga 1980
 tatttcatat actataacag ttttagaaat ttagctcagt caggacagtt tagggctttg 2040
 30 aatgttaagg ttcaatatag agatatgtat ggtgaagaag aagttgggtta ttagtgcca 2100

<210> 36

<211> 700

35 <212> PRT

<213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 36

Met Arg Ile Lys Leu Leu Ala Val Ile Val Leu Phe Leu Met Thr Ile
 1 5 10 15

Ser Leu Ser Tyr Thr Phe Asp Lys Thr Pro Tyr Tyr Val Asn Thr Glu
 5 20 25 30

Thr Tyr Asp Ser Tyr Arg Glu Leu Leu Arg Gly Val His Tyr Tyr Asn
 35 40 45

Gln Glu Arg Tyr Asp Ala Ser Ile Ala Ser Phe Arg Asn Ser Leu Asn
 50 55 60

10 Thr Asn Pro Thr Asp Lys Phe Ile Arg Tyr Trp Tyr Ser Lys Ser Leu
 65 70 75 80

Tyr Lys Ala Gly Tyr Met Ser Leu Ala Ile Asn Glu Trp Leu Asn Ile
 85 90 95

Thr Arg Met Gly Tyr Glu Asp Pro Ile Ile Leu Ser Lys Ile Asn Lys
 15 100 105 110

Tyr Asp Ser Ala Asn Val Asn Glu Glu Arg Glu Asn Ile Leu Ser Asn
 115 120 125

Phe Ile Tyr Leu Lys Ala Phe Ser Thr Asn Leu Asn Phe Arg Lys Asn
 130 135 140

20 Ile Asn Gln Pro Ile Gln Ile Lys Val Met Ser Asp Gly Ser Leu Tyr
 145 150 155 160

Val Leu Asp Tyr Ser Asp Ser Ser Leu Lys Lys Phe Asp Ile Asn Gly
 165 170 175

Asn Leu Ile Gly Lys Ile Ser His Gly Lys Arg Leu Glu Lys Gln Gln
 25 180 185 190

Thr Ser Trp Trp Arg Asn Leu Leu Gln Phe Ala Ala Lys Val Tyr Pro
 195 200 205

Tyr Glu Lys Leu Glu Asn Pro Arg Gly Phe Asp Ile Asp Ala Asn Gly
 210 215 220

30 Tyr Ile Tyr Ile Ala Asn Thr Lys Lys Asp Lys Ile Leu Lys Tyr Asp
 225 230 235 240

Ala Asn His Asn Tyr Ile Thr Asn Ile Gly Val Ser Gly Val Ser Asn
 245 250 255

Gly Gln Leu Leu Gly Pro Ser Ser Val Ala Val Asp Arg Glu Gly Asn
 35 260 265 270

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

Glu Gly Asn Phe Leu Tyr Ser Phe Gly Lys Leu Gly Glu Asn Asn Gly
 290 295 300
 Glu Phe Phe Ser Pro Ala Gly Ile Ala Val Asp Asp Lys Tyr Ile Tyr
 305 310 315 320
 5 Val Ala Asp Met Gly Asn Lys Arg Ile Gln Gln Phe Asp Leu Ser Gly
 325 330 335
 Asn Tyr Ile Gln Ser Ile Lys His Asn Leu Phe Asn Glu Pro Arg Gly
 340 345 350
 Leu Ser Phe Ala Lys Asp Gly Asn Leu Tyr Ile Ala Asp Gly Ser Lys
 10 355 360 365
 Val Phe Tyr Tyr Asn Ile Ala Glu Ser Asp Phe Thr Ile Phe Asn Asn
 370 375 380
 Ser Glu Arg Tyr Thr Val Thr Pro Thr Ser Ile Ala Glu Gly Pro Asp
 385 390 395 400
 15 Gly Asn Ile Tyr Leu Thr Asp Phe Met Ser Gly Arg Ile Asp Val Tyr
 405 410 415
 Thr Arg Lys Glu Glu Tyr Tyr Ala Asn Leu Asp Val Phe Val Asp Arg
 420 425 430
 Glu Tyr Leu Asn Arg Phe Pro Val Val Val Ala Ser Val Thr Val Arg
 20 435 440 445
 Asp Arg Ala Met Asn Pro Val Val Gly Leu Thr Pro Glu Asn Phe Phe
 450 455 460
 Val Thr Glu Asn Ala Gly Val Ala His Lys Val Gly Phe Tyr Asp Ala
 465 470 475 480
 25 Pro Glu Leu His Glu Tyr Arg Phe Val Tyr Leu Ile Glu Asp Ser Leu
 485 490 495
 Ala Ala Lys Pro Tyr Glu Ser Arg Ile Lys Glu Glu Ile Ser Asn Phe
 500 505 510
 Thr Met Ser Leu Thr Asn Asn Asp Glu Val Leu Val Ile His Tyr Asn
 30 515 520 525
 Asp Gln Val Tyr Lys Ser Asp Asn Tyr Asp Ala Arg Asn Leu Arg Ile
 530 535 540
 Leu Glu Asn Ala Asn Ala Phe His Phe Thr Gly Gly Ile Ser Ala Leu
 545 550 555 560
 35 Asp Asp Ala Tyr Tyr Glu Ala Ile Arg Leu Ser Gly Asn Ser Phe Lys
 565 570 575
 Lys Thr Ala Ile Ile His Phe Ser Val Thr Ser Pro Asp Asp Arg Val

580 585 590
Phe Asp Met Met Asn Phe Asn Asp Val Ala Ser Phe Ala Lys Asn Asn
595 600 605
Ala Val Ser Leu Asn Gln Val Tyr Ile Gly Thr Asn Lys Ser Asn Tyr
5 610 615 620
Phe Leu Asp Leu Met Thr Glu Asn Thr Tyr Gly Tyr Ile Ile Asp Ala
625 630 635 640
Asp Tyr Ser Ile Asn Tyr Thr Ala Glu Leu Asn Arg Met Lys Asn Ile
645 650 655
10 Asn Phe Gly Arg Tyr Phe Ile Tyr Tyr Asn Ser Phe Arg Asn Leu Ala
660 665 670
Gln Ser Gly Gln Phe Arg Ala Leu Asn Val Lys Val Gln Tyr Arg Asp
675 680 685
Met Tyr Gly Glu Glu Glu Val Gly Tyr Val Val Pro
15 690 695 700

<210> 37
<211> 711
20 <212> DNA
<213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 37
atgatagaat caatacaaag aatacatgcc agaataggcg agattcagga tacttttaat 60
25 aaattagggtt ttgctcctat taatactcag attcctacta aaccttttgc tgaacattta 120
aatgaagcta tggcagaaaa caaagtcaat aatattgatg gttctatagt taatgataca 180
aataaaaagt tagataatgg aaaagtaatt aatggagata cttctctga tgctttcaaa 240
ggaaatatat catttgggtg ttatgatagt aatacaaata attttgctaa agctataaat 300
gcttataaaa aagcttcagt agaaagtttc cctactaaat atgatgatat aattaaagag 360
30 gcagcagaga aatattcttt gcctgaaaat ttaataaaag cgggtataaa gcaggaatca 420
aactatgtgc ctaatgctgt aagtcataaa ggtgctgttg gtttgatgca gataatgccg 480
caaacagggtg ttggcttagg tattactgat acagaaatgc ttaaagatcc atacactaat 540
ataatggctg gaagcagata ttatcacag atgttaaaca gatatgatgg aagacttgat 600
ttatctttat ctgcttataa tgccggacct gctttggtag acagattaca gagaatccct 660
35 aatatagagg aaactcaaaa ctatgttaaa aacattatag gatataataa g 711

<210> 38

<211> 237
<212> PRT
<213> Brachyspira hyodysenteriae

5 <400> 38
Met Ile Glu Ser Ile Gln Arg Ile His Ala Arg Ile Gly Glu Ile Gln
1 5 10 15
Asp Thr Phe Asn Lys Leu Gly Phe Ala Pro Ile Asn Thr Gln Ile Pro
20 25 30
10 Thr Lys Pro Phe Ala Glu His Leu Asn Glu Ala Met Ala Glu Asn Lys
35 40 45
Val Asn Asn Ile Asp Gly Ser Ile Val Asn Asp Thr Asn Lys Lys Leu
50 55 60
Asp Asn Gly Lys Val Ile Asn Gly Asp Thr Ser Ser Asp Ala Phe Lys
15 65 70 75 80
Gly Asn Ile Ser Phe Gly Val Tyr Asp Ser Asn Thr Asn Asn Phe Ala
85 90 95
Lys Ala Ile Asn Ala Tyr Lys Lys Ala Ser Val Glu Ser Phe Pro Thr
100 105 110
20 Lys Tyr Asp Asp Ile Ile Lys Glu Ala Ala Glu Lys Tyr Ser Leu Pro
115 120 125
Glu Asn Leu Ile Lys Ala Val Ile Lys Gln Glu Ser Asn Tyr Val Pro
130 135 140
Asn Ala Val Ser His Lys Gly Ala Val Gly Leu Met Gln Ile Met Pro
25 145 150 155 160
Gln Thr Gly Val Gly Leu Gly Ile Thr Asp Thr Glu Met Leu Lys Asp
165 170 175
Pro Tyr Thr Asn Ile Met Ala Gly Ser Arg Tyr Leu Ser Gln Met Leu
180 185 190
30 Asn Arg Tyr Asp Gly Arg Leu Asp Leu Ser Leu Ser Ala Tyr Asn Ala
195 200 205
Gly Pro Ala Leu Val Asp Arg Leu Gln Arg Ile Pro Asn Ile Glu Glu
210 215 220
Thr Gln Asn Tyr Val Lys Asn Ile Ile Gly Tyr Ile Lys
35 225 230 235

<210> 39
<211> 258
<212> DNA
<213> Brachyspira hyodysenteriae
5
<400> 39
atgaaaatag ttttaatga aagagcttgg caggaatata tagagtgggt atcagaagat 60
aaaaaaatag taaaaaaaaa taacgacttg attaaagata taataagaaa tccttgtgat 120
ggaataggaa aagcagaaaa attaaaatat gataaaaaag atctttactc tagaagaata 180
10 aataaagaac atagattagt atatcatata gaaaataatc aattaataat aacatcttgt 240
aaataccatt atgataag 258

<210> 40
<211> 86
15 <212> PRT
<213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 40
Met Lys Ile Val Phe Asn Glu Arg Ala Trp Gln Glu Tyr Ile Glu Trp
20 1 5 10 15
Val Ser Glu Asp Lys Lys Ile Val Lys Lys Ile Asn Asp Leu Ile Lys
20 25 30
Asp Ile Ile Arg Asn Pro Cys Asp Gly Ile Gly Lys Ala Glu Lys Leu
35 40 45
25 Lys Tyr Asp Lys Lys Asp Leu Tyr Ser Arg Arg Ile Asn Lys Glu His
50 55 60
Arg Leu Val Tyr His Ile Glu Asn Asn Gln Leu Ile Ile Thr Ser Cys
65 70 75 80
Lys Tyr His Tyr Asp Lys
30 85

<210> 41
<211> 2646
35 <212> DNA
<213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 41

gtggagattt tagtgaattt tattaagaaa aattgtatta ttttatttc atttcttta 60
 ctgtctgcag ctttattaat atctgcagag agtgacttg aaaatttaca aacagcaaga 120
 aatatagctg tatatgaagg gcttacaata aaccgtatag atgttacagg tgaagtaagg 180
 5 cttacaaagg aacaaataat aaacaatttt cctataaaag ccggcagtaa atttcaaaga 240
 acagaaaata atgcagccat aaaaaaacta ttgatacgc agttattcga tagagtggca 300
 atagatgcaa acagagaaga tgacggagta gttttaaata ttgtagtagc tgaaagattc 360
 ataataaaag atatagaata tataggaaat aaaagattaa gcagaacagc acttaatgat 420
 gccgtaaaac caattatgaa agcagggtgat ccttatatac ctacagaaatt aaatgatgct 480
 10 gttaatgcta taataacaaa ttatcaagat aaaggatatt tgaaagctta tgttgagcct 540
 aaagtaatag aaaataaaga tacttctgat gtttatac aaatgaacat agtagaagg 600
 aatgaagtta aggttgctaa tataagattc catggtaata cacattttac tgataatgaa 660
 cttaaaagac agatgtcaac aaaagaaaat ggatttatga ctcttgaaa atttaatgag 720
 ttacatttg atggagacaa agataaaatt gttaaatact atgcagatag aggttactat 780
 15 agagccaaag ttgataatgt aaagttcaca tatcaatgga gaaatcctga aataaaaaat 840
 gaacaggatt taataataga tatatatgtt acagagggag ataaatatta tttcggagat 900
 ataggattta aaggaaactt tataatacct tctgaaaata tacaaaaaga tataaaatca 960
 aaaaaagggtg ctttatataa ttacacatat catatggcag actatcaggg tatacaaaat 1020
 aaatattctg aaagaggtta tatattcaga caagttatac ctgtaattac agtaaagaa 1080
 20 gaaaataaaa tagtaaatat aatgtatgat attgttgaat atgataaagt gcatatagaa 1140
 aatattacta tagcaggaaa tacaaaaact aaagattttg ttatagaaag atatatagat 1200
 ataaaacccg gagaagtatt caatactgca aaaatacaaa gagttcaaga gagattatat 1260
 aatactcaat tcttgataa tattaattta ggagtaaaac ctggttctgc tgaaggactt 1320
 atggaattaa atttaagtgt aactgaagga agaacagcta tggatcagg aggaggcgg 1380
 25 ttctccactg gttccggatt taaggatttt gcttctatta gagaaaataa ctcttagga 1440
 agaggattgc agttaggatt aagcggagaa ttggagagc agcagaaacg tatagctgtt 1500
 aacttgctg agccttatt acttaactg cctatatatt tgggtgtgga ttatcatac 1560
 ttcaatgaag gtgtaaacac tggttatcaa ataggaaccg atggttaatt tggtatacct 1620
 aaatactcat actatactag acatggtttt gaaggatatag taagactagg ttattacttt 1680
 30 gctgattatt attctacatt cataacattt gataccatag tacagcagta tcagcaatgg 1740
 catgaccaag gagctactgc tgccggctct aattatgttc ttagtgatat aaaaaaata 1800
 ttaactcata gagttaataa aaaagatgga tcattccaaa gatgggaaag tgattggttt 1860
 acaacattca ttgttcata ttcttactt agagatagca gaaacgatta ttgaaccct 1920
 actagaggaa gtttctgag aggtatggta gatttctatt ttggacacac ccagcttaca 1980
 35 agattgagtg ctacaggatt ctggctgta cctgctacag aatggctgtc attgcattc 2040
 tatggagaat taggacaaat aattgctact cctggacttg ctttgcaaaa tgatgctgat 2100
 gttctttatt atcttaaccc attgaagat gtaaggggat gggatacttc caaatatact 2160

atatttaaga aaaacagagg attatcaact tatgatatgt taggagccaa cgggtcagac 2220
 ggtaaacctt ctactgactc ttggagttac ggtagagcaa aagtaagatt ctttgctgaa 2280
 cttcgtatac ctataatacc taaaactctt ggattcgtta ctttccttga tgcaggacaa 2340
 ttatggatgc cctacagtac aggttggaat caggacggag atgctcattc atacccttct 2400
 5 caatttatga atattaaaga tatattgat ccttctcaat atatatattc ttaggaata 2460
 ggattcagac ttacaatacc tatattcaat ataagattct atattgctaa aagattcgtt 2520
 tacaataaag aagatgttg atttggtaaa ggatttcaag atttgaagg agataacttc 2580
 actcctcttg gtgcttggtt cggaagagga tggggaattg cattactat gaaccacca 2640
 ttctat 2646

10

<210> 42
 <211> 882
 <212> PRT
 <213> *Brachyspira hyodysenteriae*

15

<400> 42
 Val Glu Ile Leu Val Asn Phe Ile Lys Lys Asn Cys Ile Ile Leu Phe
 1 5 10 15
 Ser Phe Leu Leu Leu Ala Ala Ala Leu Leu Ile Ser Ala Glu Ser Asp
 20 20 25 30
 Phe Glu Asn Leu Gln Thr Ala Arg Asn Ile Ala Val Tyr Glu Gly Leu
 35 40 45
 Thr Ile Asn Arg Ile Asp Val Thr Gly Glu Val Arg Leu Thr Lys Glu
 50 55 60

25

Gln Ile Ile Asn Asn Phe Pro Ile Lys Ala Gly Ser Lys Phe Gln Arg
 65 70 75 80
 Thr Glu Ile Asn Ala Ala Ile Lys Lys Leu Phe Asp Thr Gln Leu Phe
 85 90 95
 Asp Arg Val Ala Ile Asp Ala Asn Arg Glu Asp Asp Gly Val Val Leu
 30 100 105 110
 Asn Ile Val Val Ala Glu Arg Phe Ile Ile Lys Asp Ile Glu Tyr Ile
 115 120 125
 Gly Asn Lys Arg Leu Ser Arg Thr Ala Leu Asn Asp Ala Val Lys Pro
 130 135 140

35

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

165 170 175
 Tyr Val Glu Pro Lys Val Ile Glu Asn Lys Asp Thr Ser Asp Val Leu
 180 185 190
 Ile Gln Met Asn Ile Val Glu Gly Asn Glu Val Lys Val Ala Asn Ile
 5 195 200 205
 Arg Phe His Gly Asn Thr His Phe Thr Asp Asn Glu Leu Lys Arg Gln
 210 215 220
 Met Ser Thr Lys Glu Asn Gly Phe Met Thr Leu Gly Lys Phe Asn Glu
 225 230 235 240
 10 Phe Thr Phe Asp Gly Asp Lys Asp Lys Ile Val Lys Tyr Tyr Ala Asp
 245 250 255
 Arg Gly Tyr Tyr Arg Ala Lys Val Asp Asn Val Lys Phe Thr Tyr Gln
 260 265 270
 Trp Arg Asn Pro Glu Ile Lys Asn Glu Gln Asp Leu Ile Ile Asp Ile
 15 275 280 285
 Tyr Val Thr Glu Gly Asp Lys Tyr Tyr Phe Gly Asp Ile Gly Phe Lys
 290 295 300
 Gly Asn Phe Ile Ile Pro Ser Glu Asn Ile Gln Lys Asp Ile Lys Ser
 305 310 315 320
 20 Lys Lys Gly Ala Leu Tyr Asn Tyr Thr Tyr His Met Ala Asp Tyr Gln
 325 330 335
 Gly Ile Gln Asn Lys Tyr Ser Glu Arg Gly Tyr Ile Phe Arg Gln Val
 340 345 350
 Ile Pro Val Ile Thr Val Asn Glu Glu Asn Lys Ile Val Asn Ile Met
 25 355 360 365
 Tyr Asp Ile Val Glu Asn Asp Lys Val His Ile Glu Asn Ile Thr Ile
 370 375 380
 Ala Gly Asn Thr Lys Thr Lys Asp Phe Val Ile Glu Arg Tyr Ile Asp
 385 390 395 400
 30 Ile Lys Pro Gly Glu Val Phe Asn Thr Ala Lys Ile Gln Arg Val Gln
 405 410 415
 Glu Arg Leu Tyr Asn Thr Gln Phe Phe Asp Asn Ile Asn Leu Gly Val
 420 425 430
 Lys Pro Gly Ser Ala Glu Gly Leu Met Glu Leu Asn Leu Ser Val Thr
 35 435 440 445
 Glu Gly Arg Thr Ala Met Val Ser Gly Gly Gly Gly Phe Ser Thr Gly
 450 455 460

Ser Gly Phe Lys Val Phe Ala Ser Ile Arg Glu Asn Asn Phe Leu Gly
 465 470 475 480
 Arg Gly Leu Gln Leu Gly Leu Ser Gly Glu Phe Gly Glu Gln Gln Lys
 485 490 495
 5 Arg Ile Ala Val Asn Phe Ala Glu Pro Tyr Leu Leu Asn Leu Pro Ile
 500 505 510
 Tyr Leu Gly Val Asp Leu Ser Tyr Phe Asn Glu Gly Val Asn Thr Gly
 515 520 525
 Tyr Gln Ile Gly Thr Asp Gly Asn Phe Gly Ile Pro Lys Tyr Ser Tyr
 10 530 535 540
 Tyr Thr Arg His Gly Phe Glu Gly Ile Val Arg Leu Gly Tyr Tyr Phe
 545 550 555 560
 Ala Asp Tyr Tyr Ser Thr Phe Ile Thr Phe Asp Thr Ile Val Gln Gln
 565 570 575
 15 Tyr Gln Gln Trp His Asp Gln Gly Ala Thr Ala Ala Gly Pro Asn Tyr
 580 585 590
 Val Leu Ser Asp Ile Lys Lys Tyr Leu Thr His Arg Val Asn Lys Lys
 595 600 605
 Asp Gly Ser Phe Gln Arg Trp Glu Ser Asp Trp Phe Thr Thr Phe Ile
 20 610 615 620
 Val Ser Tyr Ser Leu Leu Arg Asp Ser Arg Asn Asp Tyr Leu Asn Pro
 625 630 635 640
 Thr Arg Gly Ser Phe Leu Arg Gly Met Val Asp Phe Tyr Phe Gly His
 645 650 655
 25 Thr Gln Leu Thr Arg Leu Ser Ala Thr Gly Phe Leu Ala Val Pro Ala
 660 665 670
 Thr Glu Trp Leu Ser Phe Ala Phe Tyr Gly Glu Leu Gly Gln Ile Ile
 675 680 685
 Ala Thr Pro Gly Leu Ala Leu Gln Asn Asp Ala Asp Val Leu Tyr Tyr
 30 690 695 700
 Leu Asn Pro Phe Glu Asp Val Arg Gly Trp Asp Thr Ser Lys Tyr Thr
 705 710 715 720
 Ile Phe Lys Lys Asn Arg Gly Leu Ser Thr Tyr Asp Met Leu Gly Ala
 725 730 735
 35 Asn Gly Ser Asp Gly Lys Pro Thr Thr Asp Ser Trp Ser Tyr Gly Arg
 740 745 750
 Ala Lys Val Arg Phe Phe Ala Glu Leu Arg Ile Pro Ile Ile Pro Lys

755 760 765
 Thr Leu Gly Phe Val Thr Phe Leu Asp Ala Gly Gln Leu Trp Met Pro
 770 775 780
 Tyr Ser Thr Gly Trp Asn Gln Asp Gly Asp Ala His Ser Tyr Pro Ser
 5 785 790 795 800
 Gln Phe Met Asn Ile Lys Asp Ile Phe Asp Pro Ser Gln Tyr Ile Tyr
 805 810 815
 Ser Val Gly Ile Gly Phe Arg Leu Thr Ile Pro Ile Phe Asn Ile Arg
 820 825 830
 10 Phe Tyr Ile Ala Lys Arg Phe Val Tyr Asn Lys Glu Asp Val Gly Phe
 835 840 845
 Gly Lys Gly Phe Gln Asp Phe Glu Gly Asp Thr Phe Thr Pro Leu Gly
 850 855 860
 Ala Trp Phe Gly Arg Gly Trp Gly Ile Ala Phe Thr Met Asn His Pro
 15 865 870 875 880
 Phe Tyr

 20 <210> 43
 <211> 1308
 <212> DNA
 <213> Brachyspira hyodysenteriae

 25 <400> 43
 atgaaacgtt tatattttat ttatcagct ttattaataa ctgcttatag tgcatttagt 60
 tatactgttg tagaagattt caatgatttt ttagttgatg aaaatcaatt aagaataagg 120
 cttgacagat tcggagtatt ggcaggaaca gagaatttaa gatttatggt tggagtatca 180
 ggagaaactg caggagtatt gcttgataat ttagacagag gtactaaagg aggaataaat 240
 30 acattcagac cggcagcaat agcaggattt ggatataaaa cagaaagttt tggtataggt 300
 gtaggttatt agtttaaata tatatcagga agctggcagt cgcatactcc tataataaca 360
 gcaacagctt tgaatgataa cttgagaatc aatgtacctg ttacaatagg agtaggaagc 420
 ggaaatgta atgacggaga tatagcagtt tcaacagata ctagaataga atattataca 480
 ggaaacaata tattcagcag aataagagtt aatcttaaat atggtatgta tagattaaaa 540
 35 gctaatgaaa gcagaagcgg agatttgaca ggaagcggaa atataaatat gggtagtcta 600
 agtggaactg taggcgagaa tggtaaatat ggatttctta aagatactac agcacattct 660
 ataggaatag atgtaagagg ttattttata gcggcaacag atcctgtatt agtagagcct 720

cagataagag tattatatca aggttctata gcggatttta caggtacttc atataaagta 780
acaacaccca ctggaactaa agaaggagga gcaggattcg gactctataa tatagatgct 840
tcaaatccta taggtgcttt ttcaataggt gatacagggt caatacaatc agtgccttat 900
tatgatttta ctgctcataa tataatgttt acagggtgaag gagcttcaat agagatagga 960
5 ggtacagaat attatcttac aaagccgcag ttttaggaa tatccgttcc tgtgggggtt 1020
actgctgaaa gtgagtttat tacattgtat ttggagcctg ctttatcatt ctctatgatt 1080
acaggaggaa ttaattctta tgcaagcagt gctaagcctg taagaatacc gcctttattt 1140
tattcgggtg gatatttggt atatggagaa ttatatataa ctctaaacc taatttagaa 1200
tggtattttg aggctcagat tggaagtgt acaactattg atagtatagg agatagtaaa 1260
10 cagggaggtt tagcttcaa tggaagtacc ggtatcactt ggaagttt 1308

<210> 44

<211> 436

<212> PRT

15 <213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 44

Met Lys Arg Leu Tyr Phe Ile Leu Ser Ala Leu Leu Ile Thr Ala Tyr
1 5 10 15
20 Ser Ala Phe Ser Tyr Thr Val Val Glu Asp Phe Asn Asp Phe Leu Val
20 25 30
Asp Glu Asn Gln Leu Arg Ile Arg Leu Asp Arg Phe Gly Val Leu Ala
35 40 45
Gly Thr Glu Asn Leu Arg Phe Met Val Gly Val Ser Gly Glu Thr Ala
25 50 55 60
Gly Val Leu Leu Asp Asn Leu Asp Arg Gly Thr Lys Gly Gly Ile Asn
65 70 75 80
Thr Phe Arg Pro Ala Ala Ile Ala Gly Phe Gly Tyr Lys Thr Glu Ser
85 90 95
30 Phe Gly Ile Gly Val Gly Tyr Gln Phe Lys Tyr Ile Ser Gly Ser Trp
100 105 110
Gln Ser His Thr Pro Ile Ile Thr Ala Thr Ala Leu Asn Asp Asn Leu
115 120 125
Arg Ile Asn Val Pro Val Thr Ile Gly Val Gly Ser Gly Asn Val Asn
35 130 135 140
Asp Gly Asp Ile Ala Val Ser Thr Asp Thr Arg Ile Glu Tyr Tyr Thr
145 150 155 160

Gly Asn Asn Ile Phe Ser Arg Ile Arg Val Asn Leu Lys Tyr Gly Met
 165 170 175
 Tyr Arg Leu Lys Ala Asn Glu Ser Arg Ser Gly Asp Leu Thr Gly Ser
 180 185 190
 5 Gly Asn Ile Asn Met Gly Thr Val Ser Gly Thr Val Gly Glu Asn Gly
 195 200 205
 Lys Tyr Gly Phe Leu Lys Asp Thr Thr Ala His Ser Ile Gly Ile Asp
 210 215 220
 Val Arg Gly Tyr Phe Ile Ala Ala Thr Asp Pro Val Leu Val Glu Pro
 10 225 230 235 240
 Gln Ile Arg Val Leu Tyr Gln Gly Ser Ile Ala Asp Phe Thr Gly Thr
 245 250 255
 Ser Tyr Lys Val Thr Thr Pro Thr Gly Thr Lys Glu Gly Gly Ala Gly
 260 265 270
 15 Phe Gly Leu Tyr Asn Ile Asp Ala Ser Asn Pro Ile Gly Ala Phe Ser
 275 280 285
 Ile Gly Asp Thr Gly Ser Ile Gln Ser Val Pro Tyr Tyr Asp Phe Thr
 290 295 300
 Ala His Asn Ile Met Phe Thr Gly Glu Gly Ala Ser Ile Glu Ile Gly
 20 305 310 315 320
 Gly Thr Glu Tyr Tyr Leu Thr Lys Pro Gln Phe Leu Gly Ile Ser Val
 325 330 335
 Pro Val Gly Phe Thr Ala Glu Ser Glu Phe Ile Thr Leu Tyr Leu Glu
 340 345 350
 25 Pro Ala Leu Ser Phe Ser Met Ile Thr Gly Gly Ile Asn Ser Tyr Ala
 355 360 365
 Ser Ser Ala Lys Pro Val Arg Ile Pro Pro Leu Phe Tyr Ser Val Gly
 370 375 380
 Tyr Leu Val Tyr Gly Glu Leu Tyr Ile Thr Pro Lys Pro Asn Leu Glu
 30 385 390 395 400
 Trp Tyr Phe Glu Ala Gln Ile Gly Ser Ala Thr Thr Ile Asp Ser Ile
 405 410 415
 Gly Asp Ser Lys Gln Gly Gly Leu Ala Phe Asn Gly Ser Thr Gly Ile
 420 425 430
 35 Thr Trp Lys Phe
 435

<210> 45

<211> 2367

<212> DNA

5 <213> *Brachyspira hyodysenteriae*

<400> 45

atgaaatata aacctacaag caggaaagaa ttaaagatt tagtaacaga tgaaagtatt 60
tatttgggtg atattgatac tagcttaata actgatatgt caaacttatt tgatttttt 120
10 aatagagata attatgacgg tatagaaaat tgggatactt ctaatgtaga aaatatggct 180
ggtatgttt ctgctaatag gaattttaat aaagatatta gtaaattggaa tgtatctaaa 240
gtgaaaaata cagcttatat gttttcttg gctgaaaaat ttaatcagcc ttgaatgat 300
tgggacgta gtaatgtaat aaatatgaat agcatgttta tgaatgctaa aagttttaat 360
cagcctatta ataattggaa tgtaagtaaa gtcaaagta tgagcaatat gttaatcgt 420
15 gccgaaagtt ttaatcaaaa tataaatgat tggaatgtaa gtaatgtaga aaatatgaat 480
catatgttt catctgccta taaattcaat cagcctttat taaatggga tacttctaaa 540
gtaaaagaga tggctggat gtttcatta gcttatgcat ttaatcagcc tcttaacaat 600
tggaatgtaa gcaatgttac taatatgagg tgcattgtta tgttgcaag agattttaat 660
aagcctatta ataattggaa tacaaaaaaa ttaaagatg caggaagtat gtctcaaat 720
20 acatcggcat tcaatcagaa tttagatgat tggaatattg ataactttc agatatgagt 780
aattttaata aagattctaa attagaatta acatttaaatt tcaaaattta ttatatgct 840
ttaactttag aaaaagaaga aaaaaataat ttacatgatt ttataaaaaa caatgtaaaa 900
aagatatatg aaattataga aaatcataaa aacaagaagg ttaatcttct taaagatat 960
ttaataaata atttttatag tgaattaaaa gaattaatac cagattatat tgaaagtttt 1020
25 aatagcatag aagaagtta taattatata gacaaaaatt ataataaaaa agatgataaa 1080
aaagtaaaat ttatagatga tataaaaatt gaaaatatag ataaaagaat aataaaatat 1140
attacttat catatttaga attaaaaaga gaagcctaca gaataaagca aatagattat 1200
attataaatt taattgataa aaaacttttt ataaatgcaa taaaacgat atacacaagc 1260
accaataaag aaacatctct aattatgtac ggaatatacg gaggagatga ggcattaaga 1320
30 gagatttaca aaaaagaaaa agattcaaaa ttatgtttac ttgtatttc tatcaataaa 1380
aacagtaaatt atgctattaa tatgctttat aatgtattta agaaaagtaa aaaatatgaa 1440
gtaaaagaga cagcagaaaa aattattgag gatatagcaa aagaaaataa ttgagcgtt 1500
tatgaatttg gattaaaaac tataccaaat ttggattca atataaacgg tgaaaaaata 1560
ataaataata atcaatataa aataattttg aaaaacgatt atactataga gtttttgat 1620
35 atcaaagaaa ataaaatatt aaagcaaata cctaaatatt ttgataatag taccaaagaa 1680
gaaattaaat atataaaaac agaaattcca aatattataa aaaatcaaag cagaaattta 1740
ataaaaattt tattaacagg taaaagtag tatttcaatt ttttaaga aatatttatt 1800

gataatccaa taatgaataa atttgcaatt aatttagttt ggaatttatt tgatgaaaat 1860
aacaatttta taacgacatt taggtattca ggcgacggaa gttatacaaa ctacgatgat 1920
aatacagtga atataaatga taattatttt gtaagtttat caagccctat agaaatggaa 1980
gaaaaaatta tatcaaaatg gaaaaaacat cttgaagatt atgaattatc acagcctata 2040
5 atgcagttta caaatataaa aataaataat ttagaagaag cattaataaaa attagaaaat 2100
atagaaataa gctacgggtac aataaaagca ttttctcaaa agtatgatat gaatactgaa 2160
tgtaaaagct attacgaaat taacgggatat tcatttgaag actcatacaa taatcaagat 2220
tttatataa gaacaaaaat tatcaatact gaaaccaatt ataatgataa aataaaaatt 2280
aatatagagt ttaacaatgc tagcaacaga tttatatata cttggcttat acttttaata 2340
10 tgggatttta gattaactga aatattt 2367

<210> 46
<211> 789
<212> PRT
15 <213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 46
Met Lys Tyr Lys Pro Thr Ser Arg Lys Glu Leu Lys Asp Leu Val Thr
1 5 10 15
20 Asp Glu Ser Ile Tyr Leu Gly Asp Ile Asp Thr Ser Leu Ile Thr Asp
20 25 30
Met Ser Asn Leu Phe Asp Phe Phe Asn Arg Asp Asn Tyr Asp Gly Ile
35 40 45
Glu Asn Trp Asp Thr Ser Asn Val Glu Asn Met Ala Gly Met Phe Ser
25 50 55 60
Ala Asn Arg Asn Phe Asn Lys Asp Ile Ser Lys Trp Asn Val Ser Lys
65 70 75 80
Val Lys Asn Thr Ala Tyr Met Phe Phe Leu Ala Glu Lys Phe Asn Gln
85 90 95
30 Pro Leu Asn Asp Trp Asp Val Ser Asn Val Ile Asn Met Asn Ser Met
100 105 110
Phe Met Asn Ala Lys Ser Phe Asn Gln Pro Ile Asn Asn Trp Asn Val
115 120 125
Ser Lys Val Gln Ser Met Ser Asn Met Phe Asn Arg Ala Glu Ser Phe
35 130 135 140
Asn Gln Asn Ile Asn Asp Trp Asn Val Ser Asn Val Glu Asn Met Asn
145 150 155 160

His Met Phe Ser Ser Ala Tyr Lys Phe Asn Gln Pro Leu Phe Lys Trp
 165 170 175
 Asp Thr Ser Lys Val Lys Glu Met Ala Gly Met Phe Ser Leu Ala Tyr
 180 185 190
 5 Ala Phe Asn Gln Pro Leu Asn Asn Trp Asn Val Ser Asn Val Thr Asn
 195 200 205
 Met Arg Cys Met Phe Met Phe Ala Arg Asp Phe Asn Lys Pro Ile Asn
 210 215 220
 Asn Trp Asn Thr Lys Lys Leu Lys Asp Ala Gly Ser Met Phe Ser Asn
 10 225 230 235 240
 Thr Ser Ala Phe Asn Gln Asn Leu Asp Asp Trp Asn Ile Asp Asn Leu
 245 250 255
 Ser Asp Met Ser Asn Phe Asn Lys Asp Ser Lys Leu Glu Leu Thr Phe
 260 265 270
 15 Lys Phe Lys Ile Tyr Leu Tyr Ala Leu Thr Leu Glu Lys Glu Glu Lys
 275 280 285
 Asn Asn Leu His Asp Phe Ile Lys Asn Asn Val Lys Lys Ile Tyr Glu
 290 295 300
 Ile Ile Glu Asn His Lys Asn Lys Lys Val Asn Leu Leu Lys Arg Tyr
 20 305 310 315 320
 Leu Ile Asn Asn Phe Tyr Ser Glu Leu Lys Glu Leu Ile Pro Asp Tyr
 325 330 335
 Ile Glu Ser Phe Asn Ser Ile Glu Glu Val Tyr Asn Tyr Ile Asp Lys
 340 345 350
 25 Asn Tyr Asn Lys Lys Asp Asp Lys Lys Val Lys Phe Ile Asp Asp Ile
 355 360 365
 Lys Ile Glu Asn Ile Asp Lys Arg Ile Ile Lys Tyr Ile Tyr Leu Ser
 370 375 380
 Tyr Leu Glu Leu Lys Arg Glu Ala Tyr Arg Ile Lys Gln Ile Asp Tyr
 30 385 390 395 400
 Ile Ile Asn Leu Ile Asp Lys Lys Ser Phe Ile Asn Ala Ile Lys Thr
 405 410 415
 Ile Tyr Thr Ser Thr Asn Lys Glu Thr Ser Leu Ile Met Tyr Gly Ile
 420 425 430
 35 Tyr Gly Gly Asp Glu Ala Leu Arg Glu Ile Tyr Lys Lys Glu Lys Asp
 435 440 445
 Ser Lys Leu Cys Leu Leu Val Phe Ser Ile Asn Lys Asn Ser Lys Tyr

450 455 460
 Ala Ile Asn Met Leu Tyr Asn Val Phe Lys Lys Ser Lys Lys Tyr Glu
 465 470 475 480
 Val Lys Glu Thr Ala Glu Lys Ile Ile Glu Asp Ile Ala Lys Glu Asn
 5 485 490 495
 Asn Leu Ser Val Tyr Glu Phe Gly Leu Lys Thr Ile Pro Asn Phe Gly
 500 505 510
 Phe Asn Ile Asn Gly Glu Lys Ile Ile Asn Asn Asn Gln Tyr Lys Ile
 515 520 525
 10 Ile Leu Lys Asn Asp Tyr Thr Ile Glu Phe Phe Asp Ile Lys Glu Asn
 530 535 540
 Lys Ile Leu Lys Gln Ile Pro Lys Tyr Phe Asp Asn Ser Thr Lys Glu
 545 550 555 560
 Glu Ile Lys Tyr Ile Lys Thr Glu Ile Pro Asn Ile Ile Lys Asn Gln
 15 565 570 575
 Ser Arg Asn Leu Ile Lys Ile Leu Leu Thr Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe
 580 585 590
 Asn Phe Phe Lys Glu Ile Phe Ile Asp Asn Pro Ile Met Asn Lys Phe
 595 600 605
 20 Ala Ile Asn Leu Val Trp Asn Leu Phe Asp Glu Asn Asn Asn Phe Ile
 610 615 620
 Thr Thr Phe Arg Tyr Ser Gly Asp Gly Ser Tyr Thr Asn Tyr Asp Asp
 625 630 635 640
 Asn Thr Val Asn Ile Asn Asp Asn Tyr Phe Val Ser Leu Ser Ser Pro
 25 645 650 655
 Ile Glu Met Glu Glu Lys Ile Ile Ser Lys Trp Lys Lys His Leu Glu
 660 665 670
 Asp Tyr Glu Leu Ser Gln Pro Ile Met Gln Phe Thr Asn Ile Lys Ile
 675 680 685
 30 Asn Asn Leu Glu Glu Ala Leu Lys Lys Leu Glu Asn Ile Glu Ile Ser
 690 695 700
 Tyr Gly Thr Ile Lys Ala Phe Ser Gln Lys Tyr Asp Met Asn Thr Glu
 705 710 715 720
 Cys Lys Ser Tyr Tyr Glu Ile Asn Gly Tyr Ser Phe Glu Asp Ser Tyr
 35 725 730 735
 Asn Asn Gln Asp Phe Tyr Ile Arg Thr Lys Ile Ile Asn Thr Glu Thr
 740 745 750

Asn Tyr Asn Asp Lys Ile Lys Ile Asn Ile Glu Phe Asn Asn Ala Ser
755 760 765
Asn Arg Phe Ile Tyr Thr Trp Leu Ile Leu Leu Ile Trp Asp Phe Arg
770 775 780
5 Leu Thr Glu Ile Phe
785

<210> 47
10 <211> 729
<212> DNA
<213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 47
15 atgataaaaa aaattttaac ttaatcttt gtattaattt tggcagcttc atgttctact 60
aatgataaac atgttgtagt attagctttt agtaaacagc ttcagtctgt actttataat 120
gataatagtc agtctacaaa aacagcatca aaaacatata tacaaaaaga tgatattaca 180
actgtagcag atcctataaa agaaaaaaaa gaatatataa atactcaagc acaagtaagt 240
aaaaaagcag aagaaaaaaaa agaagaactt acaataacg atgctttaga agaagaaaa
20 300
cctcaagtta taaagcaaac tgagggtata cagaaagatg ataatgagat tcttcttact 360
gcaaataata tatcttttga ttttgattct tatgaattaa aaaatgaata taatgaaggg 420
atagatgaaa ttgcaaata tttaaataat aatcgagata ttaatctaata aatagaagga 480
catagcgaca gtatagggga ctcaaattat aatatatatt tatctgaaaa cagagcaaaa 540
25 gcgatatttg ataaattagt agataaagga atagataaag atagacttag atatatagga 600
tatggctcta ctatttcac tgagtataat gataaagaca gaaaatgcc aattgttata 660
ataaataatt cagatgaaga gcaggaatac aaaaaagaaa acgaaactga tattatcaaa 720
ttaaaacaa 729

30 <210> 48
<211> 243
<212> PRT
<213> Brachyspira hyodysenteriae

35 <400> 48
Met Ile Lys Lys Ile Leu Thr Leu Ile Phe Val Leu Ile Leu Ala Ala
1 5 10 15

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

30

- <210> 49
- <211> 969
- 35 <212> DNA
- <213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 49
 atgaaaaaaa ttattttatt aatatttata ttattaaata tatcatgcag aaatatcatt 60
 acaatagcag aaaataaaaa aaatatagat aatgtaaata atgtacatat agaagaaaat 120
 gaatacttat atgctcttga aatagataaaa gccaatcctc aaaatatgga agaagcatta 180
 5 aaaagatatg cagcagatca taatggaaaa tataaattaa tattcacagg tacatcaaca 240
 aaaaaaatatg atgtttggac ttcaataagt caaatgcttg aagatatttc tttaaaaaac 300
 ataaaaatag aaatatcgat tgtaaattga atttttccaa atggtaaaat acctgatttt 360
 ttatttggag gaaatgctgt aaataaatca atagtaaaaa taacatttcc aaatagcata 420
 actgaaatag gcgaatacag tattttttgt ccagaattaa cggaaataac acttccaagt 480
 10 aatttaagaa caataggcag aagaggatta ataggatgcg aaagtttaaa aatactgaaa 540
 cticctaatt cattaaaaac aataggagaa ttatcattaa atggatgcgg atttgccagt 600
 attgtaattc ctgattctgt aacttctata ggtaaaagtg cttttgccga ttgtgagaat 660
 ttagtaata taaaattacc aaataattta gaaacaatac ctgatatgtat gcttgaaagc 720
 tgcggatcca ttaatacaat aactatacca gcactgttaa aaaaaataga aaattctgta 780
 15 ttttttact gcaaaaactt tgaaaacatt agatttttaa atggtaatct tcaatcaatg 840
 acagtaggaa aagatatatt tgcaggctgc cctttaaaaa atgtttatat acctaaaaac 900
 agcagtgcac cagatgaaga atggagaaat actttaggca ttaaatcaac tgtaaagatt 960
 ataagagaa 969

20 <210> 50
 <211> 323
 <212> PRT
 <213> Brachyspira hyodysenteriae

25 <400> 50
 Met Lys Lys Ile Ile Leu Leu Ile Phe Ile Leu Leu Asn Ile Ser Cys
 1 5 10 15
 Arg Asn Ile Ile Thr Ile Ala Glu Asn Lys Lys Asn Ile Asp Asn Val
 20 25 30
 30 Asn Asn Val His Ile Glu Glu Asn Glu Tyr Leu Tyr Ala Leu Glu Ile
 35 40 45
 Asp Lys Ala Asn Pro Gln Asn Met Glu Glu Ala Leu Lys Arg Tyr Ala
 50 55 60
 Ala Asp His Asn Gly Lys Tyr Lys Leu Ile Phe Thr Gly Thr Ser Thr
 35 65 70 75 80
 Lys Lys Tyr Asp Val Trp Thr Ser Ile Ser Gln Met Leu Glu Asp Ile
 85 90 95

Ser Leu Lys Asn Ile Lys Ile Glu Ile Ser Ile Val Asn Val Ile Phe
100 105 110
Pro Asn Gly Lys Ile Pro Asp Phe Leu Phe Gly Gly Asn Ala Val Asn
115 120 125
5 Lys Ser Ile Val Lys Ile Thr Phe Pro Asn Ser Ile Thr Glu Ile Gly
130 135 140
Glu Tyr Ser Ile Phe Cys Pro Glu Leu Thr Glu Ile Thr Leu Pro Ser
145 150 155 160
Asn Leu Arg Thr Ile Gly Arg Arg Gly Leu Ile Gly Cys Glu Ser Leu
10 165 170 175
Lys Ile Leu Lys Leu Pro Asn Ser Leu Lys Thr Ile Gly Glu Leu Ser
180 185 190
Leu Asn Gly Cys Gly Phe Ala Ser Ile Val Ile Pro Asp Ser Val Thr
195 200 205
15 Ser Ile Gly Lys Ser Ala Phe Ala Asp Cys Glu Asn Leu Val Asn Ile
210 215 220
Lys Leu Pro Asn Asn Leu Glu Thr Ile Pro Asp Ser Met Leu Glu Ser
225 230 235 240
Cys Gly Ser Ile Asn Thr Ile Thr Ile Pro Ala Ser Val Lys Lys Ile
20 245 250 255
Glu Asn Ser Val Phe Phe Tyr Cys Lys Asn Phe Glu Asn Ile Arg Phe
260 265 270
Leu Asn Gly Asn Leu Gln Ser Met Thr Val Gly Lys Asp Ile Phe Ala
275 280 285
25 Gly Cys Pro Leu Lys Asn Val Tyr Ile Pro Lys Asn Ser Ser Ala Ser
290 295 300
Asp Glu Glu Trp Arg Asn Thr Leu Gly Ile Lys Ser Thr Val Lys Ile
305 310 315 320
Ile Arg Glu

30

- <210> 51
- <211> 564
- 35 <212> DNA
- <213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 51
atgcatatTT ctggtgattc tcctttagat aggaaagtTg gagatgctag ttattatTTT 60
gctactgtTc aacattgctg ggggtgggct actTggaaaa gagctTggaa atatTTtgat 120
gtaactatgg aaagtataaa tttgaagat gtaaaaaaaaa caattagaaa aagatacaaa 180
5 gattttaata taaaagatta ctggcaaaga tggTttccta gaataaaaaa agagcattct 240
tctgtatggg attatcaatg gacttactgt attatctcaa aaaatgggaat atgcattaat 300
ccaagtataa atttaactTc taatatagga tTtggaagaag attctacca cactacaaat 360
gaaaatgatg aaaatataaa tagtaaaaca taccctatgg atactgaaaa tattattcat 420
cctaaagaaa taaaatgtga tgaaagagct gattTtgaaa tagctattaa aagatttaat 480
10 ataaaacctt tctctttaac atctaata accagagaag ttaaaagaat tataaaacaa 540
ataaaaaact tatttatcaa aaaa 564

<210> 52
<211> 188
15 <212> PRT
<213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 52
Met His Ile Ser Gly Asp Ser Pro Leu Asp Arg Lys Val Gly Asp Ala
20 1 5 10 15
Ser Tyr Tyr Phe Ala Thr Val Gln His Cys Trp Gly Trp Ala Thr Trp
20 25 30
Lys Arg Ala Trp Lys Tyr Phe Asp Val Thr Met Glu Ser Ile Asn Phe
35 40 45
25 Glu Asp Val Lys Lys Thr Ile Arg Lys Arg Tyr Lys Asp Phe Asn Ile
50 55 60
Lys Asp Tyr Trp Gln Arg Trp Phe Pro Arg Ile Lys Lys Glu His Ser
65 70 75 80
Ser Val Trp Asp Tyr Gln Trp Thr Tyr Cys Ile Ile Ser Lys Asn Gly
30 85 90 95
Ile Cys Ile Asn Pro Ser Ile Asn Leu Thr Ser Asn Ile Gly Phe Gly
100 105 110
Glu Asp Ser Thr His Thr Thr Asn Glu Asn Asp Glu Asn Ile Asn Ser
115 120 125
35 Lys Thr Tyr Pro Met Asp Thr Glu Asn Ile Ile His Pro Lys Glu Ile
130 135 140
Lys Cys Asp Glu Arg Ala Asp Phe Glu Ile Ala Ile Lys Arg Phe Asn

145 150 155 160
Ile Lys Pro Phe Ser Leu Thr Ser Asn Ile Thr Arg Glu Val Lys Arg
165 170 175
Ile Ile Lys Gln Ile Lys Asn Leu Phe Ile Lys Lys
5 180 185

<210> 53
<211> 396
10 <212> DNA
<213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 53
atgtttaata ctctatatt attaattatt tttaaaagaa aatatactgc attaaaagtt 60
15 ttagatacaa taagaaatgt aaaacccaaa aaattatata tagcagctga tggctggaga 120
aatgaagaag aaaaaacaaa atgtattgat acaagagaag ctgtattaga agctgtagat 180
tgggaatgcg aagtaaaaac tttatttcaa gataaaaatt taggatgctg ttatggctct 240
gtaaatgctg taaattgggt atttgaaaat gaagaacaag gaataatact tgaagatgat 300
gttatagctg aaactcttt tttattatt gcgagaaaatt acttaactat tataaagata 360
20 atgaaaaaat tatgcatatt tctggtgatt ctctt 396

<210> 54
<211> 132
<212> PRT
25 <213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 54
Met Phe Asn Thr Pro Ile Leu Leu Ile Ile Phe Lys Arg Lys Tyr Thr
1 5 10 15
30 Ala Leu Lys Val Leu Asp Thr Ile Arg Asn Val Lys Pro Lys Lys Leu
20 25 30
Tyr Ile Ala Ala Asp Gly Trp Arg Asn Glu Glu Glu Lys Thr Lys Cys
35 40 45
Ile Asp Thr Arg Glu Ala Val Leu Glu Ala Val Asp Trp Glu Cys Glu
35 50 55 60
Val Lys Thr Leu Phe Gln Asp Lys Asn Leu Gly Cys Cys Tyr Gly Pro
65 70 75 80

150

Val Asn Ala Val Asn Trp Leu Phe Glu Asn Glu Glu Gln Gly Ile Ile

85

90

95

Leu Glu Asp Asp Val Ile Ala Glu Thr Ser Phe Phe Ile Ile Ala Arg

100

105

110

5 Asn Tyr Leu Thr Ile Ile Lys Ile Met Lys Lys Leu Cys Ile Phe Leu

115

120

125

Val Ile Leu Leu

130

10

<210> 55

<211> 825

<212> DNA

<213> Brachyspira hyodysenteriae

15

<400> 55

atgaatgata ttattaaagt gataaatata ttaaacgata taccagaacc ttttctgta 60

gatggaataa taaaaacttt tgaagcaagc tctaaagatt ttataaaaag ttttgctgtt 120

tattttata aggaaggcag tgaagaagca agattatggt atacatctaa aaataaatta 180

20 gttattaatg ataaaaaaaa taatagagaa tatactctat ttgccagagg taataaattt 240

ggttatataa tagttaatgc agataaaaat aaagatgaaa tggaagtact tattaattat 300

ctatcaataa tattatatag tgaaaaactt tcatttttg caaatagaga caaacttaca 360

ggtttataca atcgcgata tataataaaa tatttgcagg agaaagaaac tacaatatgaa 420

atatattcta tagtaatagt agatttagat aaattcaaac attataatga tacttacgga 480

25 cataatatag gagatcatgt attaaaatta atttcaaagg taatgaaaga ttcttataaa 540

aatataaaaat ataaatctgt attggcaaga tatggaggag aagaatttat tatagtaatt 600

gatgtaata ataaaaatga tcttttaat gctatggaag aaataagaaa ctcaataata 660

gaaactgatt tatctacaga agaattattct ctaaaagcaa cagcatcttt aggaggtgct 720

ataaaagagg aaaatacaac ttaagaact ttataaata aagcagatca atcattatat 780

30 aatgccaaag aaacaggaag aaataaatcc gttatattag atttt

825

<210> 56

<211> 275

<212> PRT

35 <213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 56

Met Asn Asp Ile Ile Lys Val Ile Asn Ile Leu Asn Asp Ile Pro Glu
 1 5 10 15
 Pro Phe Ser Val Asp Gly Ile Ile Lys Thr Phe Glu Ala Ser Ser Lys
 20 25 30
 5 Asp Phe Ile Lys Ser Phe Ala Val Tyr Phe Tyr Lys Glu Gly Ser Glu
 35 40 45
 Glu Ala Arg Leu Trp Tyr Thr Ser Lys Asn Lys Leu Val Ile Asn Asp
 50 55 60
 Lys Lys Asn Asn Arg Glu Tyr Thr Leu Phe Ala Arg Gly Asn Lys Phe
 10 65 70 75 80
 Gly Tyr Ile Ile Val Asn Ala Asp Lys Asn Lys Asp Glu Met Glu Val
 85 90 95
 Leu Ile Asn Tyr Leu Ser Ile Ile Leu Tyr Ser Glu Lys Leu Ser Phe
 100 105 110
 15 Leu Ala Asn Arg Asp Lys Leu Thr Gly Leu Tyr Asn Arg Gly Tyr Ile
 115 120 125
 Ile Lys Tyr Leu Gln Glu Lys Glu Thr Thr Asn Glu Ile Tyr Ser Ile
 130 135 140
 Val Ile Val Asp Leu Asp Lys Phe Lys His Tyr Asn Asp Thr Tyr Gly
 20 145 150 155 160
 His Asn Ile Gly Asp His Val Leu Lys Leu Ile Ser Lys Val Met Lys
 165 170 175
 Asp Ser Leu Lys Asn Ile Lys Tyr Lys Ser Val Leu Ala Arg Tyr Gly
 180 185 190
 25 Gly Glu Glu Phe Ile Ile Val Ile Asp Val Asn Asn Lys Asn Asp Leu
 195 200 205
 Phe Asn Ala Met Glu Glu Ile Arg Asn Ser Ile Ile Glu Thr Asp Leu
 210 215 220
 Ser Thr Glu Glu Tyr Ser Leu Lys Ala Thr Ala Ser Leu Gly Gly Ala
 30 225 230 235 240
 Ile Lys Glu Glu Asn Thr Thr Leu Arg Thr Phe Ile Asn Lys Ala Asp
 245 250 255
 Gln Ser Leu Tyr Asn Ala Lys Glu Thr Gly Arg Asn Lys Ser Val Ile
 260 265 270
 35 Leu Asp Phe
 275

<210> 57

<211> 1815

<212> DNA

5 <213> *Brachyspira hyodysenteriae*

<400> 57

atgaaaaata ttttaaata tgcttcatt ataggatgca ctttgcctc gcttaatttt 60
 gcggctgatt atatagatta taaagtaaaa aacggcgata ctttatttgg aatagcttcc 120
 10 gctcatgata tgagtgcaaa tgaattttta aaagttaata atataaaaga tcttgataaa 180
 tataatctta gagtaggaga aactttaaaa gtaaaagata aaggttatac tctgtatat 240
 gactctgata ataaagtttt cggcttgaaa ggagaagaag gaaactcata caaagattat 300
 aaagtaaaaa acgggggatac tttatttgg atagcatttg cccatggaat gactgcta 360
 gaatttctag ctataaataa tattaaagat gccataaat ataactctag agtaggacaa 420
 15 actcttaaag tagcaaataa tcaaaaagaa aataatgctt ctcaaataa tataaataat 480
 agtgataata cagaaaatta tgatacttat aaagtgcaaa gcggtgatac ttatagcga 540
 atagcttct ctatggat gacagcaagc gaattttta agattaataa tatagatgat 600
 cctgataaat ataaactata ttaggttaa actatgtatg ttaaatcatc taaaaagaa 660
 aataatttaa acacaaataa tgaaaaagat acaggaaaag aaatagaata ctactctga 720
 20 aaaagcggcg ataccttata cggaatagct ttcaaaatg atattagcgt aaatgatttt 780
 ctaagaatta acaatataga tgatccttta aaatacaaat taagaacagg cgaaaaatta 840
 aaaatatatg caagagaaaa tgcctcaaat acacaaagca aaactataaa aacatataga 900
 gtaaaaaacg gagatactct tggagagata gcattaagaa attctatgtc ttgaaagat 960
 cttctcaat taaataatct aaaaaataat tatgtgctta aagtaggaga tactttaaaa 1020
 25 atatatgata atattaatat aacaagtctt tcaacatcaa caacatacag aactttggaa 1080
 aattataaag taaaaagcgg tgatacttta agcgggaatag ctctagcaag aggaatggat 1140
 ctagtagaat tatactccat aaataatata aatgacaaat atatttgaa agttggagat 1200
 aatcttaaag tatatgctaa ccctaaaaaa acaactactt tagtaatatc aaattataaa 1260
 gttcaaagcg gagatagttt atactcaata gcaaaaaaac ataaatgga ttaagagat 1320
 30 ttaatgcagc ttaataatat aaaaaatgct aatgaatata aattatatgt cggcgccaat 1380
 ctaaaagtaa aaacagcaaa aatgggtgctt tattctttta atgatgattc tatattacct 1440
 gacagctctt ttatatggcc ttataaagga ataataattt caggatatgg agtagcttct 1500
 gataaacttg caaacagagg tgtgaatata ttaggagatg taggagacaa agttgtagct 1560
 tctgatgacg gaatcgtaga atatgctgat aatataagag gattcggtac tgttataata 1620
 35 cttaaacata aaaacggata taatacttct tatgctcatc ttctaagat aaatgttaaa 1680
 cttggagata tagtaagaa aggagattat ataggagaca ttggcgatac tggtatgata 1740
 gatagaagcg aactatattt taagatttct ttcaggga gatcaataga tctgttaaa 1800

cttcttccta aaagt

1815

<210> 58

<211> 605

5 <212> PRT

<213> *Brachyspira hyodysenteriae*

<400> 58

Met Lys Asn Ile Phe Lys Tyr Ala Ser Ile Ile Gly Cys Thr Phe Ala

10 1 5 10 15

Ser Leu Asn Phe Ala Ala Asp Tyr Ile Asp Tyr Lys Val Lys Asn Gly

20 25 30

Asp Thr Leu Phe Gly Ile Ala Phe Ala His Asp Met Ser Ala Asn Glu

35 40 45

15 Phe Leu Lys Val Asn Asn Ile Lys Asp Pro Asp Lys Tyr Asn Leu Arg

50 55 60

Val Gly Glu Thr Leu Lys Val Lys Asp Lys Gly Tyr Thr Leu Val Tyr

65 70 75 80

Asp Ser Asp Asn Lys Val Phe Gly Leu Lys Gly Glu Glu Gly Asn Ser

20 85 90 95

Tyr Lys Asp Tyr Lys Val Lys Asn Gly Asp Thr Leu Phe Gly Ile Ala

100 105 110

Phe Ala His Gly Met Thr Ala Asn Glu Phe Leu Ala Ile Asn Asn Ile

115 120 125

25 Lys Asp Ala Asn Lys Tyr Asn Leu Arg Val Gly Gln Thr Leu Lys Val

130 135 140

Ala Asn Asn Gln Lys Glu Asn Asn Ala Ser Ser Asn Asn Ile Asn Asn

145 150 155 160

Ser Asp Asn Thr Glu Asn Tyr Asp Thr Tyr Lys Val Gln Ser Gly Asp

30 165 170 175

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

180 185 190

Leu Lys Ile Asn Asn Ile Asp Asp Pro Asp Lys Tyr Lys Leu Tyr Val

195 200 205

35 Gly Lys Thr Met Tyr Val Lys Ser Ser Lys Lys Glu Asn Asn Leu Asn

210 215 220

Thr Asn Asn Glu Lys Asp Thr Gly Lys Glu Ile Glu Tyr Tyr Thr Val

225 230 235 240
 Lys Ser Gly Asp Thr Leu Tyr Gly Ile Ala Phe Gln Asn Asp Ile Ser
 245 250 255
 Val Asn Asp Phe Leu Arg Ile Asn Asn Ile Asp Asp Pro Leu Lys Tyr
 5 260 265 270
 Lys Leu Arg Thr Gly Glu Lys Leu Lys Ile Tyr Ala Arg Glu Asn Ala
 275 280 285
 Ser Asn Thr Gln Ser Lys Thr Ile Lys Thr Tyr Arg Val Lys Asn Gly
 290 295 300
 10 Asp Thr Leu Gly Glu Ile Ala Leu Arg Asn Ser Met Ser Leu Lys Asp
 305 310 315 320
 Leu Leu Gln Leu Asn Asn Leu Lys Asn Asn Tyr Val Leu Lys Val Gly
 325 330 335
 Asp Thr Leu Lys Ile Tyr Asp Asn Ile Asn Ile Thr Ser Ser Ser Thr
 15 340 345 350
 Ser Thr Thr Tyr Arg Thr Leu Glu Asn Tyr Lys Val Lys Ser Gly Asp
 355 360 365
 Thr Leu Ser Gly Ile Ala Leu Ala Arg Gly Met Asp Leu Val Glu Leu
 370 375 380
 20 Tyr Ser Ile Asn Asn Ile Asn Asp Lys Tyr Ile Leu Lys Val Gly Asp
 385 390 395 400
 Asn Leu Lys Val Tyr Ala Asn Pro Lys Lys Thr Thr Thr Leu Val Ile
 405 410 415
 Ser Asn Tyr Lys Val Gln Ser Gly Asp Ser Leu Tyr Ser Ile Ala Lys
 25 420 425 430
 Lys His Lys Met Asp Leu Arg Asp Leu Met Gln Leu Asn Asn Ile Lys
 435 440 445
 Asn Ala Asn Glu Tyr Lys Leu Tyr Val Gly Ala Asn Leu Lys Val Lys
 450 455 460
 30 Thr Ala Lys Met Val Pro Tyr Ser Phe Asn Asp Asp Ser Ile Leu Pro
 465 470 475 480
 Asp Ser Ser Phe Ile Trp Pro Tyr Lys Gly Ile Ile Ile Ser Gly Tyr
 485 490 495
 Gly Val Ala Ser Asp Lys Leu Ala Asn Arg Gly Val Asn Ile Leu Gly
 35 500 505 510
 Asp Val Gly Asp Lys Val Val Ala Ser Asp Asp Gly Ile Val Glu Tyr
 515 520 525

Ala Asp Asn Ile Arg Gly Phe Gly Thr Val Ile Ile Leu Lys His Lys
 530 535 540
 Asn Gly Tyr Asn Thr Ser Tyr Ala His Leu Ser Lys Ile Asn Val Lys
 545 550 555 560
 5 Leu Gly Asp Ile Val Lys Lys Gly Asp Tyr Ile Gly Asp Ile Gly Asp
 565 570 575
 Thr Gly Met Ile Asp Arg Ser Glu Leu Tyr Phe Lys Ile Ser Tyr Gln
 580 585 590
 Gly Arg Ser Ile Asp Pro Val Lys Leu Leu Pro Lys Ser
 10 595 600 605

<210> 59

<211> 1068

15 <212> DNA

<213> *Brachyspira hyodysenteriae*

<400> 59

atgattagaa atattaaata tattttcatt atatatattat tagctatttc ctgctctaata 60
 20 tatagagtta ctgatccatt ctccattcaa aataatagta ataataacat aagcattata 120
 cctgaatatg tagatgctca atatttcatt aaagcagatt aactgaaca gcaaatagaa 180
 gaaataatga ataaatatcc cagaatttt ggagaatata taatatattt aaatgatact 240
 aaagataata tagataaaaa taaaacaata gaaacaataa ataaagtagt taataaacct 300
 gcttatttac ataacggagc tgctgttgat ttaagcagaa ctgatataac agaaatagca 360
 25 caaagtgcatt ttaatgcaaa taaaaattta atagaagtta agcttcctaa ctcatataaa 420
 actataaatt catcagcatt tcaatcatgc gaaagattaa aatatataaa tctagtaagc 480
 tctataaccg atatacaatc tgctgcattt caagactgta tgcctttaga aattattaat 540
 ataacatcaa aagtaaaaaac tatagctaata aatgcattta aaaatttgtt tactttaaga 600
 gaagtaatac ttctgaagg attaacttca atagcagatg gagcattcaa ttactgtaca 660
 30 tcattagaat caattaattt tccatcaact ttacaaacta taggcacagc agcattttac 720
 agctgtaaat cattaaaaag tataaaatta aatcaaggat taactacat aaatgataat 780
 gcttttaac ttgtctcatt attaacagct ataagcttac ctaatagtat aacaagcctt 840
 ttaaaccctt cagaaggtaa ggtttttct gattgtaaaa tgcttaaaaa tgttgaatat 900
 cttgatacag atcccgtaaa aataactaaa gaaatgata cattcagagg ttacactgta 960
 35 accgatttat accttcctaa tgtggcagaa gatcctaaaa atggaagctg ggataatttt 1020
 ttaggtgttg cttggacaac tattcattat ggaaaatcta tgcttagg 1068

<210> 60

<211> 356

<212> PRT

<213> *Brachyspira hyodysenteriae*

5

<400> 60

Met Ile Arg Asn Ile Lys Tyr Ile Phe Ile Ile Tyr Leu Leu Ala Ile

1 5 10 15

Ser Cys Ser Asn Tyr Arg Val Thr Asp Pro Phe Ser Ile Gln Asn Asn

10 20 25 30

Ser Asn Asn Asn Ile Ser Ile Ile Pro Glu Tyr Val Asp Ala Gln Tyr

35 40 45

Phe Ile Lys Ala Asp Tyr Thr Glu Gln Gln Ile Glu Glu Ile Met Asn

50 55 60

15 Lys Tyr Phe Gln Asn Phe Gly Glu Tyr Ile Ile Phe Leu Asn Asp Thr

65 70 75 80

Lys Asp Asn Ile Asp Lys Asn Lys Thr Ile Glu Thr Ile Asn Lys Val

85 90 95

Val Asn Lys Pro Ala Tyr Leu His Asn Gly Ala Ala Val Asp Leu Ser

20 100 105 110

Arg Thr Asp Ile Thr Glu Ile Ala Gln Ser Ala Phe Asn Ala Asn Lys

115 120 125

Asn Leu Ile Glu Val Lys Leu Pro Asn Ser Leu Lys Thr Ile Asn Ser

130 135 140

25 Ser Ala Phe Gln Ser Cys Glu Arg Leu Lys Tyr Ile Asn Leu Val Ser

145 150 155 160

Ser Ile Thr Asp Ile Gln Ser Ala Ala Phe Gln Asp Cys Met Ser Leu

165 170 175

Glu Ile Ile Asn Ile Thr Ser Lys Val Lys Thr Ile Ala Asn Asn Ala

30 180 185 190

Phe Lys Asn Cys Val Thr Leu Arg Glu Val Ile Leu Pro Glu Gly Leu

195 200 205

Thr Ser Ile Ala Asp Gly Ala Phe Asn Tyr Cys Thr Ser Leu Glu Ser

210 215 220

35 Ile Asn Phe Pro Ser Thr Leu Gln Thr Ile Gly Thr Ala Ala Phe Tyr

225 230 235 240

Ser Cys Lys Ser Leu Lys Ser Ile Lys Leu Asn Gln Gly Leu Thr Thr

245 250 255
Ile Asn Asp Asn Ala Phe Asn Leu Cys Ser Ser Leu Thr Ala Ile Ser
260 265 270
Leu Pro Asn Ser Ile Thr Ser Leu Leu Asn Pro Ser Glu Gly Lys Val
5 275 280 285
Phe Ser Asp Cys Lys Met Leu Lys Asn Val Glu Tyr Leu Asp Thr Asp
290 295 300
Pro Val Lys Ile Leu Lys Glu Asn Asp Thr Phe Arg Gly Ser Pro Val
305 310 315 320
10 Thr Asp Leu Tyr Leu Pro Asn Val Ala Glu Asp Pro Lys Asn Gly Ser
325 330 335
Trp Asp Asn Phe Leu Gly Val Ala Trp Thr Thr Ile His Tyr Gly Lys
340 345 350
Ser Met Pro Arg
15 355

<210> 61
<211> 1296
20 <212> DNA
<213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 61
atggatataa ttataataat agtgtaata ctttaaagtg gtattttgc catgtcggaa 60
25 attgcagtaa ttctgctag aaaatcttct cttatgaaag acagcaaaga aggaaataaa 120
ggcgcaaaga ctgcattagc tttagcagat aatcctgaca aattttatc tacaatacaa 180
ataggtataa cttaaatagg tatattaaca ggtatttact caggcgatac agttgccaaa 240
gaagttcaa atttactgt aaaaataaat gtaccattaa attatgcttc ttaatatgct 300
caggattgg tggtagcatt ggtaacatat ctacattga tattcggaga gcttgtgcct 360
30 aaaagaatag gaatggtaat gcctgaaaga atagcaaaag tggttgcagc tcctatgaca 420
atacttgcaa agataggtgc tcctttgtg tggatattat caaatagcgc attgcttgtt 480
tcaagagttt tgggtataaa agatgataaa agtcctgtta ctgaagagga aataaaatct 540
atgatagaag agggcagaca agggggagaa gtaaggaga tagaacagaa tattatagag 600
agggcttct tttgggaga tagaaaaata gaatctataa tgacacatag aaatgatatg 660
35 gtatttttag atataaatat gagtaatgat gagataaaaa agatagtatc aaaacattct 720
tttctgctt atcctgttgt tgataaaaat ttggataata tttaggagt tgtaagagta 780
actgatatat tcgataaatt aaatacttca aaggctaaaa tagaaaagtt tgtgaagaaa 840

gctaattact ttcataacaa tatggaagtt tatttggttc ttgaagagat gaaaaagaat 900
aataactaaaa taggtcttgt atcagatgag ttgggaata tagacggaat gattactcaa 960
agcgatatat tcgaggcttt agtgggttct gtaacagaag gaaaagacag taaggatatt 1020
agaaagagaa agagcggaag ttggttgta gatggtcaat gtctatgta tgatttctta 1080
5 gagtattttg aaatagaaga tgaaaatgct tctaataatt ataatactat aagcggtttg 1140
atttagaat tattacagca tgtacctagt gaaggagaat cttagaatg gaagaattta 1200
aatttagaag ttgtgatat ggacggtgct agaatagata aggttatagt aaataaaata 1260
gaaaaaactg atgaaaagaa tgattcagac actgaa 1296

10 <210> 62

<211> 432

<212> PRT

<213> Brachyspira hyodysenteriae

15 <400> 62

Met Asp Ile Ile Ile Ile Ile Val Leu Ile Leu Leu Asn Gly Ile Phe

1 5 10 15

Ala Met Ser Glu Ile Ala Val Ile Ser Ala Arg Lys Ser Ser Leu Met

20 25 30

20 Lys Asp Ser Lys Glu Gly Asn Lys Gly Ala Lys Thr Ala Leu Ala Leu

35 40 45

Ala Asp Asn Pro Asp Lys Phe Leu Ser Thr Ile Gln Ile Gly Ile Thr

50 55 60

Leu Ile Gly Ile Leu Thr Gly Ile Tyr Ser Gly Asp Thr Val Ala Lys

25 65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Ile Ala Gln Val Leu Val Val Ala Leu Val Thr Tyr Leu Thr

100 105 110

30 Leu Ile Phe Gly Glu Leu Val Pro Lys Arg Ile Gly Met Val Met Pro

115 120 125

Glu Arg Ile Ala Lys Val Val Ala Ala Pro Met Thr Ile Leu Ala Lys

130 135 140

Ile Gly Ala Pro Phe Val Trp Ile Leu Ser Asn Ser Ala Leu Leu Val

35 145 150 155 160

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

165 170 175

Glu Ile Lys Ser Met Ile Glu Glu Gly Arg Gln Gly Gly Glu Val Lys
180 185 190
Glu Ile Glu Gln Asn Ile Ile Glu Arg Ala Phe Phe Leu Gly Asp Arg
195 200 205
5 Lys Ile Glu Ser Ile Met Thr His Arg Asn Asp Met Val Phe Leu Asp
210 215 220
Ile Asn Met Ser Asn Asp Glu Ile Lys Lys Ile Val Ser Lys His Ser
225 230 235 240
Phe Ser Ala Tyr Pro Val Val Asp Lys Asn Leu Asp Asn Ile Val Gly
10 245 250 255
Val Val Arg Val Thr Asp Ile Phe Asp Lys Leu Asn Thr Ser Lys Ala
260 265 270
Lys Ile Glu Lys Phe Val Lys Lys Ala Asn Tyr Phe His Asn Asn Met
275 280 285
15 Glu Val Tyr Leu Val Leu Glu Glu Met Lys Lys Asn Asn Thr Lys Ile
290 295 300
Gly Leu Val Ser Asp Glu Phe Gly Asn Ile Asp Gly Met Ile Thr Gln
305 310 315 320
Ser Asp Ile Phe Glu Ala Leu Val Gly Ser Val Thr Glu Gly Lys Asp
20 325 330 335
Ser Lys Asp Ile Arg Lys Arg Lys Ser Gly Ser Trp Phe Val Asp Gly
340 345 350
Gln Cys Pro Met Tyr Asp Phe Leu Glu Tyr Phe Glu Ile Glu Asp Glu
355 360 365
25 Asn Ala Ser Asn Asn Tyr Asn Thr Ile Ser Gly Leu Ile Leu Glu Leu
370 375 380
Leu Gln His Val Pro Ser Glu Gly Glu Ser Leu Glu Trp Lys Asn Leu
385 390 395 400
Asn Leu Glu Val Val Asp Met Asp Gly Ala Arg Ile Asp Lys Val Ile
30 405 410 415
Val Asn Lys Ile Glu Lys Thr Asp Glu Lys Asn Asp Ser Asp Thr Glu
420 425 430

35 <210> 63
<211> 2940
<212> DNA

<213> *Brachyspira hyodysenteriae*

<400> 63

atgcgaatct ttatcttggt attatttaca ttgattttta atgtatgttt atatgctcag 60
 5 gataactaatg taaataatac agcagcaaca aataatacta ctgcagcaac caataatgta 120
 ggcgaaagtg caataatgca gataaataga ttgatgcta aaagaaatcc tgtatcattt 180
 attaatttag ttaattttac accatattat gtattgcagg aatatgctag ggtaataat 240
 atagaaattt atccctatga tactgaaagt acattaagag caagaatcat tgaaagacaa 300
 gtaaataata aacaggaagt tattaataat aaagatgaaa tacgcgaagt agcaagaaca 360
 10 actataaata gaggcgggtgc tcaggtagaa cttatagggtg cagattttgc tgaaagatat 420
 accatagatg aagcagggtga agagcttata tcattatatg gtaatgttac catgaaaatg 480
 tataataata cattagtgc tgataagggt gtttatagct taaaaacagg agaagtttt 540
 gcttcaggaa atttaactgt agcatctgaa ggaagtactt tcaaagggtga atggtttatg 600
 cttaatagag aaagtaaaag aggcatacta ttgcgcggaa atacgaaatt catgagtttt 660
 15 acagttgaag ggcgtataat taaatttaac gaccaagatt ttttgctga aaacagcagt 720
 gtgagtttt cagctcttac tcctatagcg catgatttt tagcgagtag agtttatctt 780
 tgggatacta aaaagatgat gggtttcaat agtatctata gggtaggaag acagcctgta 840
 tttattttc cattattat acagaataat ttggtagctg gtataatac ttctttggg 900
 cagtctttga gagaagggtg ttatatcaa aattataaga tattaattt atatgggtg 960
 20 cagcataaga taagattcga tgcctatcag aaattagggt tttattagg agatgaaata 1020
 aggtatacaa gtcagtatca ggatttagca ctgatgcta tgttgcttt tggaaggcag 1080
 tattatttat ttgattccta tattacttca agttaggat ttgttacaag gtatgttaac 1140
 tttttggat cagggtgaagg cggaaagtt gtaccaagat ataaatttca atatgatcat 1200
 accattcaat tatataatag tcaaaatata aatagttata ttacaggaaa gttaaattta 1260
 25 aatagcgact tatatttcag atctgatttt tacaatcaaa gaggacagtt tgatatatta 1320
 acattttta catcacttac aggaaattg caggacatag gagattctta tcctgaaaat 1380
 tatattgaaa attctgttta tcttaataat aatatttacg gacttaattt aaaagttggt 1440
 gcagaatggg atttagaatc tgtagaaat atatcggttg atgttaatac taatttcgac 1500
 tattatatgc ctaaaccata taaacttgta ctctctctg tagaagctag ttacaattct 1560
 30 atatttgga atgagacatc ttattacttt ccaaacttta acattaacta taatttaaga 1620
 gctaattata atcactat aaattataag acttctgaag gtattgcttt ttataacaat 1680
 cctatgcttg actcacaatt aatgataaaa ctgctgaaa gagataatct taattfacat 1740
 ggtgatatat caagagcttt tactaatgat ttttaagat ttgtacctag cttaatatg 1800
 gaatactcat atcaaaatag tatagatcct aaagcagaag atttgattta tgataaagat 1860
 35 aatacttact ttggtatagg cacaggaatg aattttcta tgttttacc ttacagtata 1920
 ttgccatatg attcacaag atatttgaa cctactgtta gatgggatac aacatatata 1980
 ttgggatata gatttaaga aaaatacatt gatacagatt ataaagattc tcaattcggg 2040

gaatttaata atcatagctt tacaactaga tttctatgg gcggaaccgg atacagctta 2100
 ttttattgc ctgattgaa tctcaatatg gaaacattta taactacagg ttatgattt 2160
 atacctagtt ataattcaga aacaagaact tatcaagttg aattttctac aaataaaatg 2220
 ctacaactg aagtaggtgc ttcagcaaga cttttatata atcaatctta tgtttcttat 2280
 5 gatataacta gaaatttatt aggaactaat ttaacagcaa atagaataaa tgcataattt 2340
 cactttccta tacctttagg taaaattaca gattggattt taataaaaaa caataaaaga 2400
 cctttctttg atggtatagt taatgattt aatttatatt ttggtttgc ctttactcat 2460
 gattttataa attatagata taatactacc gcatttcat ttggtataga gcttcagggt 2520
 ttggaacaat ggaaatttag aatagcaact actagtcaa atgagaatgc atatagatat 2580
 10 ataaaatctt atgcagaaaa agaaaatcaa acttgggtta atccttttg ggatatcata 2640
 aattcattca atttctctga cagtaaaaaa agaactgaaa gtttatttaa attaaaatct 2700
 atagaagcta gtgtttggca tgaattagac ggatggcaga ttcaggctac atttctgta 2760
 agaccttcta ctctccctc tgatattact tcagggtcag taaaaggagt ttattggaac 2820
 aaggagttt ggattgaatt tactcttaca gacttccta atgttggtt gcctaagaaa 2880
 15 gaatataatc ttaatagtac tattaccgat ttacaagata gtgctgctgt tactactcca 2940

<210> 64
 <211> 980
 20 <212> PRT
 <213> Brachyspira hyodysenteriae

<400> 64
 Met Arg Ile Phe Ile Leu Leu Leu Phe Thr Leu Ile Phe Asn Val Cys
 25 1 5 10 15
 Leu Tyr Ala Gln Asp Thr Asn Val Asn Asn Thr Ala Ala Thr Asn Asn
 20 25 30
 Thr Thr Ala Ala Thr Asn Asn Val Gly Glu Ser Ala Ile Met Gln Ile
 35 40 45
 30 Asn Arg Phe Asp Ala Lys Arg Asn Pro Val Ser Phe Ile Asn Leu Val
 50 55 60
 Asn Phe Thr Pro Tyr Tyr Val Leu Gln Glu Tyr Ala Arg Val Asn Asn
 65 70 75 80
 Ile Glu Ile Tyr Pro Tyr Asp Thr Glu Ser Thr Leu Arg Ala Arg Ile
 35 85 90 95
 Ile Glu Arg Gln Val Asn Ile Lys Gln Glu Val Ile Asn Asn Lys Asp
 100 105 110

Glu Ile Arg Glu Val Ala Arg Thr Thr Ile Asn Arg Gly Gly Ala Gln
 115 120 125
 Val Glu Leu Ile Gly Ala Asp Phe Ala Glu Arg Tyr Thr Ile Asp Glu
 130 135 140
 5 Ala Gly Glu Glu Leu Ile Ser Leu Tyr Gly Asn Val Thr Met Lys Met
 145 150 155 160
 Tyr Asn Asn Thr Leu Val Ala Asp Lys Val Val Tyr Ser Leu Lys Thr
 165 170 175
 Gly Glu Val Phe Ala Ser Gly Asn Leu Thr Val Ala Ser Glu Gly Ser
 10 180 185 190
 Thr Phe Lys Gly Glu Trp Phe Met Leu Asn Arg Glu Ser Lys Arg Gly
 195 200 205
 Ile Leu Phe Gly Gly Asn Thr Lys Phe Met Ser Phe Thr Val Glu Gly
 210 215 220
 15 Arg Ile Ile Lys Phe Asn Asp Gln Asp Phe Phe Ala Glu Asn Ser Ser
 225 230 235 240
 Val Ser Phe Ser Arg Leu Thr Pro Ile Ala His Asp Phe Leu Ala Ser
 245 250 255
 Arg Val Tyr Leu Trp Asp Thr Lys Lys Met Met Val Phe Asn Ser Ile
 20 260 265 270
 Tyr Arg Val Gly Arg Gln Pro Val Phe Tyr Phe Pro Leu Phe Ile Gln
 275 280 285
 Asn Asn Phe Gly Thr Gly Ile Ile Ser Ser Phe Gly Gln Ser Leu Arg
 290 295 300
 25 Glu Gly Val Tyr Ile Gln Asn Tyr Lys Ile Phe Asn Leu Tyr Gly Val
 305 310 315 320
 Gln His Lys Ile Arg Phe Asp Ala Tyr Gln Lys Leu Gly Phe Leu Leu
 325 330 335
 Gly Asp Glu Ile Arg Tyr Thr Ser Gln Tyr Gln Asp Leu Ala Leu Asp
 30 340 345 350
 Ala Met Phe Ala Phe Gly Arg Gln Tyr Tyr Leu Phe Asp Ser Tyr Ile
 355 360 365
 Thr Ser Ser Val Gly Phe Gly Thr Arg Tyr Val Asn Tyr Phe Gly Ser
 370 375 380
 35 Gly Glu Gly Gly Lys Phe Val Pro Arg Tyr Lys Phe Gln Tyr Asp His
 385 390 395 400
 Thr Ile Gln Leu Tyr Asn Ser Gln Asn Ile Asn Ser Tyr Ile Thr Gly

405 410 415
 Lys Leu Asn Leu Asn Ser Asp Leu Tyr Phe Arg Ser Asp Phe Tyr Asn
 420 425 430
 Gln Arg Gly Gln Phe Asp Ile Leu Thr Phe Phe Thr Ser Leu Thr Gly
 5 435 440 445
 Asn Leu Gln Asp Ile Gly Asp Ser Tyr Pro Glu Asn Tyr Ile Glu Asn
 450 455 460
 Ser Val Tyr Leu Asn Asn Asn Ile Tyr Gly Leu Asn Leu Lys Val Gly
 465 470 475 480
 10 Ala Glu Trp Asp Leu Glu Ser Val Arg Asn Ile Ser Val Asp Val Asn
 485 490 495
 Thr Asn Phe Asp Tyr Tyr Met Pro Lys Pro Tyr Lys Leu Val Leu Pro
 500 505 510
 Ser Val Glu Ala Ser Tyr Asn Ser Ile Phe Gly Asn Glu Thr Ser Tyr
 15 515 520 525
 Tyr Phe Pro Asn Leu Asn Ile Asn Tyr Asn Leu Arg Ala Asn Tyr Asn
 530 535 540
 His Thr Ile Asn Tyr Lys Thr Ser Glu Gly Ile Ala Phe Tyr Asn Asn
 545 550 555 560
 20 Pro Met Leu Asp Ser Gln Leu Asn Asp Lys Leu Ala Glu Arg Asp Asn
 565 570 575
 Leu Asn Leu His Gly Asp Ile Ser Arg Ala Phe Thr Asn Asp Phe Leu
 580 585 590
 Arg Phe Val Pro Ser Phe Asn Met Glu Tyr Ser Tyr Gln Asn Ser Ile
 25 595 600 605
 Asp Pro Lys Ala Glu Asp Leu Ile Tyr Asp Lys Asp Asn Thr Tyr Phe
 610 615 620
 Gly Ile Gly Thr Gly Met Asn Phe Ser Met Phe Leu Pro Tyr Ser Ile
 625 630 635 640
 30 Leu Pro Tyr Asp Phe Thr Arg Tyr Phe Glu Pro Thr Val Arg Trp Asp
 645 650 655
 Thr Thr Tyr Thr Leu Gly Tyr Arg Phe Lys Glu Lys Tyr Ile Asp Thr
 660 665 670
 Asp Tyr Lys Asp Ser Gln Phe Gly Glu Phe Asn Asn His Ser Phe Thr
 35 675 680 685
 Thr Arg Phe Ser Met Gly Gly Thr Gly Tyr Ser Leu Phe Tyr Leu Pro
 690 695 700

Asp Leu Asn Leu Asn Met Glu Thr Phe Ile Thr Thr Gly Tyr Asp Phe
 705 710 715 720
 Ile Pro Ser Tyr Asn Ser Glu Thr Arg Thr Tyr Gln Val Glu Phe Ser
 725 730 735
 5 Thr Asn Lys Met Leu Thr Thr Glu Val Gly Ala Ser Ala Arg Leu Leu
 740 745 750
 Tyr Asn Gln Ser Tyr Val Ser Tyr Asp Ile Thr Arg Asn Leu Leu Gly
 755 760 765
 Thr Asn Leu Thr Ala Asn Arg Ile Asn Ala Tyr Phe His Phe Pro Ile
 10 770 775 780
 Pro Leu Gly Lys Ile Thr Asp Trp Ile Leu Ile Lys Asn Asn Lys Arg
 785 790 795 800
 Pro Phe Phe Asp Gly Ile Val Asn Asp Phe Asn Leu Tyr Phe Gly Phe
 805 810 815
 15 Ala Phe Thr His Asp Phe Ile Asn Tyr Arg Tyr Asn Thr Thr Ala Phe
 820 825 830
 Thr Phe Gly Ile Glu Leu Gln Val Leu Glu Gln Trp Lys Phe Arg Ile
 835 840 845
 Ala Thr Thr Ser Ala Asn Glu Asn Ala Tyr Arg Tyr Ile Lys Ser Tyr
 20 850 855 860
 Ala Glu Lys Glu Asn Gln Thr Trp Val Asn Pro Phe Trp Asp Ile Ile
 865 870 875 880
 Asn Ser Phe Asn Phe Ser Asp Ser Lys Lys Arg Thr Glu Ser Leu Phe
 885 890 895
 25 Lys Leu Lys Ser Ile Glu Ala Ser Val Trp His Glu Leu Asp Gly Trp
 900 905 910
 Gln Ile Gln Ala Thr Phe Ala Val Arg Pro Ser Thr Leu Pro Ser Asp
 915 920 925
 Ile Thr Ser Gly Ser Val Lys Gly Val Tyr Trp Asn Lys Glu Phe Trp
 30 930 935 940
 Ile Glu Phe Thr Leu Thr Asp Phe Pro Asn Val Gly Leu Pro Lys Lys
 945 950 955 960
 Glu Tyr Asn Leu Asn Ser Thr Ile Thr Asp Leu Gln Asp Ser Ala Ala
 965 970 975
 35 Val Thr Thr Pro
 980

<210> 65

<211> 1611

<212> DNA

5 <213> *Brachyspira hyodysenteriae*

<400> 65

atgtcagaga ataaaacagt aagtaaagaa aagatagcta aatcatcatt aaaaatgtca 60
 ttggttaacta ctgtaagcag agtattcgga ctgtaagag atcaaataca ggccggctttg 120
 10 ctgtgtacta cattcatagc agatgctttt gcaataggat ttatacttcc aaatttattg 180
 aggcgattat ttgctgaagg caatatgggt gcaagcttta tacctgtatt tacagagctt 240
 gaaaaagaaa aaggattga agaatcaaag aaattttta gggcagtttt tacattattg 300
 ggattaatac ttatagtagt tgtaggcac ggaataataa tatctccttt gcttgtaaaa 360
 atactttata aatctgcaca taataatata gaagcactta atttggcac ggatctatca 420
 15 agaataatgt ttcttatct tctatttata tctttggcag ctttgatgca gggcgactt 480
 aatataagag gctattattc aatcacgct gcaagtccta tacttttaa tactgtaatt 540
 atatctatgg cttgttctt taaattctt ttacctaat ttttaataa tatggcttat 600
 gtatttgcac ttgctgtgct gcttggtgga ttctacagt ttgcctatca aatgcctttt 660
 gtacataaac aagggttttag ttcaagcct tattttcatt ttaaagaacc ctatgtcata 720
 20 aagatgataa aattatttgc tcttggtatt ttccggagcta gtatatatca gataaatttg 780
 cttgtttcta ctgcatttgc tggagctatt ggagagggca gggtttcagc tgttactttt 840
 gctactagaa tacatgaatt tgttttgggc gtttttgctg tgagtgtggc aactgttatg 900
 cttcctactt taagtaaatt aatagctgat aataaaaaag atgaagctgt tgaaaattta 960
 ggatattctt taaggcttgt tgctttagt actattcctg ctactttcgg atttgttgta 1020
 25 cttggcagag aaattgtaag aatgatattt gaatatggag cttttcttc aaaatctaca 1080
 tatttagtat cgagtgcctt aagatattta tccatatact tattctttgt ggcaagctat 1140
 agaatacttg tacagtcatt ttatgctatg aaagatatga aaactcctgt atatgtggca 1200
 tttttacct ttattattaa tgctgttagt aattatttat gtgtttatat atttaaattc 1260
 gatattatag gaatatctat atcaagtgtt gttgcaaata ttgtatcttt ttgtatacta 1320
 30 tatatattgc ttataaagag aatggcagtg aaatcgataa taaataaaaa aattgaggtt 1380
 gtaaagacat tggctgctag ttattttatg gctgcttctg tctatggaat gaaatattat 1440
 ttattataca gcaatgccga ttctaggata atttttataa ttaaagtatt tatagtata 1500
 ttattaggag ttgtgttta ttctataatg aacattatat taagaaatga tgattttgtt 1560
 tcctttatta gtatgtttta aggcagatta tcaagaaagt ttctgaaaaa a 1611

35

<210> 66

<211> 537

<212> PRT

<213> *Brachyspira hyodysenteriae*

<400> 66

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

260 265 270
 Gly Arg Val Ser Ala Val Thr Phe Ala Thr Arg Ile His Glu Phe Val
 275 280 285
 Leu Gly Val Phe Ala Val Ser Val Ala Thr Val Met Leu Pro Thr Leu
 5 290 295 300
 Ser Lys Leu Ile Ala Asp Asn Lys Lys Asp Glu Ala Val Glu Asn Leu
 305 310 315 320
 Gly Tyr Ser Leu Arg Leu Val Ala Leu Val Thr Ile Pro Ala Thr Phe
 325 330 335
 10 Gly Phe Val Val Leu Gly Arg Glu Ile Val Arg Met Ile Phe Glu Tyr
 340 345 350
 Gly Ala Phe Ser Ser Lys Ser Thr Tyr Leu Val Ser Ser Ala Leu Arg
 355 360 365
 Tyr Leu Ser Ile Ser Leu Phe Phe Val Ala Ser Tyr Arg Ile Leu Val
 15 370 375 380
 Gln Ser Phe Tyr Ala Met Lys Asp Met Lys Thr Pro Val Tyr Val Ala
 385 390 395 400
 Phe Phe Thr Phe Ile Ile Asn Ala Val Ser Asn Tyr Leu Cys Val Tyr
 405 410 415
 20 Ile Phe Lys Phe Asp Ile Ile Gly Ile Ser Ile Ser Ser Val Val Ala
 420 425 430
 Asn Ile Val Ser Phe Cys Ile Leu Tyr Ile Leu Leu Ile Lys Arg Met
 435 440 445
 Ala Val Lys Ser Ile Ile Asn Lys Lys Ile Glu Val Val Lys Thr Leu
 25 450 455 460
 Ala Ala Ser Leu Phe Met Ala Ala Ser Val Tyr Gly Met Lys Tyr Tyr
 465 470 475 480
 Leu Leu Tyr Ser Asn Ala Asp Ser Arg Ile Ile Phe Ile Ile Lys Val
 485 490 495
 30 Phe Ile Val Ile Leu Leu Gly Val Val Val Tyr Ser Ile Met Asn Ile
 500 505 510
 Ile Leu Arg Asn Asp Asp Phe Val Ser Phe Ile Ser Met Phe Lys Gly
 515 520 525
 Arg Leu Ser Arg Lys Phe Leu Lys Lys
 35 530 535

	<210> 67	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
5		
	<400> 67	
	aaacgtttat atttatfff atc	23
	<210> 68	
10	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 68	
15	aaacttccaa gtgatacc	18
	<210> 69	
	<211> 20	
	<212> DNA	
20	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 69	
	aaatataaac ctacaagcag	20
25	<210> 70	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
30	<400> 70	
	aatatttcag ttaatctaaa atc	23
	<210> 71	
	<211> 24	
35	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	

	<400> 71	
	actttaatct ttgtattaat ttg	24
	<210> 72	
5	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 72	
10	ttgttttaat ttgataatat cag	23
	<210> 73	
	<211> 29	
	<212> DNA	
15	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 73	
	aaaaaaatta ttttattaat atttatatt	29
20	<210> 74	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
25	<400> 74	
	ttctcttata atctttacag ttg	23
	<210> 75	
	<211> 19	
30	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 75	
	catatttctg gtgattctc	19
35		
	<210> 76	
	<211> 27	

	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 76	
5	tttttgata aataagttt ttattg	27
	<210> 77	
	<211> 28	
	<212> DNA	
10	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 77	
	tttaatactc ctatattatt aattattt	28
15	<210> 78	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
20	<400> 78	
	aaggagaatc accagaaa	18
	<210> 79	
	<211> 23	
25	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 79	
	aatgatatta ttaaagtgat aaa	23
30		
	<210> 80	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
35		
	<400> 80	
	aaaatctaataaacggatt	20

	<210> 81	
	<211> 20	
	<212> DNA	
5	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 81	
	aaatatgctt ccattatagg	20
10	<210> 82	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
15	<400> 82	
	acttttagga agaagtttaa c	21
	<210> 83	
	<211> 25	
20	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 83	
	tatattttca ttatatattt attag	25
25	<210> 84	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
30	<400> 84	
	ctaggcatag attttcca	18
	<210> 85	
35	<211> 22	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	

	<400> 85	
	tttgccatgt cggaaattgc ag	22
5	<210> 86	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
10	<400> 86	
	tattctagca ccgtccatat c	21
	<210> 87	
	<211> 23	
15	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 87	
	gtatgtttat atgctcagga tac	23
20	<210> 88	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
25	<400> 88	
	aacagcagca ctatcttgta a	21
	<210> 89	
30	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 89	
35	cagcagcaac aaataatact actg	24
	<210> 90	

	<211> 25	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
5	<400> 90	
	tgaatataaa caccttctct caaag	25
	<210> 91	
	<211> 26	
10	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 91	
	aaaatgtcat tggtactac tgtaag	26
15	<210> 92	
	<211> 25	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
20	<400> 92	
	cttgataatc tgccttaaa catac	25
	<210> 93	
25	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 93	
30	atgtgaggaa aaaacagaaa g	21
	<210> 94	
	<211> 22	
	<212> DNA	
35	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 94	

	tcattaccag aaaaccatac tc	22
	<210> 95	
	<211> 27	
5	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 95	
10	aggaaataaa gtcctgctg cttcagc	27
	<210> 96	
	<211> 26	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
15	<400> 96	
	gcatagcagc aacttcagaa ggtcca	26
	<210> 97	
20	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 97	
25	cttattaatt ggtataggaa aacc	24
	<210> 98	
	<211> 25	
	<212> DNA	
30	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 98	
	aatctatggt cttgatttat tagcc	25
35	<210> 99	
	<211> 27	
	<212> DNA	

	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 99	
	agaagctact ttggacctt GGCCTGT	27
5		
	<210> 100	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
10		
	<400> 100	
	acacagtcaa caccaagagc	20
	<210> 101	
15	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 101	
20	aaacagcaga ctagctggtg	20
	<210> 102	
	<211> 27	
	<212> DNA	
25	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 102	
	tgaccattac ttacaccgga tacccca	27
30	<210> 103	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
35	<400> 103	
	ttaatgacta tatcgctttc atacacttc	30

	<210> 104	
	<211> 29	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
5		
	<400> 104	
	tcaattcttc cagacataaa atcagtaag	29
	<210> 105	
10	<211> 22	
	<212> DNA	
	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 105	
15	tatatagagt gggatcaga ag	22
	<210> 106	
	<211> 22	
	<212> DNA	
20	<213> Brachyspira hyodysenteriae	
	<400> 106	
	tcataatggt attacaaga tg	22
25	<210> 107	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> Artificial Sequence	
30	<220>	
	<223> pTrcHis-F primer	
	<400> 107	
	caatttatca gacaatctgt gtg	23
35		
	<210> 108	
	<211> 23	

<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>

5 <223> pTrcHis-R primer

<400> 108

tgccctggcag ttcctactc tcg

23

10