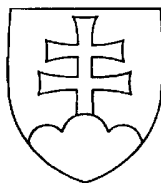


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19)

SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

**ZVEREJNENÁ
PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA**

(11), (21) Číslo dokumentu:

1128-2003

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁷ :

**C12N 7/04,
A61K 39/12,
C12N 15/40,
C12N 7/06,
C12N 7/08**

- (22) Dátum podania prihlášky: **7. 3. 2002**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **60/274 603**
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **9. 3. 2001**
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **US**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **3. 2. 2004**
Vestník ÚPV SR č.: **2/2004**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky
v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky
podľa PCT: **PCT/EP02/02486**
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky
podľa PCT: **WO02/072802**

(71) Prihlasovateľ: **BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA GMBH, Ingelheim am Rhein, DE;**

(72) Pôvodca: **Elbers Knut, Gau-Algesheim, DE;
Peschke Stefan, Münster, DE;
Schuetz Bettina, Meckenheim-Merl, DE;**

(74) Zástupca: **Majlingová Marta, Ing., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Oslabený európsky PRRS vírus, nukleotidová sekvencia kódujúca vírus, spôsob generovania infekčného ži-
vého oslabeného PRRS vírusu, bunková línia a farmaceutický prostriedok s jeho obsahom a jeho použitie**

(57) Anotácia:
Oslabený európsky PRRS vírus, ktorý je oslabený prostredníctvom nukleokyselinových mutácií v špecifických miestach vírusového proteínu kódovaných s ORF2, 3 a 5. Sú opísané aj nukleotidové sekvencie kódujúce uvedené vírusy, spôsoby generovania takýchto vírusov a farmaceutický prostriedok obsahujúci PRRS vírusy a použitie PRRS vírusu na výrobu vakcíny na profylaxiu a liečenie PRRSV infekcií.

Oslabený európsky PRRS vírus, nukleotidová sekvencia kódujúca vírus, spôsob generovania infekčného živého oslabeného PRRS vírusu, bunková línia a farmaceutický prostriedok s jeho obsahom a jeho použitie

Oblasť techniky

Predložený vynález sa týka živých oslabených európskych PRRS vírusov, ktoré sú oslabené prostredníctvom nukleokyselinových mutácií v špecifických miestach. Vynález sa týka aj nukleotidových sekvencií kódujúcich uvedené vírusy, spôsobov generovania takýchto vírusov a farmaceutického prostriedku obsahujúceho uvedené PRRS vírusy a použitia PRRS vírusu na výrobu vakcíny na profylaxiu a liečenie PRRS infekcií.

Doterajší stav techniky

Reprodukčný a respiračný syndróm ošipaných (PRRS) je spôsobený obaleným RNA vírusom s pozitívnym vláknom z čeľade *Arteriviridae* (Snijder E.J., Meuleberg J.J.M. 1998. „The molecular biology of arteriviruses“. Journal of General Virology 79(5): 961-971). Pred približne 10 až 15 rokmi sa objavili dva rozdielne PRRS vírusové kmene očividne nezávisle v USA a Európe. Ochorenie je teraz endemické v mnohých krajinách produkujúcich ošipané v Severnej Amerike, Európe a Ázii. Stále je hlavnou príčinou reprodukčnej straty a respiračného ochorenia u ošipaných. V USA sa prevalencia infekcie odhaduje na do 70 %.

Vírus sa prenáša inhalovaním, prehĺtnutím, koitom, ranami po uhryznutí alebo ihlami. Replikuje sa v slizničných, pľúcnych alebo regionálnych makrofágoch. Subklinicky ochorenie vedie k odozneniu alebo k trvalej infekcii. Trvalo infikované zvieratá vylučujú vírus do orálnych/hltanových tekutín, krvi, výkalov, moču a spermy. Klinické symptómy u prasníc súvisia s potratmi alebo s predčasnými vrhmi so slabými novonarodenými prasiatkami, mŕtvonarodenými prasiatkami a autolyzovanými plodmi. Infikované novonarodené prasiatka majú vysokú úmrtnosť a trpia na pneumóniu. Následné ošetrovanie a chov prasiatok je komplikovaný

7P 1128-2003

pneumóniou, paralelnými bakteriálnymi infekciami a zvýšenou úmrtnosťou. Kance sú náchylné na horúčku a morfológické zmeny v sperme.

Ako u všetkých arterivírusov je PRRS vírusovým genómom jednovláknová pozitívna RNA molekula s dĺžkou približne 15 kilobáz. ORF's (otvorený čítací rámec) 1a a 1b kódujú replikázy, ORF's 2 až 5 údajné glykoproteíny (gp 1 až 4), ORF 6 kóduje membránový proteín (M) a ORF 7 kóduje nukleokapsidový proteín (N).

Pôvodné opisy PRRS infekcie v USA (WO 93/03760, izolát ATCC VR-2332, uložený 18. júla 1991 v American Type Culture Collection v Rockville, Maryland, USA, NCBI GeneBank prístupové číslo U 87392 U00153) a v Európe (WO 92/21375, izolát Lelystad agent (CDI-NL-2.91), prístupové číslo CNCM I-1102, uložený 5. júna 1991 v Pasterovom inštitúte v Paríži; NCBI GeneBank prístupové čísla M 96262 [gi:11125727, C 002533 [gi:11138120]) identifikovali vírusy, ktoré majú genomické a serologické rozdiely. Porovnanie demonštrovalo, že oba majú spoločného predka, ktorý sa rozdelil pred tým, ako bolo klinické ochorenie opísané, na konci osemdesiatych rokov. Boli publikované kompletne genomické sekvencie pre množstvo PRRS vírusov a ich kompletne oblasti kódujúce štrukturálne proteíny (Snijder a ďalší, vyššie; Meulenberg J.J.M., Hulst, M.M. a ďalší, 1993. Lelystad virus, the causative agent of porcine epidemic abortion and respiratory syndrome..., Virology 1992, 62-72; Conzelmann K.K., Visser N., Van Woensel P., Thiel H.J., 1993. Molekulová charakterizácia vírusu reprodukčného a respiračného syndrómu ošípaných, člena arterivírusovej skupiny, je uvedená vo Virology 103, 329-339; Murtaugh M.P., Elam M.R., Kakach L.T., 1995. Porovnanie sekvencií kódujúcich štrukturálne proteíny VR-2332 a Lelystad vírusových kmeňov PRRS vírusu je uvedené v Archives of Virology 140, 1451-1460; Kapur V., Elam M.R., Pawtovich T.M. Murtaugh M.P., 1996: Genetic variation in porcine reproductive ad respiratory syndrom virus isolates in the midwestern United States, Journal of General Virology 77, 1271-1276).

PRRS vírus sa môže replikovať *in vitro* v prasačích pľúcnych makrofágoch, monocytoch, gliových bunkách a dvoch MA-104 bunkových subpopuláciách (embryonické opičie obličkové bunky) známych ako CL-2621 a MARC-145 (K.D. Rossow, Porcine reproductive ad respiratory syndrome, Vet Pathol 35:1-20, 1998).

Rekombinantné prostriedky na generovanie infekčných PRRS klonov sú dostupné (EP 0839912).

Na ochranu ošipaných sú komerčne dostupné živé oslabené PRRS vakcíny (RespPRRS/Ingelvac® PRRS MLV, Boehringer Ingelheim). Usmrtené vakcíny (úplne inaktivovaný vírus) alebo podjednotkové vakcíny (bežne purifikované a heterológne exprimované purifikované vírusové proteíny) sú často horšej kvality ako živé vakcíny, čo sa týka ich účinnosti pri produkovani úplnej ochrannej imunitnej reakcie aj v prítomnosti adjuvans. Pre PRRS bolo demonštrované, že v porovnaní s usmrtenými vakcínami, ktoré sú v súčasnosti dostupné, indukujú oslabené vakcíny imunitu voči ochoreniu, ktorá trvá dlhšie a je účinnejšia (Snijder a ďalší, citované vyššie). Súčasné živé PRRS vakcíny sú oslabované zvyčajne sériovým pasážovaním vírusu na vhodných hostiteľských bunkách, až kým sa nestratí patogénnosť (American kmeň: EP 0529584; európsky kmeň: EP0676467; EP 0835930).

Súčasné živé PRRS vakcíny stále nechávajú priestor na zlepšovanie. Za prvé, nezabraňujú opätovnej infekcii. Za druhé, neumožňujú serologické rozlišovanie medzi očkovanými zvieratami a zvieratami infikovanými prirodzeným vírusom. Okrem toho, živá vakcína zahŕňa teoretické riziko reverzie na neoslabený fenotyp. Najmä RNA vírusy, ako je PRRS vírus, sú považované za vírusy, ktoré majú vysoké podiely mutácie v dôsledku nepresnej replikácie RNA genómu, ktorá je spôsobená chýbaním kontrolného čítania pri RNA replikačnom enzýme. Pri zvyčajnom izolovaní oslabených vírusov získaných bežným viacnásobným pasážovaním ostáva neznámy molekulový pôvod, ako aj genetická stabilita, a znaky revertantov sa nedajú predpokladať.

Takže problémom, ktorý rieši vynález, je poskytnutie zlepšených PRRS vírusových kmeňov, ktoré môžu byť použité na výrobu vakcín, ktoré prekonávajú nevýhody predchádzajúceho stavu techniky.

Podstata vynálezu

Pred opisom uskutočnení predložené vynálezu sa musí poznamenať, že jednotné číslo používané v opise a v pripojených nárokoch zahŕňa aj množné číslo,

ak z kontextu jasne nevyplýva inak. Takže napríklad výraz „PRRS vírus“ zahŕňa množstvo takýchto PRRS vírusov, výraz „bunka“ zahŕňa jednu alebo viacero buniek a ich ekvivalenty známe priemernému odborníkovi v oblasti a tak ďalej. Ak nie je definované inak, všetky tu používané technické a vedecké pojmy majú rovnaký význam, ako je zvyčajne chápaný priemerným odborníkom v oblasti, do ktorej spadá vynález. Hoci akékoľvek spôsoby a materiály podobné alebo ekvivalentné tu opísaným spôsobom a materiálom sa môžu použiť pri uskutočňovaní alebo testovaní predloženého vynálezu, teraz budú opísané výhodné spôsoby, zariadenia a materiály. Všetky tu uvedené publikácie sú tu začlenené prostredníctvom ich citácii na účely opisovania a ilustrovania bunkových línií, vektorov a metodológií, ktoré sú zverejnené v dokumentoch, ktoré by mohli byť použité v spojitosti s vynálezom. Nič, čo je tu uvedené, nemôže byť považované za pripustenie, že vynález nemá právo byť považovaný za nový vzhľadom na opis v predchádzajúcom stave techniky.

Podstatou vynálezu je oslabený európsky PRRS vírus kódovaný nukleovou kyselinou obsahujúcou ORF1, ORF2, ORF3, ORF4, ORF5, ORF6 a ORF7 a ich subtypy, ako napríklad ORF1a a ORF1b alebo ORF2a a ORF2b, ktorý je charakteristický tým, že:

a) ORF2 obsahuje v polohách 11915-11935 aspoň jeden z nukleotidov ako sú uvedené v tabuľke 1:

A	T	G	A	C	C	A	G	A	A	C	G	A	A	G	A	G	T	C	T	C
C	C	A	C	T	T	C	A	C	C	A	A	C	C	A	C	A	C	A	C	A
G	G	T	G	A	A	G	T	G	G	G	T	G	G	T	G	T	G	T	G	T

a v polohách 12037-12057 aspoň jeden z nukleotidov ako sú uvedené v tabuľke 2:

T	G	T	T	A	A	A	C	G	T	C	A	G	T	T	C	G	T	G	G	G
C	A	C	C	C	C	C	T	A	C	T	C	A	C	C	T	A	C	A	A	A
G	T	G	G	G	G	G	A	T	G	A	G	T	G	G	A	T	G	T	T	T

a v polohách 12058-12078 aspoň jeden z nukleotidov ako sú uvedené v tabuľke 3:

T	A	A	C	C	C	A	T	A	C	A	A	A	A	C	C	G	T	G	T	A
C	C	C	T	T	T	C	C	C	T	C	C	C	C	T	T	A	C	A	C	C
G	G	G	A	A	A	G	G	G	A	G	G	G	G	A	A	T	G	T	G	G

a/alebo deléciu v uvedenej polohe (polohách) a/alebo

b) ORF3 obsahuje v polohách 12660-12680 aspoň jeden z nukleotidov ako sú uvedené v tabuľke 4:

C	A	A	C	A	A	T	T	A	C	A	G	G	T	A	G	G	G	C	A	G
T	C	C	T	C	C	C	C	C	T	C	A	A	C	C	A	A	A	T	C	A
A	G	G	A	G	G	G	G	G	A	G	T	T	G	G	T	T	T	A	G	T

a/alebo deléciu v uvedenej polohe (polohách) a/alebo

c) ORF5 obsahuje v polohách 13684-13704 aspoň jeden z nukleotidov uvedených v tabuľke 5:

C	T	G	G	A	A	A	C	A	C	G	A	A	A	T	G	G	G	C	C	A
T	C	A	A	C	C	C	T	C	T	A	C	C	C	C	A	A	A	T	T	C
A	G	T	T	G	G	G	A	G	A	T	G	G	G	G	T	T	T	A	A	G

a/alebo deléciu v uvedenej polohe (polohách).

Prekvapujúco sa zistilo, že PRRS vírusy obsahujú špecifické miesta v jednotlivých vírusových proteínoch, ktoré keď sú mutované, vedú k oslabenému fenotypu v porovnaní s pôvodným virulentným prirodzeným terénnym kmeňom. Evolučný tlak na tieto miesta, ktoré sa odteraz nazývajú „virulentné špecifické miesta“ alebo sa jednoducho označujú ako „miesta podľa vynálezu“ alebo len „miesta“, je obrovský. Predpokladá sa, že tieto miesta sa vo všeobecnosti podieľali na procese vedúcom k oslabeniu vakcínových kmeňov podobných s európskym PRRSV. Tieto miesta, uvedené v tabuľkách 1 až 5, sú špecifické pre európske kmene (štandardný Lelystad Agens CNCM I-1102 je braný ako referenčný typový kmeň) a nie sú zdieľané s US kmeňmi PRRS vírusov.

Ďalej sa vynález týka oslabeného európskeho PRRS vírusu, v ktorom je aspoň jedna zo sekvenčných častí zodpovedajúcich sekv. č. 25, 26, 27, 28 alebo 29 mutovaná v jednej, dvoch, troch alebo vo viacerých polohách, až maximálne do desať mutácií. Miesta v sekv. č. 25, 26 a 27 sú lokalizované v ORF2 (polohy 130-150, 252-272, respektíve 273-293 na obrázku 1), miesto v sekv. č. 28 je lokalizované v ORF3 (poloha 267-287 na obrázku 3) a miesto v sekv. č. 29 je lokalizované v ORF5 (poloha 201-221 na obrázku 4). Uvedené sekvenčné časti predstavujú virulentné špecifické miesta podľa vynálezu. Keďže PRRS vírus je RNA vírus s pozitívnym vláknom, bude obsahovať zodpovedajúcu RNA sekvenciu namiesto DNA sekvencií uvedených v zoznamoch sekvencií, tzn. bude obsahovať

uracil (U) v polohách označených ako tymín (T) v zoznamoch sekvencií, a ribózu namiesto deoxyribózy.

Je zrejmé, že oslabený európsky PRRS vírus podľa vynálezu obsahuje genomickú RNA obsahujúcu sekvenčné časti zodpovedajúce DNA sekvenciám so sekv. č. 25, 26, 27, 28 alebo 29, pričom aspoň jedna z uvedených sekvenčných častí sa líši od citovaných sekvencií aspoň jednou mutáciou. V tomto kontexte znamená výraz „zodpovedajúci“ to, že vírus podľa vynálezu obsahuje sekvenčné časti, ktoré môžu byť zosúladené s referenčnými sekvenciami prostredníctvom štandardného zosúlaďovacieho algoritmu, ako napríklad BLAST (Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.V. & Lipman, D.J. (1990) „Basic local alignment search toll.“ J. Mol. Biol. 215:403-41; Gish, W. & States, D.J. (1993) „Identification of protein coding regions by database similarity search.“ Nature Genet. 3:266-272; Madden, T.L., Tatusov, R.L. & Zhang, J. (1996) „Applications of network BLAST server“ Meth. Enzymol. 266:131-141; Zhang, J. & Madden, T.L. (1997) „PowerBLAST: A new network BLAST application for interactive or automated sequence analysis and annotation.“ Genome Res. 7:649-656; Altschul, Stephen F., Thomas L. Madden, Alejandro A. Schäffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, a David J. Lipman (1997), „Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein databasesearch programs“, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402). Sekvenčné polohy, ktoré sú prostredníctvom takéhoto algoritmu spárované, sú si navzájom „zodpovedajúce“.

Pri takomto zosúladení by sa príslušné mutované sekvenčné časti vírusu potom mali líšiť od zodpovedajúcej referenčnej sekvencie („miesta“, tzn. buď sekv. č. 25, 26, 27, 28, alebo 29) v jednej, dvoch, troch alebo viacerých polohách, maximálne v desiatich polohách. Výhodne je vírus podľa vynálezu mutovaný vo všetkých piatich citovaných sekvenčných polohách (miestach). Výhodne je (sú) mutácia (mutácie) substitúciou (substitúciami) a/alebo deléciou (deléciami). Vo výhodných uskutočneniach je výsledkom mutácií zmena v aminokyselinovej sekvencii (sekvenciách) proteínu (proteínov) kódovaného príslušným ORF(s).

Ďalej predložený vynález sa týka oslabeného európskeho PRRS vírusu majúceho ORF2, ktorý obsahuje sekvenčnú časť zodpovedajúcu sekv. č. 25, pričom triplet zodpovedajúci polohám 10 až 12 sekv. č. 25 je mutovaný. Výhodne uvedený

triplet nekóduje fenylalanín. Výhodne uvedený triplet kóduje inú aminokyselinu. Vo výhodnom uskutočnení uvedený triplet kóduje serín. Výhodnejšie, nukleotid zodpovedajúci polohe 11 v sekv. č. 25 je C. Takže vo výhodnom uskutočnení má oslabený európsky PRRS vírus ORF2 kódujúci proteín, ktorý nemá fenylalanín v polohe 47 (alebo v zodpovedajúcej polohe pri BLAST zosúlaďovaní). Uvedený proteín má namiesto toho v tejto polohe výhodne serín.

Ďalej predložený vynález sa týka oslabeného európskeho PRRS vírusu majúceho ORF2, ktorý obsahuje sekvenčnú časť zodpovedajúcu sekv. č. 25, pričom triplet zodpovedajúci polohám 10 až 12 sekv. č. 26 je mutovaný. Výhodne uvedený triplet nekóduje valín. Výhodne uvedený triplet kóduje inú aminokyselinu. Vo výhodnom uskutočnení uvedený triplet kóduje fenylalanín. Výhodnejšie, nukleotid zodpovedajúci polohe 10 v sekv. č. 26 je T (respektíve U v RNA). Takže vo výhodnom uskutočnení má oslabený európsky PRRS vírus ORF2 kódujúci proteín, ktorý nemá valín v polohe 88 (alebo v zodpovedajúcej polohe pri BLAST zosúlaďovaní). Uvedený proteín má namiesto toho v tejto polohe výhodne fenylalanín.

Ďalej sa predložený vynález týka oslabeného európskeho PRRS vírusu majúceho ORF2, ktorý obsahuje sekvenčnú časť zodpovedajúcu sekv. č. 27, pričom triplet zodpovedajúci polohám 11 až 13 sekv. č. 27 je mutovaný. Výhodne uvedený triplet nekóduje fenylalanín. Výhodne uvedený triplet kóduje inú aminokyselinu. Vo výhodnom uskutočnení uvedený triplet kóduje leucín. Výhodnejšie, nukleotid zodpovedajúci polohe 11 v sekv. č. 27 je C. Takže vo výhodnom uskutočnení má oslabený európsky PRRS vírus ORF2 kódujúci proteín, ktorý nemá fenylalanín v polohe 95 (alebo v zodpovedajúcej polohe pri BLAST zosúlaďovaní). Uvedený proteín má namiesto toho v tejto polohe výhodne leucín.

Ďalej sa predložený vynález týka oslabeného európskeho PRRS vírusu majúceho ORF3, ktorý obsahuje sekvenčnú časť zodpovedajúcu sekv. č. 28, pričom triplet zodpovedajúci polohám 11 až 13 sekv. č. 28 je mutovaný. Výhodne uvedený triplet nekóduje serín. Výhodne uvedený triplet kóduje inú aminokyselinu. Vo výhodnom uskutočnení uvedený triplet kóduje prolín. Výhodnejšie, nukleotid zodpovedajúci polohe 11 v sekv. č. 28 je C. Takže vo výhodnom uskutočnení má oslabený európsky PRRS vírus ORF3 kódujúci proteín, ktorý nemá serín v polohe

93 (alebo v zodpovedajúcej polohe pri BLAST zosúlaďovaní). Uvedený proteín má namiesto toho v tejto polohe výhodne prolín.

Ďalší predmet predloženého vynálezu sa týka oslabeného európskeho PRRS vírusu majúceho ORF5, ktorý obsahuje sekvenčnú časť zodpovedajúcu sekv. č. 29, pričom triplet zodpovedajúci polohám 11 až 13 sekv. č. 29 je mutovaný. Výhodne uvedený triplet nekóduje leucín. Výhodne uvedený triplet kóduje inú aminokyselinu. Vo výhodnom uskutočnení uvedený triplet kóduje fenylalanín. Výhodnejšie, nukleotid zodpovedajúci polohe 11 v sekv. č. 29 je T (alebo U v RNA). Takže vo výhodnom uskutočnení má oslabený európsky PRRS vírus ORF5 kódujúci proteín, ktorý nemá leucín v polohe 71 (alebo v zodpovedajúcej polohe pri BLAST zosúlaďovaní). Uvedený proteín má namiesto toho v tejto polohe výhodne fenylalanín.

Živé PRRS vakcíny založené na európskych kmeňoch oslabených prostredníctvom definovaných mutácií a/alebo delécií umožňujú vyhnúť sa nevýhodám súčasnej generácie oslabených vakcín. Ak oslabený kmeň nesie definované a známe mutácie, môže byť jednoducho analyzovaný z hľadiska kvality a genetickej stability. Možnosť zaviesť definované delécie a/alebo substitúcie, najmä ako dvojité alebo viacnásobné mutácie, znižuje pravdepodobnosť reverzie na neoslabený alebo virulentný fenotyp. Ďalšia výhoda oslabovacích mutácií spočíva v ich známej molekulovej unikátnosti, ktorá umožňuje ich použitie ako rozlišujúcich značiek pre oslabené PRRS vírusy na ich odlíšenie od terénnych PRRS vírusov. S miestami identifikovanými v predloženom vynáleze je možné generovať bezpečné a mieste špecificky oslabené vírusy. Takéto vírusy sú užitočné na prípravu bezpečnej živej vakcíny na použitie na prevenciu a/alebo liečenie PRRS infekcií.

Predložený vynález sa týka oslabených európskych PRRS kmeňov a spôsobov ich produkcie. V tomto kontexte výraz „oslabený“ znamená, že virulentný kmeň je alebo bol modifikovaný takým spôsobom, že je menej virulentný alebo patogénny ako bol pred modifikáciou. Konkrétne, „oslabený“ znamená, že vírus má významne zníženú schopnosť spôsobovať klinické ochorenie, hoci je stále schopný replikovať sa v hostiteľovi. Výhodne je virulencia alebo patogénnosť znížená na úroveň, ktorá robí vírus akceptovateľným na podávanie vo forme vakcíny. Vo výhodnom uskutočnení je vírus oslabený v takom rozsahu, že

nespôsobuje klinické ochorenie, hoci je stále schopný replikovať sa v hostiteľovi. Takto oslabený kmeň je ideálnym agensom na očkovanie, pretože replikácia v hostiteľovi zaručuje stimuláciu rýchlej a vynikajúcej imunologickej reakcie. Vo výhodnom uskutočnení je oslabený európsky PRRS vírus menej virulentný ako Lelystad agens. V inom uskutočnení je oslabený vírus menej virulentný ako rodičovský kmeň, z ktorého je odvodený. Výraz „menej virulentný ako PRRS vírusový Lelystad agens“ (alebo, podobne, ako rodičovský kmeň, z ktorého je odvodený) sa má chápať v kontexte porovnávania klinických symptómov daného vírusu s Lelystad agensom (CDI-NL-2.91/CNCM I-1102) alebo rodičovským kmeňom. V príklade 1 je opísaný výhodný spôsob determinácie toho, či je PRRS vírus menej virulentný ako Lelystad agens, alebo podobne, na determináciu toho, či je vírus modifikovaný podľa vynálezu menej virulentný ako jeho rodičovský kmeň pred modifikáciou. Môže byť, že nie každá a každá možná nukleokyselinová mutácia vo virulentnom špecifickom mieste sa podieľa na zníženej virulencii. Spôsob podľa príkladu 1 poskytuje presné a priame experimentálne nastavenie na determináciu toho, či živý PRRS vírus podľa návodu podľa vynálezu je menej virulentný ako jeho rodičovský kmeň alebo virulentný terénny izolát, ako Lelystad agens.

Predložený vynález sa týka európskych PRRS kmeňov, ktoré je možné odlíšiť od amerických kmeňov nasledovne. Veľmi skoro po nájdení vírusu Wensvoort a ďalší (J. Vet. Diagn. Invest 4: 134-138 (1992)) objavili rozdiely v antigénových charakteristikách medzi americkými a európskymi izolátmi. Vyvinuli séra proti tak americkému typu, ako aj európskemu typu, v niekoľkých ošipovaných a porovnávali krížovú reaktivitu anti-európskeho (LV) a anti-amerického (VR-2332) séra s tromi americkými vírusovými izolátmi a 4 európskymi izolátmi. Séra proti PRRS vírusom európskeho serotypu sú významne menej reaktívne s americkými izolátmi ako s európskymi izolátmi. Okrem toho, séra vyvinuté proti vírusom amerického serotypu sú menej reaktívne, alebo aj úplne nereaktívne s európskymi vírusovými izolátmi. Wensvoort a ďalší tiež ukázali reaktivitu séra vyvinutého proti európskym a americkým izolátom s dvoma referenčnými vírusmi CNCM I-1102 (európsky) a ATCC VR-2332 (americký). V tomto experimente séra vyvinuté proti európskym kmeňom neboli vôbec reaktívne s americkým kmeňom. Takže existujú

dva kompletne odlišné serotypy vírusu: americký a európsky serotyp, ktoré môžu byť rozlíšené na základe ich serologických vlastností.

Toto môže byť dokázané aj na molekulovej úrovni. Nelson a ďalší (74th Annual Meeting of the Conference of Research Workers in Animal Diseases, November 8-9, 1993) porovnávaním sekvencií génov kódujúcich polymerázu z rôznych izolátov. Demonštrovali, že polymerázové gény vykazujú 87 až 95% homológiu v rámci americkej skupiny. Avšak medzi európskymi a americkými serotypmi sa našla len 64 až 67% homológia na úrovni nukleových kyselín. Mardassi publikoval porovnateľné výsledky na vyššie uvedenej konferencii, ktoré dokazovali, že 530 3'-koncových nukleových kyselín Quebec PRRS referenčného kmeňa a európskych izolátov vykazuje len 59% homológiu. Z výsledkov vyššie uvedených publikácií vyplýva, že americký a európsky serotyp sa rozdvajil pred dlhým časom, čím by potom bolo možné jednoducho vysvetliť ich genetické rozdiely a ich serologickú nepríbuznosť.

Americký a európsky serotyp je tak možné jednoducho rozlíšiť. Vírusy európskeho serotypu sa vyznačujú tým, že reagujú s vyšším titrom v imuno-peroxidázovom monovrstvovom teste s panelom antisér proti európskemu PRRS vírusu LV (CNCM I-1102) v porovnaní s reakciou s panelom antisér proti americkému PRRS vírusu (ATCC VR-2332). Ak sa použije panel sér, získaných približne 40 dní po infekcii, a od rozličných zvierat, akýkoľvek vírus je možné jednoducho klasifikovať ako patriaci buď k americkému, alebo k európskemu serotypu. Typicky, reaktivita európskeho kmeňa s panelom antisér proti iným európskym kmeňom je približne 400 krát vyššia ako reaktivita s panelom antisér proti americkým kmeňom. Keď európsky kmeň reaguje s antisérom proti deponovanému európskemu kmeňu I-1102 a deponovanému americkému kmeňu VR-2332 typicky sa zistí rozdiel v reaktivite, ktorý je približne 55 násobný (Wensvoort a ďalší, citovaný vyššie).

„Mutácia“ znamená substitúciu, deléciu alebo inzerciu nukleotidu alebo aminokyseliny v danej polohe nukleotidovej alebo aminokyselinovej sekvencie. „Substitúcia“ je náhrada nukleotidu alebo aminokyseliny iným nukleotidom alebo aminokyselinou (napr. C za T). „Delécia“ znamená odstránenie nukleotidu alebo

aminokyseliny. „Inzercia“ znamená, že nukleotid alebo aminokyselina sa začlenia do danej polohy.

Ďalej predložený vynález zahŕňa spôsob alebo proces oslabenia európskeho PRRS vírusu, v ktorom:

- a) nukleotidová sekvencia vírusu je modifikovaná miestne špecifickou mutagenézou aspoň v jednej z polôh ORF2 zodpovedajúcich polohám 130 až 150 a/alebo polohám 252 až 272 a/alebo polohám 273 až 293 sekv. č. 22;
- b) je testovaná, či výsledný PRRS vírus je oslabený.

Ďalej predložený vynález zahŕňa spôsob oslabenia európskeho PRRS vírusu, v ktorom:

- a) nukleotidová sekvencia vírusu je modifikovaná miestne špecifickou mutagenézou aspoň v jednej z polôh ORF3 zodpovedajúcich polohám 267 až 287 sekv. č. 23;
- b) je testovaná, či výsledný PRRS vírus je oslabený.

Ďalej predložený vynález zahŕňa spôsob oslabenia európskeho PRRS vírusu, v ktorom:

- a) nukleotidová sekvencia vírusu je modifikovaná miestne špecifickou mutagenézou aspoň v jednej z polôh zodpovedajúcich polohám 201 až 221 ORF5 podľa sekv. č. 24;
- b) je testovaná, či výsledný PRRS vírus je oslabený.

V tomto kontexte výraz „zodpovedajúci“ má význam uvedený vyššie, tzn., že dve polohy si navzájom zodpovedajú, ak môžu byť zosúladené ako pár pri zosúladovaní sekvencií, ako napríklad použitím BLAST. Výhodne je výsledkom modifikácie podľa vynálezu zmena aminokyselinovej sekvencie, ktorá kóduje proteín. Vo výhodných uskutočneniach sú modifikáciami delécie a/alebo substitúcie, výhodne dvojité alebo viacnásobné mutácie. Vo výhodnom uskutočnení sú kombinované dve alebo viaceré z vyššie uvedených modifikácií. V ďalšom výhodnom uskutočnení je sekvencia každého z ORF2, ORF3 a ORF5 modifikovaná. Výhodne je sekvencia ORF2 modifikovaná najmenej v dvoch, výhodne najmenej v troch polohách.

Výhodne vyššie uvedený spôsob zahŕňa modifikáciu (modifikácie), ktorá vedie k jednému alebo viacerým z nasledujúcich znakov: OFR2 kódujúci proteín

majúci aminokyselinu (aminokyseliny) v jednej alebo viacerých aminokyselinových sekvenčných polohách zodpovedajúcich pozíciám 47, 88 a/alebo 95 v sekv. č. 22, substituované alebo deletované; ORF3 kódujúci proteín majúci aminokyselinu v aminokyselinovej sekvenčnej polohe zodpovedajúcej pozícii 93 sekv. č. 23 substituovanú alebo deletovanú; a/alebo ORF5 kódujúci proteín majúci aminokyselinu v aminokyselinovej sekvenčnej polohe zodpovedajúcej pozícii 71 sekv. č. 24 substituovanú alebo deletovanú. Výhodne sú všetky z vyššie uvedených polôh mutované.

Výhodne vyššie uvedený spôsob podľa vynálezu zahŕňa modifikáciu (modifikácie), ktorá vedie k jednému alebo viacerým, výhodne ku všetkým, z nasledujúcich znakov: OFR2 kódujúci proteín, ktorý nemá fenylalanín v aminokyselinovej sekvenčnej polohe zodpovedajúcej pozícii 47 sekv. č. 22, ORF2 kódujúci proteín, ktorý nemá valín v aminokyselinovej sekvenčnej pozícii zodpovedajúcej polohe 88 sekv. č. 22, ORF2, ktorý nemá fenylalanín v aminokyselinovej sekvenčnej polohe zodpovedajúcej pozícii 95 sekv. č. 22, ORF3, ktorý nemá serín v aminokyselinovej sekvenčnej polohe zodpovedajúcej pozícii 93 sekv. č. 23, a/alebo ORF5, ktorý nemá leucín v aminokyselinovej sekvenčnej polohe zodpovedajúcej pozícii 71 sekv. č. 24.

Výhodne vyššie uvedený spôsob podľa vynálezu zahŕňa modifikáciu (modifikácie), ktorá vedie k jednému alebo viacerým, výhodne ku všetkým, z nasledujúcich znakov: OFR2 kódujúci proteín, ktorý má serín v aminokyselinovej sekvenčnej polohe zodpovedajúcej pozícii 47 sekv. č. 22, ORF2 kódujúci proteín, ktorý má fenylalanín v aminokyselinovej sekvenčnej pozícii zodpovedajúcej polohe 88 sekv. č. 22, ORF2, ktorý má leucín v aminokyselinovej sekvenčnej polohe zodpovedajúcej pozícii 95 sekv. č. 22, ORF3, ktorý má prolín v aminokyselinovej sekvenčnej polohe zodpovedajúcej pozícii 93 sekv. č. 23, a/alebo ORF5, ktorý má fenylalanín v aminokyselinovej sekvenčnej polohe zodpovedajúcej pozícii 71 sekv. č. 24.

Výhodne spôsob podľa vynálezu zahŕňa modifikáciu (modifikácie), ktorá vedie k jednému alebo viacerým, výhodne ku všetkým z nasledujúcich znakov: ORF2 majúci C v polohe zodpovedajúcej polohe 140 sekv. č. 22, ORF2 majúci T v polohe zodpovedajúcej polohe 262 sekv. č. 22, ORF2 majúci C v polohe

zodpovedajúcej polohe 283 sekv. č. 22, ORF3 majúci C v polohe zodpovedajúcej polohe 277 sekv. č. 23 a/alebo ORF5 majúci T v polohe zodpovedajúcej polohe 211 sekv. č. 24.

Okrem toho sa predložený vynález týka oslabeného európskeho vírusu, ktorý je možné získať ktorýmkoľvek z vyššie uvedených spôsobov.

Ďalej predložený vynález zahŕňa nukleovú kyselinu, ktorá obsahuje kódujúcu informáciu oslabeného európskeho PRRS vírusu, ako je opísaný vyššie. Ako je uvedené vyššie, môže to byť ribonukleová kyselina (RNA). Takouto nukleovou kyselinou môže byť okrem toho aj deoxyribonukleová kyselina, ktorá je komplementárna s takouto ribonukleovou kyselinou, tzn. cDNA, alebo akýkoľvek iný typ DNA. Vo výhodnom uskutočnení je takáto cDNA infekčná. To znamená, že ak sa takáto cDNA zavedie do vhodnej hostiteľskej bunky, uvedená buka začne generovať vírusové častice. Predložený vynález sa ďalej týka RNA, cDNA alebo inej DNA obsahujúcej akúkoľvek z vyššie uvedených mutácií, alebo viaceré z vyššie uvedených mutácií.

Ďalej predložený vynález zahŕňa vakcínu, ktorá obsahuje oslabený európsky PRRS vírus, ako je opísaný, v kombinácii s farmaceuticky prijateľným nosičom.

Ďalej predložený vynález zahŕňa spôsob očkovania ošipaných proti PRRS, ktorý sa vyznačuje tým, že sa ošipanej podáva účinné množstvo vyššie uvedenej vakcíny.

Ďalej predložený vynález sa týka použitia oslabeného európskeho PRRS vírusu, ako je opísaný, na výrobu vakcíny proti PRRS.

V súlade s predloženým vynálezom sa nukleotidy a aminokyseliny číslujú podľa verejne dostupného Lelystad agensu, ako je opísaný vyššie. Avšak, ako je uvedené na obrázkoch 1 až 4, ORFs („otvorené čítacie rámce = ORF“) sa číslujú oddelene, keďže niektoré z nich sa prekrývajú.

Nukleotidy špecifických miest, v ktorých sa oslabený európsky vírus líši od virulentného štandardného typu, sú v ORF2 nukleotidy 11915-11935 (tabuľka 1 zodpovedajúce číslam 130 až 150 na obrázku 1), 12037-12057 (tabuľka 2, čísla 252-272 na obrázku 1), 12058-12078 (tabuľka 3, čísla 273-293 na obrázku 1); v ORF3 12660-12680 (tabuľka 4; čísla 267-287 na obrázku 3) a/alebo v ORF5 13684-13704 (tabuľka 5; čísla 201-221 na obrázku 4). Prostredníctvom mutovania Lelystad

agensu v jednej alebo viacerých z vyššie uvedených polôh na akýkoľvek z nukleotidov uvedených v tabuľkách a/alebo prostredníctvom deletovania uvedených nukleotidov v týchto polohách, odborník získa živé oslabené európske očkovacie kmene PRRS vírusu. Mutácie, ako napríklad substitúcia alebo delécia, v uvedených lokalitách, sú limitované len podmienkou, že vírus sa musí byť schopný ešte replikovať, tzn. musí to byť ešte živý vírus. To je možné určiť bez nadmerného experimentovania. Priemerný odborník v oblasti môže na základe verejne dostupného Lelystad agensu a návodov podľa vynálezu zaviesť napr. jednu single mutáciu do každého opísaného miesta na základe poskytnutých tabuliek, napr. do polohy 11915 môže zaviesť A, C alebo G alebo môže deletovať nukleotid v tejto polohe (ktorým je T). Neobmedzujúci príklad je uvedený na obrázkoch 1 až 3 (ORF2, ORF3 a ORF5 Lelystad B a oslabeného vírusu A) a v príklade 1.

Vynález zahŕňa také vírusy, v ktorých je mutovaný len jeden nukleotid, ale aj niekoľko nukleotidov, alebo aj všetky nukleotidy, napr. jeden alebo niekoľko tripletov kódujúcich jednu alebo niekoľko aminokyselín v uvedených polohách. Avšak sekvencia nesmie byť mutovaná do takého rozsahu, v ktorom sa už vírus nie je schopný viac replikovať, tzn., že podľa vynálezu je kódovaný živý vírus.

Aj ďalšie nukleové kyseliny mimo uvedených oblastí môžu byť mutované, avšak to nie je nevyhnutné pre vynález (pozri obrázok 1, napr. poloha 426 v ORF2 Lelystad-B, v ktorej je C namiesto T).

Uvedené mutácie sa môžu uskutočňovať štandardnými metódami genetického inžinierstva známymi v oblasti, najmä miestne špecifickou mutagenézou. V kontexte tohto vynálezu výraz „miestne špecifická mutagenéza“ znamená techniku genetického inžinierstva, ktorá umožňuje riadené mutovanie vo vopred vybraných miestach nukleovej kyseliny. Vo všeobecnosti takáto technika vyžaduje aspoň čiastočnú znalosť sekvencie takejto nukleovej kyseliny. Klasický oslabovací spôsob prostredníctvom sériového pasážovania dávky neumožňuje mutovanie vo vopred vybraných miestach. Takéto metódy genetického inžinierstva sú dobre známe v oblasti (pozri napr. Sambrook a ďalší (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2. vydanie, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York; kapitola 15; Wu (vyd.) (1993), *Methods in Enzymology* zv. 217, str. 173-285).

Ako východiskový materiál na zavádzanie mutácií sa môže cDNA klon virulentného PRSSV kmeňa, napr. Lelystad agens (CNCM I-1102), generovať spôsobmi známymi v oblasti (Boyer a Haenni. Infectious transcripts and cDNA clones of RNA viruses. Virology (1994) 198: 415-426). Napríklad, infekčná PRRSV kópia sa môže pripraviť ako je opísané vo WO 00/53787; Meulenberg a ďalší, Adv. Exp. Biol (1998) 440: 199-206; Meulenberg a ďalší, J. Virol. (1998) 72(1): 380-387, ktorá sa potom môže mutovať v súlade s vynálezom. Citované referencie poskytujú podrobné postupy ako získať infekčné cDNA klony PRRSV a ako vytvoriť ich mutanty. Mutovaný klon alebo jeho infekčné transkripty generované *in vitro* sa potom môžu transfekovať do vhodných hostiteľských buniek, ktoré potom budú generovať oslabený vírus.

Najmä sa prekvapujúco zistilo, že miesta 11925, 12047 a 12068 ORF2 (pozri obrázok 1); 12670 ORF3 (pozri obrázok 2) a/alebo 13694 ORF5 (pozri obrázok 4) sú stále zmenené v porovnaní s virulentným terénnym kmeňom Lelystad agensu. Preto iné výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu predstavuje oslabený európsky PRRS vírus podľa vynálezu, v ktorom:

- a) ORF2 obsahuje C, A alebo G v polohe 11925 a/alebo C, T alebo A v polohe 12047 a/alebo A, C alebo G v polohe 12068 alebo deléciu v uvedenej polohe (polohách) a/alebo
- b) ORF3 obsahuje A, C alebo G v polohe 12670 alebo deléciu v uvedenej polohe a/alebo
- c) ORF5 obsahuje G, A alebo T v polohe 13694 alebo deléciu v uvedenej polohe.

Konkrétnejšie sa zistilo, že miesto 11925 v ORF2 je stále zmenené na C, miesto 12047 v ORF2 je stále zmenené na T a miesto 12068 v ORF2 je stále zmenené na C (pozri obrázok 1); miesto 12670 v ORF3 je stále zmenené na C (pozri obrázok 2) a/alebo 13694 ORF5 je stále zmenené na T (pozri obrázok 4) v porovnaní s virulentným terénnym kmeňom Lelystad agensu. Preto iné, výhodnejšie, uskutočnenie predloženého vynálezu predstavuje oslabený európsky PRRS vírus podľa vynálezu, v ktorom sa nukleová kyselina ďalej vyznačuje tým, že

- a) ORF2 obsahuje C v polohe 11925 a/alebo T v polohe 12047 a/alebo C v polohe 12068 alebo deléciu v uvedenej polohe (polohách) a/alebo

- b) ORF3 obsahuje C v polohe 12670 alebo deléciu v uvedenej polohe a/alebo
- c) ORF5 obsahuje T v polohe 13694 alebo deléciu v uvedenej polohe.

Iným, výhodnejším, uskutočnením predloženého vynálezu je oslabený európsky PRRS vírus podľa vynálezu, ktorý je označený ako oslabený vírus A na obrázkoch, ktorého nukleová kyselina sa ďalej vyznačuje tým, že

- a) ORF2 obsahuje nukleovú kyselinu ako je definovaná v sekv. č. 1 a/alebo
- b) ORF3 obsahuje nukleovú kyselinu ako je definovaná v sekv. č. 2 a/alebo
- c) ORF4 obsahuje nukleovú kyselinu ako je definovaná v sekv. č. 3 a/alebo
- d) ORF5 obsahuje nukleovú kyselinu ako je definovaná v sekv. č. 4,

alebo ich fragment, alelický variant, funkčný variant, variant založený na degenerovanosti nukleokyselinového kódu, fúzu molekulu alebo chemický derivát.

„Fragmentom“ podľa vynálezu je akákoľvek imunogénna podjednotka PRRS vírusu alebo ORF podľa vynálezu, tzn. akákoľvek polypeptidová podsada, ktorá sa vyznačuje tým, že je kódované kratšou nukleokyselinovou molekulou ako je opísaná vyššie, avšak ešte stále si zachováva aktivitu.

„Funkčný variant“ PRRS vírusu alebo ORF podľa vynálezu je PRRS vírus alebo ORF, ktorý má biologickú aktivitu (buď funkčnú, alebo štrukturálnu), ktorá je v podstate podobná s aktivitou PRRS vírusu alebo ORF podľa vynálezu. Výraz „funkčný variant“ zahŕňa aj „fragment“, „alelický variant“, „funkčný variant“, „variant založený na degenerovanosti nukleokyselinového kódu“ alebo „chemické deriváty“. Takýto „funkčný variant“ môže napr. niesť jednu alebo niekoľko bodových mutácií, jednu alebo niekoľko nukleokyselinových zámien, delécií alebo inzercií alebo jednu alebo niekoľko aminokyselinových zámien, delécií alebo inzercií. Uvedený funkčný variant si ešte zachováva svoju biologickú aktivitu, napr. funkciu ako očkovací kmeň, aspoň sčasti, alebo má aj zlepšenú uvedenú biologickú aktivitu.

„Variant založený na degenerovanosti genetického kódu“ je variant vďaka skutočnosti, že určitá aminokyselina môže byť kódovaná niekoľkými rozličnými nukleotidovými tripletmi. Uvedený variant si stále zachováva svoju biologickú aktivitu, aspoň čiastočne, alebo má aj zlepšenú uvedenú biologickú aktivitu.

„Fúzovanou molekulou“ môže byť PRRS vírus alebo ORF podľa vynálezu fúzovaný napr. s reporterom, ako napríklad rádioaktívnou značkou, chemickou

molekulou, ako napríklad fluorescenčnou značkou alebo akoukoľvek inou molekulou známou v oblasti.

Tak ako sa používa tu, „chemický derivát“ podľa vynálezu je PRRS vírus alebo ORF podľa vynálezu chemicky modifikované alebo obsahujúce ďalšie chemické skupiny, ktoré normálne nie sú súčasťou molekuly. Takéto skupiny môžu zlepšovať rozpustnosť, absorpciu, biologický polčas rozpadu molekuly, atď.

Molekula je „v podstate podobná“ s inou molekulou, ak obe molekuly majú v podstate podobné štruktúry alebo biologickú aktivitu. Takže za predpokladu, že dve molekuly majú podobnú aktivitu, sú považované za varianty, keďže tento výraz sa tu používa aj vtedy, ak sa štruktúra jednej z molekúl nenachádza v inej, alebo aj vtedy, ak nie je zhodná sekvencia aminokyselinových zvyškov.

Iným, najvýhodnejším, uskutočnením predloženého vynálezu je oslabený európsky PRRS vírus podľa vynálezu (označený ako oslabený vírus A na obrázkoch), v ktorom sa nukleová kyselina vyznačuje tým, že

- a) ORF2 pozostáva z nukleovej kyseliny ako je definovaná v sekv. č. 1 a/alebo
- b) ORF3 pozostáva z nukleovej kyseliny ako je definovaná v sekv. č. 2 a/alebo
- c) ORF4 pozostáva z nukleovej kyseliny ako je definovaná v sekv. č. 3 a/alebo
- d) ORF5 pozostáva z nukleovej kyseliny ako je definovaná v sekv. č. 4.

Iným výhodným uskutočnením predloženého vynálezu je oslabený európsky PRRS vírus podľa vynálezu (označený ako oslabený vírus A na obrázkoch), v ktorom sa nukleová kyselina vyznačuje tým, že obsahuje nukleovú kyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 5, alebo jej fragment, alelický variant, funkčný variant, variant založený a degenerovanosti nukleokyselinového kódu, fúzanú molekulu alebo chemický derivát.

Iným, výhodným uskutočnením predloženého vynálezu je oslabený európsky PRRS vírus podľa vynálezu (LELYSTAD-B na obrázkoch), v ktorom sa uvedená nukleová kyselina ďalej vyznačuje tým, že

- a) ORF2 obsahuje nukleovú kyselinu ako je definovaná v sekv. č. 6 a/alebo
- b) ORF3 obsahuje nukleovú kyselinu ako je definovaná v sekv. č. 7 a/alebo
- c) ORF4 obsahuje nukleovú kyselinu ako je definovaná v sekv. č. 8 a/alebo
- d) ORF5 obsahuje nukleovú kyselinu ako je definovaná v sekv. č. 9 a/alebo

jej fragment, alelický variant, funkčný variant, variant založený a degenerovanosti nukleokyselinového kódu, fúzovanú molekulu alebo chemický derivát.

Iným, výhodným uskutočnením predloženého vynálezu je oslabený európsky PRRS vírus podľa vynálezu (LELYSTAD-B na obrázkoch), v ktorom sa uvedená nukleová kyselina ďalej vyznačuje tým, že

- a) ORF2 pozostáva z nukleovej kyseliny ako je definovaná v sekv. č. 6 a/alebo
- b) ORF3 pozostáva z nukleovej kyseliny ako je definovaná v sekv. č. 7 a/alebo
- c) ORF4 pozostáva z nukleovej kyseliny ako je definovaná v sekv. č. 8 a/alebo
- d) ORF5 pozostáva z nukleovej kyseliny ako je definovaná v sekv. č. 9.

Iným dôležitým uskutočnením predloženého vynálezu je oslabený európsky PRRS vírus (oslabený vírus A na obrázkoch), pričom PRRS vírus sa vyznačuje tým, že:

- a) ORF1a obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 10 a/alebo
- b) ORF1b obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 11 a/alebo
- c) ORF2 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 12 a/alebo
- d) ORF3 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 13 a/alebo
- e) ORF4 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 14 a/alebo
- f) ORF5 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 15 a/alebo
- g) ORF6 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 16 a/alebo
- h) ORF7 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 17 alebo

jej fragment, alelický variant, funkčný variant, variant založený a degenerovanosti nukleokyselinového kódu, fúzovanú molekulu alebo chemický derivát.

Iným, výhodnejším, uskutočnením predloženého vynálezu je oslabený európsky PRRS vírus (oslabený vírus A na obrázkoch), pričom PRRS vírus sa vyznačuje tým, že:

- a) ORF1a pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 10 a/alebo
- b) ORF1b pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 11 a/alebo
- c) ORF2 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 12 a/alebo
- d) ORF3 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 13 a/alebo
- e) ORF4 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 14 a/alebo

- f) ORF5 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 15 a/alebo
- g) ORF6 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 16 a/alebo
- h) ORF7 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 17.

Iným veľmi dôležitým uskutočnením predloženého vynálezu je oslabený európsky PRRS vírus (LELYSTAD-B na obrázkoch), ktorý sa vyznačuje tým, že

- a) ORF2 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 18 a/alebo
- b) ORF3 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 19 a/alebo
- c) ORF4 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 20 a/alebo
- d) ORF5 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 21 alebo

jej fragment, alelický variant, funkčný variant, variant založený a degenerovanosti nukleokyselinového kódu, fúzovanú molekulu alebo chemický derivát.

Iným veľmi dôležitým uskutočnením predloženého vynálezu je oslabený európsky PRRS vírus (LELYSTAD-B na obrázkoch), ktorý sa vyznačuje tým, že

- a) ORF2 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 18 a/alebo
- b) ORF3 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 19 a/alebo
- c) ORF4 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 20 a/alebo
- d) ORF5 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 21.

Ešte iným dôležitým uskutočnením predloženého vynálezu je nukleotidová sekvencia kódujúca vírus podľa vynálezu, ako je opísaný vyššie. Takéto nukleotidové sekvencie obsahujú sekvencie opísané v zozname sekvencií (napr. s identifikačnými číslami 1 až 9 (pod <400> je uvádzaná sekv. č.). Vynález sa ďalej týka proteínov uvedených ako sekv. č. 10 až 21.

Ešte iným výhodným uskutočnením predloženého vynálezu je nukleotidová sekvencia podľa vynálezu, ktorá bola modifikovaná tak, aby kódovala virulentný marker a/alebo serologický marker. Ako je uvedené na úvodných stranách, je pre zvládnutie zdravia ošípaných dôležitá možnosť rozlišovať medzi menej virulentným živým očkovacím kmeňom farmaceutického prostriedku a virulentným štandardným typom vírusovej infekcie. To je často ťažké, najmä ak klinické symptómy terénnej infekcie nie sú špecifické alebo sú prekryté inými infekciami alebo ak je čas pozorovania a hodnotenia krátky. Rekombinantné generovanie vírusov, o ktoré je záujem, umožňuje zavedenie modifikácií do genetického kódu, ktoré zavádzajú serologický marker a/alebo virulentný marker. Serologický marker označuje

antigénne detegovateľnú molekulu, ako napríklad peptid, proteín, glykoproteín, ktorá môže byť izolovaná z infikovaných buniek alebo telesných tekutín, ako napríklad, ale bez obmedzenia na faryngeálnu alebo nosnú tekutinu alebo moč. Virulentný marker musí byť chápaný ako marker v genetickom kóde, ktorý môže byť identifikovaný rekombinantnými analytickými metódami, ako napríklad, ale bez obmedzenia na PCR a bežné sekvenovanie. Preto, vo výhodnom uskutočnení, sa predložený vynález týka nukleotidovej sekvencie podľa vynálezu, ktorá bola modifikovaná tak, aby kódovala virulentný marker a/alebo serologický marker. Konkrétne, mutácie alebo delécie zavádzané za účelom oslabenia vírusu sú užitočné ako virulentné a serologické markery. Monitorovaním týchto mutácií v nárokových virulentných špecifických miestach je možné predpovedať objavenie sa možných virulentných revertantov v skorom štádiu.

Ešte iným výhodným uskutočnením predloženého vynálezu je nukleotidová sekvencia podľa vynálezu, pričom nukleová kyselina kódujúca uvedený marker je umiestnená medzi ktorékoľvek z otvorených čítacích rámcov kódujúcich štruktúrne vírusové proteíny.

Ďalej sa vynález týka spôsobu generovania infekčného živého oslabeného PRRS vírusu, ktorý zahŕňa produkciu rekombinantnej nukleovej kyseliny obsahujúcej aspoň jednu kompletnú DNA kópiu alebo *in vitro* transkribovanú RNA kópiu alebo derivát buď DNA, alebo RNA, pričom uvedenou nukleotidovou sekvenciou je nukleotidová sekvencia podľa vynálezu. Takže v súlade s vynálezom spôsob vedie k PRRS vírusu, ako je opísaný vyššie. Odborník môže využiť miestne špecifickú mutagenézu (Sambrook a ďalší (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2. vyd., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York; kapitola 15; Wu (vyd.) (1993), *Methods in Enzymology* zv. 217, str. 173-285) alebo akýkoľvek iný spôsob na zavedenie mutácie (mutácií) na špecifické zavedenie mutácie (mutácií) na získanie PRRS vírusu, ako je opísaný vyššie.

Spôsob opísaný v nasledujúcom výhodnom uskutočnení bude viesť (na genomickej úrovni) k PRRS vírusu podľa vynálezu, ako je opísaný vyššie. Takže v inom výhodnom uskutočnení sa vynález týka spôsobu, ako je opísaný na generovanie infekčného oslabeného PRRS vírusu, ktorý sa vyznačuje nasledujúcimi krokmi:

- a) PRRS vírus podľa vynálezu sa použije na infikovanie vhodnej bunkovej línie,
- b) uvedený PRRS vírus sa ďalej oslabuje pasážovaním na bunkových kultúrach.

Iné výhodné uskutočnenie sa týka spôsobu, ako je opísaný, pri ktorom je uvedenou bunkovou líniou línia embryonických opičích obličkových buniek alebo výhodne Marc bunky alebo ich derivát (pozri nižšie).

Iné výhodné uskutočnenie vynálezu sa týka spôsobu, ako je opísaný, pri ktorom je PRRS vírusom vírus (vírusy) podľa vynálezu, ako sú opísané vyššie.

Ďalej sa predložený vynález týka bunkovej línie obsahujúcej PRRS vírus podľa vynálezu. Príklady takých bunkových línií zahŕňajú permanentné bunkové línie známe odborníkovi, výhodne bravčové, opičie alebo ľudské bunkové línie, ako napríklad ľudské embryonické obličkové (HEK) 293, BHK, GH3, H4, U373, NT2, PC12, COS, CHO, Ltk-, fibroblasty, myelómy, neuroblastómy, hybridómy, oocyty, embryonické kmeňové bunky), hmyzie bunkové línie (napr. použitím bakulo-vírusových vektorov, ako napríklad pPbac alebo pMbac (Stratagene, La Jolla, USA)), kvasinky (napr. *Pichia pastoris* alebo použitím kvasinkových expresných vektorov, ako napríklad pYESHIS (Invitrogen, San Diego, USA)), a plesne.

Ďalej vo výhodnom uskutočnení sa vynález týka bunkovej línie podľa vynálezu, ktorou je embryonická opičia obličková bunka alebo, výhodne, Marc bunka, alebo ich derivát.

Ďalej predložený vynález zahŕňa spôsob alebo proces oslabovania európskeho PRRS vírusu, ktorý sa vyznačuje tým, že

- a) nukleotidová sekvencia vírusu sa modifikuje miestne špecifickou mutagenézou aspoň v jednej z polôh ORF2 zodpovedajúcich polohám 130 až 150 a/alebo polohám 252 až 272 a/alebo polohám 273 až 293 v sekv. č. 22;
- b) testuje sa, či je výsledný PRRS vírus oslabený.

V tomto kontexte poloha v nukleovej kyseline alebo v aminokyselinovej sekvencii „zodpovedajúca“ polohe v inej sekvencii znamená, že ak majú tieto dve sekvencie dostatočnú štrukturálnu podobnosť, môžu byť zosúladené prostredníctvom štandardného zosúlaďovacieho algoritmu, ako napríklad BLAST (Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.V. & Lipman, D.J. (1990) „Basic local

alignment search toll." J. Mol. Biol. 215:403-41; Gish, W. & States, D.J. (1993) „Identification of protein coding regions by database similarity search.“ Nature Genet. 3:266-272; Madden, T.L., Tatusov, R.L. & Zhang, J. (1996) „Applications of network BLAST server“ Meth. Enzymol. 266:131-141; Zhang, J. & Madden, T.L. (1997) „PowerBLAST: A new network BLAST application for interactive or automated sequence analysis and annotation.“ Genome Res. 7:649-656; Altschul, Stephen F., Thomas L. Madden, Alejandro A. Schäffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, a David J. Lipman (1997), „Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein databasesearch programs“, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402), a pri uskutočnení takéhoto zosúladenia by boli tieto dve polohy zoradené ako pár.

Ďalšie uskutočnenie predloženého vynálezu sa týka spôsobu oslabenia európskeho PRRS vírusu, ktorý spočíva v tom, že

- a) nukleotidová sekvencia vírusu sa modifikuje miestne špecifickou mutagenézou aspoň v jednej z polôh ORF3 zodpovedajúcich polohám 267 až 287 v sekv. č. 23;
- b) testuje sa, či je výsledný PRRS vírus oslabený.

Ďalšie uskutočnenie predloženého vynálezu sa týka spôsobu oslabenia európskeho PRRS vírusu, ktorý spočíva v tom, že

- a) nukleotidová sekvencia vírusu sa modifikuje miestne špecifickou mutagenézou aspoň v jednej z polôh zodpovedajúcich polohám 201 až 221 ORF5 v sekv. č. 24;
- b) testuje sa, či je výsledný PRRS vírus oslabený.

Výhodne, modifikácia, ako je opísaná vyššie, vedie k zmene aminokyselinovej sekvencie kódovaného proteínu. Výhode je modifikáciou delécia alebo substitúcia. Vo výhodnom uskutočnení je sekvencia každého z ORF2, ORF3 a ORF5 modifikovaná. V inom výhodnom uskutočnení je sekvencia ORF2 modifikovaná aspoň v dvoch, výhodne aspoň v troch polohách. Výhodne modifikácia vedie k jednému alebo viacerým z nasledujúcich znakov: OFR2 kódujúci proteín majúci aminokyselinu v jednej alebo viacerých aminokyselinových sekvenčných polohách zodpovedajúcich pozíciám 47, 88 a/alebo 95 aminokyselinovej sekvencie kódovanej sekv. č. 22, substituované alebo deletované;

ORF3 kódujúci proteín majúci aminokyselinu zodpovedajúcu polohe 93 v aminokyselinovej sekvencii kódovanej sekv. č. 23 substituovanú alebo deletovanú; a/alebo ORF5 kódujúci proteín majúci aminokyselinu zodpovedajúcu polohe 71 aminokyselinovej sekvencie kódovanej sekv. č. 24 substituovanú alebo deletovanú.

Výhodnejšie modifikácia urobená takýmto spôsobom vedie k jednému alebo viacerým, výhodne ku všetkým nasledujúcim znakom: ORF2 kódujúci proteín, ktorý má serín v polohe zodpovedajúcej polohe 47 aminokyselinovej sekvencie kódovanej sekv. č. 22, ORF2 kódujúci proteín, ktorý má fenylalanín v polohe zodpovedajúcej polohe 88 aminokyselinovej sekvencie kódovanej sekv. č. 22, ORF2, ktorý má leucín v polohe zodpovedajúcej polohe 95 aminokyselinovej sekvencie kódovanej sekv. č. 22, ORF3, ktorý má prolín v polohe zodpovedajúcej polohe 93 aminokyselinovej sekvencie kódovanej sekv. č. 23, a/alebo ORF5, ktorý má fenylalanín v polohe zodpovedajúcej polohe 71 v aminokyselinovej sekvencii kódovanej sekv. č. 24.

Vo výhodných uskutočneniach modifikácia vedie k jednému alebo viacerým, výhodne ku všetkým z nasledujúcich znakov: ORF2 majúci C v polohe zodpovedajúcej polohe 140 v sekv. č. 22, ORF2 majúci T v polohe zodpovedajúcej polohe 262 v sekv. č. 22, ORF2 majúci C v polohe zodpovedajúcej polohe 283 v sekv. č. 22, ORF3 majúci C v polohe zodpovedajúcej polohe 277 v sekv. č. 23 a/alebo ORF5 majúci T v polohe zodpovedajúcej polohe 211 v sekv. č. 24.

V ďalšom uskutočnení sa predložený vynález týka oslabeného európskeho PRRS vírusu získateľného spôsobom opísaným vyššie.

V ďalšom uskutočnení sa predložený vynález týka oslabeného európskeho PRRS vírusu majúceho ORF2, ktorý sa líši od sekv. č. 22 v jednej alebo vo viacerých polohách 130 až 150 a/alebo jednej alebo vo viacerých polohách 252 až 272 a/alebo jednej alebo vo viacerých polohách 273 až 293.

V ďalšom uskutočnení sa predložený vynález týka oslabeného európskeho PRRS vírusu majúceho ORF3, ktorý sa líši od sekv. č. 23 v jednej alebo vo viacerých polohách 267 až 287.

V ďalšom uskutočnení sa predložený vynález týka oslabeného európskeho PRRS vírusu majúceho ORF5, ktorý sa líši od sekv. č. 24 v jednej alebo vo viacerých polohách 201 až 221.

V ďalšom uskutočnení sa predložený vynález týka vakcíny, ktorá obsahuje oslabený európsky PRRS vírus, ako je opísaný vyššie, v kombinácii s farmaceuticky prijateľným nosičom. V ďalšom uskutočnení sa predložený vynález týka spôsobu očkovania ošipaných proti PRRS, ktorý spočíva v tom, že sa účinné množstvo takejto vakcíny podáva ošipanej. Alternatívne sa predložený vynález týka použitia oslabeného európskeho PRRS vírusu, ako je opísaný, na výrobu vakcíny proti PRRS.

Výhodne môže byť živý oslabený PRRS vírus použitý na liečenie, profylaxiu alebo diagnostiku ochorení spôsobených štandardným PRRS vírusom. Príklady takýchto ochorení a použití sú uvedené v príklade 1. Ďalej sa vynález týka použitia vírusov podľa vynálezu. Ich definovaný molekulový základ oslabenia ich robí vynikajúcimi oproti vírusom známym v oblasti. Najmä použitie vírusov podľa vynálezu, ktoré obsahujú delécie vo virulentných špecifických miestach, je výhodné, keďže delécie sú menej náchylné na reverziu.

Iným výhodným uskutočnením predloženého vynálezu je farmaceutický prostriedok obsahujúci jeden alebo niekoľko PRRS vírusov podľa vynálezu a farmaceuticky prijateľný nosič. Výhodným predmetom je farmaceutický prostriedok obsahujúci nie len uvedený európsky PRRS vírus podľa vynálezu, ale aj oslabený US PRRS vírus, ako napríklad vírus, ktorý sa predáva vo farmaceutickom prostriedku pod obchodným označením RespPRRS/Ingelvac® PRRS MLV, Boehringer Ingelheim. Farmaceuticky prijateľný nosič môže obsahovať fyziologicky prijateľné zlúčeniny, ktoré slúžia napríklad na stabilizáciu alebo a zvýšenie absorpcie alebo tvoria časť PRRS formulácie s pomalým uvoľňovaním podľa vynálezu. Takéto fyziologicky prijateľné zlúčeniny zahŕňajú napríklad sacharidy, ako napríklad glukózu, sacharózu alebo dextransy, antioxidanty, ako napríklad kyselinu askorbovú alebo glutatión, chelatačné činidlá, proteíny s nízkou molekulovou hmotnosťou alebo iné stabilizátory alebo excipienty (pozri aj napr. Remington's Pharmaceutical Sciences (1990), 18. vyd. Mack Publ., Easton). Priemerný odborník v oblasti by vedel, že voľba farmaceuticky prijateľného nosiča, vrátane fyziologicky prijateľnej zlúčeniny, závisí napríklad na spôsobe podávania prostriedku. Najvýhodnejšie je prostriedok formulovaný prostredníctvom získania supernatantu obsahujúceho vírus (tekutina z tkanivovej kultúry) z infikovanej bunkovej kultúry

a mrazovým vysušením uvedeného supernatantu, voliteľne po pridaní stabilizátora. Mrazom vysušený prostriedok môže byť rekonštituovaný s vodou pred podávaním. V inom prípade by bol vhodným nosičom roztok fyziologickej soli. Výhode sa farmaceutický prostriedok injektuje intramuskulárne alebo intradermálne. Vakcína podľa vynálezu sa môže podávať prasiatkam, v závislosti na spôsobe vakcinácie prasníc, vo veku 1, 3, 6 alebo 10 týždňov, prasniciam pred páraním a/alebo 6 týždňov pred vrhaním (booster očkovanie) alebo kancom každého pol roka (boostery).

Iným výhodným uskutočnením predloženého vynálezu je použitie PRRS vírusu podľa vynálezu na výrobu vakcíny na profylaxiu a liečenie PRRS infekcií.

Nasledujúci príklad slúži na podrobnejšie ilustrovanie predloženého vynálezu, ale nemôže byť považovaný za obmedzujúci rozsah tu opísaného vynálezu.

Prehľad obrázkov na výkrese

Obrázok 1: Porovnanie sekvencií štandardného Lelystad vírusu, zverejneného v GenBank, oslabeného vírusu A (skratka Vir.A) a oslabeného Lelystad vírusu B

Genomická oblasť: ORF 2

Počet nukleotidov: 750

Hrubým písmom a v rámečkoch sú označené mutácie (nesynonymné nukleotidové zmeny) podľa vynálezu (pozri nároky 2 a 3).

Obrázok 2: Porovnanie sekvencií štandardného Lelystad vírusu, zverejneného v GenBank, oslabeného vírusu A (skratka Vir.A) a oslabeného Lelystad vírusu B

Genomická oblasť: ORF 3

Počet nukleotidov: 798

Hrubým písmom a v rámečkoch sú označené mutácie (nesynonymné nukleotidové zmeny) podľa vynálezu (pozri nároky 2 a 3).

Obrázok 3: Porovnanie sekvencií štandardného Lelystad vírusu, zverejneného v GenBank, oslabeného vírusu A (skratka Vir.A) a oslabeného Lelystad vírusu B

Genomická oblasť: ORF 4

Počet nukleotidov: 552

Obrázok 4: Porovnanie sekvencií štandardného Lelystad vírusu, zverejneného v GenBank, oslabeného vírusu A (skratka Vir.A) a oslabeného Lelystad vírusu B

Genomická oblasť: ORF 5

Počet nukleotidov: 606

Hrubým písmom a v rámečkoch sú označené mutácie (nesynonymné nukleotidové zmeny) podľa vynálezu (pozri nároky 2 a 3).

Príklad uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

Zavedenie oslabenia

Tento príklad poskytuje jasný návod na porovnanie virulentného charakteru dvoch odlišných kmeňov PRRS vírusov. Ako referenčný kmeň pre typický virulentný európsky kmeň môže slúžiť Lelystad agens (CDI-NL-2.91) s nízkym počtom pasáží (nie viac ako piatimi) na bunkovej kultúre.

V skupine je pre každý pokus zahrnutých aspoň 10 prasničiek prvôstok, ktoré sú získané z farmy bez PRRS. Zvieratá sa testujú, či neobsahujú PRRS vírusové špecifické sérové protilátky a či sú negatívne na PRRSV. Všetky zvieratá zahrnuté v jednom teste sú z rovnakého zdroja a plemena a sú z farmy, v ktorej sa v predchádzajúcej histórii nevyskytla žiadna PRRSV infekcia. Rozdelenie zvierat do skupín je náhodné. Očkovanie sa uskutočňuje na 85. až 90. deň ťarchavosti intranazálnou aplikáciou 1 ml PRRSV s 10^5 TDCID₅₀ (tretia pasáž) do nozdier. Sú najmenej tri skupiny pre každú testovaciu zostavu:

Jedna skupina na infikovanie s Lelystad agensom (CDI-NL-2.91); jedna testovacia skupina na infikovanie s pravdepodobným oslabeným vírusom; a jedna striktná kontrolná skupina.

Hodnota štúdie je potvrdená, keď striktné kontroly ostávajú PRRS negatívne v priebehu štúdie a v skupine infikovanej s Lelystad agensom sa narodí aspoň 25 % menej zdravých prasiatok v porovnaní so striktnými kontrolami.

Oslabenie, inými slovami nižšia virulencia, je definované ako štatisticky významná zmena jedného alebo viacerých parametrov determinujúcich reprodukčnú výkonnosť.

Výhodná je významná redukcia aspoň v jednom z nasledujúcich parametrov pre testovanú skupinu:

- frekvencia mŕtvonarodených
- potrat v 112. alebo pred 112. dňom ťarchavosti
- počet mumifikovaných prasiatok
- počet živých a slabých prasiatok
- úmrtnosť pred odstavením

alebo je okrem toho výhodný významný nárast v jednom z nasledujúcich parametrov pre testovanú skupinu:

- počet odstavených prasiatok na prasnicu
- počet narodených živých zdravých prasiatok na prasnicu
- v porovnaní so skupinou infikovanou s Lelystad agensom.

Ako príklad môžu byť v klinickom teste podľa uvedeného opisu získané nasledujúce výsledky s Lelystad agensom 147 krát pasážovaným na bunkovej kultúre:

Úroveň pasážovania	živé/zdravé	živé/slabé	mŕtvo narodené	mumifikované	priemer narodených mláďat na prasnicu
5	30,5 %	45,5 %	17,9 %	6,2 %	11
147	71,9 %	10,5%	17,54 %	0	11,4

Uvedené sú údaje o reprodukčnej výkonnosti prasníc od prasníc, ktoré boli inokulované, ako je opísané vyššie, s Lelystad agensom pasážovaným na bunkovej kultúre 5 krát (skupina 1) a s Lelystad agensom pasážovaným na bunkovej kultúre

147 krát (skupina 2). V ďalšej skupine 3 zvieratá slúžili ako striktná kontrola a inokuloval sa im len supernatant z bunkovej kultúry bez PRRSV:

Skupina	Úroveň pasážovania inokula	Trvanie ťarchavosti v dňoch	Celkový počet narodených prasiatok	Živé/ zdravé	Živé/ slabé	Mŕtvo-narodené	Mumifikované
1	5	115	15	5	7	2	1
1	5	111	7	5	1	1	0
1	5	113	6	2	2	1	1
1	5	110	14	2	10	2	0
1	5	115	13	0	8	4	1
Priemer v skup.1			11	2,8	5,6	2,0	0,6
%			100	30,5	45,5	17,9	6,2
2	147	115	13	11	1	1	0
2	147	113	12	12	0	0	0
2	147	115	10	0	4	6	0
2	147	115	8	8	0	0	0
2	147	115	14	10	1	3	0
Priemer v skup. 2			11,4	8,2	1,2	2	0
%			100	71,93	10,53	17,54	0
3	-	117	12	11	1	0	0
3	-	115	9	8	1	0	0
3	-	116	14	9	5	0	0
3	-	115	6	6	0	0	0
3	-	115	14	11	3	0	0
3	-	116	15	14	1	0	0

Priemer v skup. 3			11,7	9,8	1,8	0	0
%			100	86,1	13,9	0	0

Zoznam sekvencií

<110> Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH

<120> Živý oslabený PRRS vírus

<130> 1-1176

<160> 29

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 750

<212> DNA

<213> PRRS vírus

<400> 1

```
atgcaatggg gttactgtgg agtaaaatca gccagctggt cgtggacgcc ttcactgagt 60
tccttgtag tgtggtgat attgttattt tccttgccat actgtttggg ttcaccgtcg 120
caggatgggt actggtcttc cttctcagag tggtttgctc cgcgcttctc cgttcgcgct 180
ctgccattca ctctccgaa ctatcgaagg tcctatgaag gcttggtgcc caactgdaga 240
ccgatgtcc cacaatttgc attcaagcac ccattgggtg tgccttgcca catgcgagtt 300
tcccaattaa ttgatgagat ggtctctcgt cgcatttacc agaccatgga acattcaggt 360
caagcggcct ggaagcaggc ggttggtgag gccactctca cgaagctgtc aaggctcgat 420
atagttactc atttccaaca cctggccgca gtagaggcgg attcttgccg ctttctcagc 480
tcacgactcg tgatgctaaa aaatcttgcc gttggcaatg tgagcctaca gtacaacacc 540
acgttgacc gcgttgagct catcttcccc acgccaggta cgaggcccaa gttgaccgac 600
ttcagacaat ggctcatcag tgtgcacgct tccatttttt cctctgtggc ttcattctgtt 660
accttggtca tagtgctttg gcttcgaatt ccagctctac gctatgtttt tggtttccat 720
tggtccacgg caacacatca ttcgagctga 750
```

<210> 2

<211> 798

<212> DNA

<213> PRRS vírus

<400> 2

```
atggctcatc agtgtgcacg cttccatttt ttctctctgt gcttcatctg ttaccttggt 60
catagtgcct tggcttcgaa ttccagctct acgctatggt tttggtttcc attggccac 120
ggcaacacat cattcgagct gaccatcaac tacaccatat gcatgccctg ttctaccagt 180
caagcggctc gccaaaggct cgagcccggt cgtaacatgt ggtgcaaaat agggatgac 240
aggtgtgagg agcgtgacca tgatgagttg ttaatgcccc tcccgctccg gtacgacaac 300
ctcaaacttg agggttatta tgcctggctg gcttttttgt ccttttccta cgcggcccaa 360
ttccatccgg agttgttcgg gatagggaat gtgtcgcgcg tcttcgtgga caagcgacac 420
cagttcattt gtgccgagca tgatggacag aattcaaccg tatctaccgg acacaacatc 480
tccgcattat atgcggcata ttaccaccac caaatagacg ggggcaattg gttccatttg 540
gaatggctgc ggccactctt ttctctctgg ctggtgctca atatatcatg gtttctgagg 600
cgttcgcctg taagccctgt ttctcgacgc atctatcaga tattgagacc aacacgaccg 660
cggtgcggg tttcatggtc cttcaggaca tcaattgtct ccgacctcac ggggtctcag 720
cagcgcaaga ggaaattccc ttcggaaagt cgtcccaatg tcgtgaagcc gtcggtactc 780
cccagtacat cacgataa 798
```

<210> 3

<211> 552

<212> DNA

<213> PRRS virus

<400> 3

```
atggctgcgg ccactctttt cctcctggct ggtgctcaat atatcatggt ttctgaggcg 60
ttcgctgta agccctgttt ctgcacgcat ctatcagata ttgagaccaa cacgaccgcg 120
gctgcgggtt tcatggctct tcaggacatc aattgtctcc gacctcacgg ggtctcagca 180
gcgcaagagg aaattccctt cggaaagtgc tcccaatgtc gtgaagccgt cgggtactccc 240
cagtacatca cgataacggc taacgtgacc gacgaatcat acttgtaaa cgcggaacttg 300
ctgatgcttt ctgcgtgctt tttccacgcc tcagaaatga gcgagaaagg cttcaaagtt 360
atctttggga atgtctctgg cgttgtttcc gcttgtgtca atttcacaga ttatgtggcc 420
catgtgaccc aacataccca gcagcatcat ttggtaattg atcacattcg gttgctgcat 480
ttcctgacac catctgcaat gaggtgggct acaaccattg cttgtttggt cgccattctc 540
ttggcgatat ga 552
```

<210> 4

<211> 606

<212> DNA

<213> PRRS virus

<400> 4

```
atgagatggt ctcacaaatt ggggcggttc ttgactccgc actottgctt ctggtgggttt 60
tttttgctgt gtaccggctt gtccctggtc tttgccgatg gcaacggcaa cagctcgaca 120
taccaataca tatataactt gacgatatgc gagctgaatg ggaccgactg gttgtccagc 180
cattttgggtt gggcagtcga gacctttgtg ttttaccggt ttgccactca tatcctctca 240
ctgggttttc tcacaacaag ccattttttt gacgcgctcg gtctcggcgc tgtatccact 300
gcaggatttg ttggcggggt gtatgtactc tgcagcgtct acggcgcttg tgctttcgca 360
gcgttcgtat gttttgtcat ccgtgctgct aaaaattgca tggcctgccg ctatgcccgt 420
acccggttta ccaacttcat tgtagacaac cgggggagag ttcacgatg gaagtctcca 480
atagtggtag aaaaattggg caaagccgaa gtccagcgca acctcgtcac catcaaacat 540
gtcgtcctcg aaggggttaa agctcaacct ttgacgagga cttcggctga gcaatgggag 600
gcctag 606
```

<210> 5

<211> 14815

<212> DNA

<213> PRRS virus

<400> 5

```
gganacatac acgacacttc tagtgtttgt gtaccttgga ggcgtgggta cagccccgcc 60
ccacccttg gccctgttc tagcccaaca ggtatccttc tctctcgggg cgagtgcgcc 120
gcctgctgct cccttgacgc gggaaggacc tcccgagtat ttccggagag cacctgcttt 180
acgggatctc caccctttaa ccattgtctg gacgttctcc cgggtgcatgt gcacccccgc 240
tgcccggtta ttttggaacg ccggccaagt cttttgcaca cgggtgtctca gtgcgcggtc 300
tcttctctct ccagagcttc aggacactga cctcggtgca gttggcttgt tttaaaagcc 360
tagggacaag cttcactgga aagtccctat cggcatccct cagggtggaat gtactccatc 420
cgggtgctgt tggctctcag ctgttttccc tttggcgctg atgaacctcg gcaatcacao 480
cttcctccaa cgacttgtag aggttgctga tgttttgtac cgtgacgggt gcttggcacc 540
tcgacacctt cgtgaactcc aagtttacga gcgcggctgc aactggtagc cgatcacggg 600
gcccggtgcc gggatgggtt tgtttgcgaa ctccatgcac gtatccgacc agccgttccc 660
tggtgccacc catgtgttga ctaactcgcc tttgcctcaa caggcttggtt ggcagccggt 720
ctgtccatth gaggaggctc attctagcgt gtacagggtg aagaaatttg tggttttcac 780
ggactcctcc ctcaacgggt gatctcgcat gatgtggacg ccggaatccg atgattcagc 840
cgccctggag gtactaccgc ctgaggtaga acgtcagggt gaaatcctca ttcggagttt 900
tctgctcat caccctgtcg aactggccga ctgggagctc actgagtcct ctgagaacgg 960
```

tttttccttc aacacgtctc attctttgagg tcaccttgtc caaaaccccg acgtgtttga 1020
tggcaagtgc tggctctcct gctttttggg ccagtcggcc gaagtgcgct gccatgagga 1080
acatctagct gacgccttcg gttaccaaac caagtggggc gtgcatggta agtacctcca 1140
gcgcaggctt caagtccaag gcatttcgtg tgtagtcgat cctgaagggtc ccattcacgt 1200
tgaagcgtg tcttgccccc agtcttgat caggcacctg actctgaatg atgatgtcac 1260
cccaggattc gttcgccctga catcccttcg cattgtgccc aacacagagc ctaccacttc 1320
ccggatcttt cggtttgagg cgcataagtg gtatggcgct gccggcaaac gggctcgtgc 1380
taagcgtgcc gctaaaagtg agaaggattc ggctccacc cccaagggtt ccctgcctgt 1440
ccccacctgt ggaattacca cctactctcc accgacagac gggctctgtg gttggcatgt 1500
ccttgccgcc ataataaacc ggatgataaa tggtagcttc acgtccctc tgactcagta 1560
caacagacca gaggatgatt gggcttctga ttatgatctt gttcaggcga ttcaatgtct 1620
acaactgcct gctaccgtgg ttccgaatcg cgctgtcct aacgccaaagt acctataaaa 1680
acttaacgga gttcactggg aggtagaggt gaggtctgga atggctcctc gctcccttc 1740
tcgtgaatgt gtggttggcg tttgctctga aggctgtgtc gcaccgcctt atccagcaga 1800
cgggtacct aaacgtgcac tcgaggcctt ggctctgtc tacagactac cctccgattg 1860
tgtagctct ggtattgctg actttcttgc taatccacct cctcaggaat tctggacct 1920
cgacaaaatg ttgacctccc cgtcaccaga gcggtccggc ttctctagtt tgtataaatt 1980
actattagag gttgttccgc aaaaatgagg tgccacggaa ggggctttca tctatgctgt 2040
tgagaggatg ttgaaggatt gtccgagctc caaacaggcc atggcccttc tggcaaaaat 2100
taaagtcca tctcaaagg ccccgctgt gtccctggac ggggtgttcc ctacggatgt 2160
tccagccgac ttcgagccag catctccgga aaggccagct ggtctaatta acctggtagg 2220
cgggaatttg tccccctcag actccatgaa agaaaacatg ctcaatagcc gggaagacga 2280
accactggat ttgtcccaac cagcaccagc tgccacaacg acccttgtga gagagcaaac 2340
acccgacaac ccaggttctg atgcgggtgc cctcccgctc accgttcgag aatttgtccc 2400
gacggggcct atactcgtc atgttgagca ctgcggcacg gagtcgggcg acagcagttc 2460
gcctttggac cagtctgatg cgcaaacctt ggaccagcct ttaaatctat cctggccgc 2520
ttggccagtg agggccaccg cgtctgacct tggttgggtc caaggtaggc gcgagcctgt 2580
ttttgtaaag cctcgaaatg ctttctctga tggcgattca gcccttcagt tcggggagct 2640
ttctgaatcc agccctgtca tcgagtttga ccggacaaaa gatgctccgg tggttgacgc 2700
ccctgtcgac ttgacgactt cgaacgaggc cctctctgta gtgacccct tcgaatttgc 2760
cgaactcaag cgcccgctt tctccgcaca agccttaatt gaccgaggcg gtccacttgc 2820
cgatgtccat gcgaaaataa agaaccgggt atatgaacag tgccctcaag cttgtgagcc 2880
cggtagtcgt gcaaccccag ccaccaggga gtggctcgac aaaatgtggg atagggtgga 2940
catgaaaact tggcgctgca cctcgagtt ccaagctggt cgcattcttg cgtccctcaa 3000
attcctccct gacatgattc aagacacacc gcctcctgtt ccaggaaga accgagctag 3060
tgacaatgcc ggctgaagc aaccggtggc acagtgggat aggaaattga gtgtgacccc 3120
cccccaaaa ccggttgggc cagtgttga ccagaccgtc cctccgccta cggatatcca 3180
gcaagaagat gtcacccctt ccgatgggc acccatgag cggattttc ctagtgcagt 3240
gagcacgggc gggagtggga aaggccttat gctttccggc acccgtctcg cggggtctat 3300
cagtcagcgc ctcatgacat ggggttttga agttttctcc cactcccgag cttttatgct 3360
cacacttttc tcgccacggg gctctatggc tccaggtgat tggttgtttg caggtgtcgt 3420
tttactcgct ctcttgctct gtcgttctta cccgatactc ggatgccttc ccctattggg 3480
tgtcttttct ggttctttgc ggcgtgttcg tctgggtgtt tttgggtctt ggatggcttt 3540
tgctgtattt ttattctcga ctccatccaa ccagtcgggt tcttcttggt accacgattc 3600
gccggagtgt catgctgagc ttttggtctt tgagcagcg caactttggg aacctgtgcg 3660
cggccttgtg gtcggccctt cgggcctctt atgtgtcatt cttggcaagt tactcggtgg 3720
gtcacgttat ctctggcatg ttttctctag tttatgcatg cttgcggatt tggcccttcc 3780
tcttgtttat gtggtgtccc aggggcgttg tcacaagtgt tggggaaagt gtataaggac 3840
agctcctgcg gaggtggctc ttaatgtatt tcctttcttg cgcgccacc gtgctctct 3900
tgtatccttg tgtgatcgat tccaaacgcc aaaagggtt gatcctgtgc acttggcaac 3960
gggttggcgc ggggtgctggc gtggtgagag tcccatcat caaccacacc aaagcccat 4020
agcttatgcc aatttggatg aaaagaaaat atctgctcaa acggtggttg ctgtcccata 4080
cgatcccagt caggctgtca aatgcctgaa agttctgcag gcgggagggg ctatcggtga 4140
ccagcctaca cctgaggtcg ttcgcgtgtc cgagatcccc ttctcagccc catttttccc 4200
aaaagttcca gtcaaccag attgcagggt tgtggttagat tcggacactt ttgtggctgc 4260
ggtccgctgc gggtactcga cagcacaact ggtcctgggc cggggcaact ttgccaaagt 4320

aaatcagacc	ccccccagga	actctatctc	cacccaaaacg	actggtgggg	cctcttacac	4380
ccttgctgtg	gctcaagtgt	ctgcgtggac	tcttgttcat	ttcatcctcg	gtctttgggt	4440
cacatcacct	caagtgtgtg	gccgaggaac	cgctgaccga	tggtgttcaa	atcctttttc	4500
atatactacc	tatggccccg	gagttgtgtg	ctcctctcga	ctttgtgtgt	ctgccgacgg	4560
ggtcaccctg	ccattgttct	cagccgtggc	acaactctcc	ggtagagagg	tggggatttt	4620
tattttgggtg	ctcgtctcct	tgactgcttt	ggcccaccgc	atggctctta	aggcagacat	4680
gttagtgate	ttttcggctt	tctgtgotta	cgctggcccc	atgagctcct	ggttaatctg	4740
cttctttcct	atactcttga	agtgggttac	ccttcaccct	ctcactatgc	tttgggtgca	4800
ctcattcttg	gtgttttgtc	tgccagcagc	cggcatcctc	tcactaggga	taactggcct	4860
tctctgggca	attggccgct	ttaccaggt	tgccggaatt	attacacctt	atgacatcca	4920
ccagtaacac	tctggggccac	gtggtgcagc	tgctgtggcc	acagccccag	aaggcactta	4980
tatggccgcc	gtccggagag	ctgctttaac	tgggcgaact	ttaatcttca	ccccgtctgc	5040
agttggatcc	cttctcgaag	gtgctttcag	gactcataaa	ccctgcctta	acaccgtgaa	5100
tggtgtaggc	tcttcctctg	gttcgggagg	ggttttcacc	attgatggca	gaagaactgt	5160
cgtaactgct	gcccattgtg	tgaacggcga	cacagctaga	gtcaccggcg	actcctacaa	5220
ccgcatgcac	actttcaaga	ccaatggtga	ttatgcctgg	tcccatgctg	atgactggga	5280
gggcggttgc	cctgtgggtca	aggttgcgaa	ggggtaccgc	ggtcgtgcct	actggcaaac	5340
atcaactggt	gtcgaaccog	gtatcattgg	ggaagggttc	gccttctgtt	ttactaactg	5400
tgggcattcg	gggtcaccog	tcactctcaga	atctggtgat	cttattggaa	tccacaccgg	5460
ttcaaacaaa	cttggttctg	gtcttgtgac	aaccctgaa	ggggagacct	gcaccatcaa	5520
agaaaaccaag	ctctctgacc	tttccagaca	ttttgcaggc	ccaagcgctc	ctcttggggga	5580
cattaaattg	agtccggcca	tcactcctga	tgtaacatcc	attccgagtg	atttggcctc	5640
gctcctagcc	tccgtccctg	tagtgggaagg	cggcctctcg	accggtcaac	ttttgtgtgt	5700
ctttttcctt	ctctggcgca	tgatgggcca	tgcttggaac	cccattgttg	ccgtgggctt	5760
ctttttgctg	aatgaaattc	ttccagcagt	tttggtccga	gccgtgtttt	cttttgcaact	5820
ctttgtgctt	gcatgggcca	ccccctggtc	tgcacagggt	tgatgatta	gactcctcac	5880
ggcatctctc	aaccgcaaca	agctttctct	ggcgttctac	gcactcgggg	gtgtcgtcgg	5940
tttgcccgct	gaaatcggga	cttttgctgg	cagattgtct	gaattgtctc	aagctctttc	6000
gacatactgc	ttcttaccta	gggtccttgc	tatgaccagt	tggtgtccca	ccatcatcat	6060
cgggtggactc	cataccctcg	gtgtgattct	gtggttatct	aaataccggt	gcctccacaa	6120
catgctggtt	ggtgatggga	gtttctcaag	cgccttcttc	ctacggtatt	ttgcagaggg	6180
taatctcaga	aaaggtgttt	cacagtcctg	tggcatgaat	aacgagtcct	taacggctgc	6240
tttagcttgc	aagttgtcac	aggctgacct	tgattttttg	tccagcttaa	cgaacttcaa	6300
gtgctttgta	tctgcttcaa	acatgaaaaa	tgctgccggc	cagtacattg	aagcagcgta	6360
tgccaaggcc	ctgcgccaag	agttggcctc	tctagtctag	attgacaaaa	tgaaaggagt	6420
tttgtccaag	ctcgaggcct	ttgctgaaac	agccaccctg	tcccttgaca	taggtgacgt	6480
gattgttctg	cctgggcaac	atcctcacgg	atccatcctc	gatattaatg	tggggactga	6540
aaggaaaaact	gtgtccgtgc	aagagaccct	gagcctaggc	ggctccaaat	tcagtgtttg	6600
tactgtcgtg	tccaacacac	cctgaggcgc	cttaaccggc	atcccaactc	agacaccaac	6660
ccctcttttt	gagaatggtc	cgctcatcgc	cagcgaggaa	gacgatctta	aagtcgagag	6720
agtgaagaaa	cactgtgtat	ccctcggctt	ccacaacatc	aatggcaaa	tttactgcaa	6780
aatttgggac	aagtctaccg	gtgacacctt	ttacacggat	gattcccggt	acacccaaga	6840
ccatgctttt	caggacaggt	cagccgacta	cagagacagg	gactatgagg	gtgtgcaaac	6900
cgccccccaa	cagggatttg	atccaaagtc	tgaaaccccg	gttggcaccg	ttgtgatcgg	6960
cggatttaccg	tataacaggt	atctgatcaa	aggtaaagag	gttctgggtc	ccaagcctga	7020
caactgcctt	gaagctgccca	agctgtccct	tgagcaagct	ctcgtgggga	tggggccaaac	7080
ttgcgacctt	acagctgccg	agggtgaaaa	gctaaagcgc	atcattagtc	aactccaagg	7140
cttgaccact	gaacaggctt	taaactgtta	gccgccagcg	gcttgaccct	ctgtggccgc	7200
ggcggcctag	ttgtaactga	aacggcggtta	aaaattataa	aataccacag	cagaactttc	7260
accttagggc	cttttagacct	aaaagtcaact	tccgaggtgg	aggtaaagaa	atcaactgag	7320
cagggccacg	ctgttgtggc	aaacttatgt	tccgggtgtca	tcttgatgag	acctcaccca	7380
ccgtcccttg	ttgaagttct	tctgaaaccc	ggacttgata	caacaccccg	cattcaacca	7440
gggcatgggg	ccgggaatat	gggcgtggac	ggttctatct	gggattttga	aaccgcaccc	7500
acaaaggcag	aactcgagtt	atccaagcaa	ataatccaag	catgtgaagt	taggcgcggg	7560
gacgccccga	acctccaact	cccttacaag	ctctatcctg	ttagggggga	tcctgagcgg	7620
cataaaggcc	gccttatcaa	caccaggttt	ggagattttac	cttacaaaa	tcctcaagac	7680

accaagtccg	caatccaacg	ggcttgttgc	ctgcacccca	acggggcccc	agtgtctgat	7740
ggtaaatacca	cactaggtac	cactcttcaa	catggtttcg	agcttttatgt	ccctactgtg	7800
ccctatagtg	tcatggagta	ccttgattca	cgccctgaca	ccccttttat	gtgtactaaa	7860
catggcactt	ccaaggctgc	tgcagaggac	ctccaaaaat	acgacctatc	cacccaagga	7920
tttgtcctgc	ctgggggtcct	acgcctagta	cgagattca	tctttggcca	tattggtaag	7980
gogccgccat	tgttcctccc	atcaacttat	cccgccaaaga	actctatggc	agggatcaat	8040
ggccagaggt	tcccaacaaa	ggacgttcag	agcataacctg	aaattgatga	aatgtgtgcc	8100
cgcgcgtca	aggagaattg	gcaaactgtg	acaccttgta	ccctcaagaa	acagtactgt	8160
tccaagccca	aaaccaggac	catcctgggc	accaacaact	ttattgcctt	ggctcacaga	8220
tggcgctca	gtggtgtcac	ccaggcatto	atgaagaagg	ccttgaagtc	cccaattgcc	8280
ttggggaaaa	acaaattcaa	ggagctgcat	tgcactgtcg	ccggcagatg	tcttgaggcc	8340
gaacttggcct	cctgtgaccg	cagcaccccc	gccattgtaa	gatggtttgt	tgccaaacctc	8400
ctgtatgaac	ttgcaggatg	tgaagagtac	ttgcctagct	atgtgcttaa	ttgctgccat	8460
gaacctcgtgg	caacacagga	tgggtgccttc	acaaaacgcg	gtggcctgtc	gtccggggac	8520
ccogtcacca	gtgtgtccaa	caccgtatat	tactggtaa	tttatgccc	gcacatggta	8580
ttgtcggcct	tgaaaatggg	tcatgaaatt	ggtcttaagt	tcttcgagga	acagctcaaa	8640
ttcaggagacc	tccttgaaat	tcagcctatg	ttggtatact	ctgatgacct	tgtcttgtac	8700
gctgaaagac	ccacctttcc	caattaccac	tgggtgggtcg	agcaccttga	cctgatgctg	8760
ggtttcagaa	cggacccaaa	gaaaaccgtc	ataactgata	aaccagctt	cctcggctgc	8820
agaattgagg	cagggcgaca	gctagtcccc	aatcgcgacc	gcacctggc	tgctcttgca	8880
tatcacatga	aggcgcagaa	cgcctcagag	tattatgctg	ctgctgcgcg	aatcctgatg	8940
gattcatgtg	cctgcattga	ccatgaccct	gagtgggtatg	aggacctcat	ctgcggtatt	9000
gcccgggtgcg	cccgccagga	tgggttatagc	ttcccagggtc	cggcattttt	catgtccatg	9060
tgggagaagc	tgagaagtca	taatgaaggg	aagaagttcc	gccactgcgg	catctgcgac	9120
gccaaagccg	actatgcgtc	cgcctgtggg	ccttgatttgt	gtttgttcca	ttcgcacttt	9180
catcaacact	gccctgtcac	tctgagctgc	ggtcaccatg	ccggttcaaa	ggaatgttcg	9240
cagtgtcagt	cacctgttgg	ggctggcaga	tcocctcttg	atgccgtgct	aaaacaaatt	9300
ccatacaaac	ctcctcgcac	tgtcatcatg	aagggtgggtg	ataaaaacaac	ggccctcgat	9360
ccggggaggt	accagtcccc	tcgaggcttc	gttgcagtca	agaggggtat	tgagggaat	9420
gaagttgatic	tttctgatgg	agactaccaa	gtggtgcctc	ttttgcgcac	ttgcaaagac	9480
ataaacatgg	tgaaggtggc	ttgcaatgta	ctactcagca	agttcatagt	agggccacca	9540
ggttcoggaa	agaccacctg	gctactgagt	caagtcacag	acgatgatgt	catttacaca	9600
cccacccatc	agactatggt	tgatatagtc	agtgtcttca	aagtttcag	gtattccgtt	9660
ccaggagcct	caggactccc	tttcccacca	cctgcccagg	ccgggcccgtg	ggttaggctt	9720
attgccagcg	ggcacgtccc	tggccagata	tcatacctcg	atgaggctgg	atattgtaat	9780
catctggaca	ttccttagact	gctttccaaa	acacccttg	tgtgtttggg	tgaccttcag	9840
caacttcacc	ctgtcggctt	tgattcctrc	tgttatgtgt	tcgatcagat	gcctcagaag	9900
cagctgacca	ctatttacag	atgtggcct	aacatttgcg	cagccatcca	gccttggtac	9960
agggaaaaaac	ttgaatctaa	ggctaggaac	accagggtgg	tttttaccac	ccggcctgtg	10020
gcctttgggtc	aggtgctgac	accataccat	aaagatcgca	tcggctctgc	gataaccata	10080
gattcatccc	agggggccac	ctttgatatt	gtgacattgc	atctaccatc	gccaaagtcc	10140
ctaaataaat	cccagacact	tgtagccatc	actcgggcaa	gacacggggt	gttcatttat	10200
gacctcata	accagctcca	ggagtttttc	aatctaacc	ctgagcgcac	tgattgtaac	10260
cctgtgttca	gctgtgggga	tgagctggta	gttctgaatg	cggataatgc	agtcacaact	10320
gtagcgaagg	ccctagagac	aggtccatct	cgatttcgag	tatcagaccc	gaggtgcaag	10380
tctctcttag	ccgcttggtc	ggccagctctg	gaaggagct	gtatgccact	accgcaagtg	10440
gcacataaoc	tggggtttta	cttttccccg	gacagtcag	tattttgcac	tctgccaaaa	10500
gagttggcgc	cacattggcc	agtggttacc	caccagaaca	atcgggcgtg	gcctgatcga	10560
cctgtcgcta	gtatgcgccc	aattgatgcc	cgctacagca	agccaatggg	cgggtgcagg	10620
tatgtggctg	ggcgcgcac	ctttcttggt	actcctggcg	tgggtgcata	ctatctcaca	10680
ctatacatca	ggggtgaacc	tcaggccttg	ccagaaacac	tcgtttcaac	aggacgtata	10740
gccacagatt	gtcgggagta	tctcgaocgc	gctgaggaag	aggcagcaaa	agaactcccc	10800
cacgcattca	ttggcgatgt	caaaggatcc	acgggtgggg	ggtgtcatca	cattacatca	10860
aaatacctac	ctaggtccct	gcctaaggac	tctgttgccg	tagttggagt	aagttcgccc	10920
ggcagggctg	ctaaagccgt	gtgcactctc	accgatgtgt	acctccccga	actccggcca	10980
tatctgcaac	ctgagacggc	atcaaaatgc	tggaaactca	aattagactt	cagggacgtc	11040

cgactaatgg	tctggaaagg	agccaccgcc	tatttccagt	tggaagggct	tacatgggtcg	11100
gcgctgcccg	actatgccag	gtttattcag	ctgcccagg	atgccgttgt	atacattgat	11160
ccgtgtatag	gaccggcaac	agccaaccgt	aaggctgtgc	gaaccacaga	ctggcgggcc	11220
gacctagcag	tgacaccgta	tgattacggc	gcccagaaca	ttttgacaac	agcctgggttc	11280
gaggacctcg	ggcgcagtg	gaagattttg	gggttacagc	cctttaggcg	agcattttggc	11340
tttgaaaaca	ctgaggattg	ggcaatcctt	gcacgccgta	tgaatgacgg	caaggactac	11400
actgactata	actggaactg	tgttcgagaa	cgccacacg	ccatctacgg	gcgtgctcgt	11460
gaccatacgt	atcattttgc	ccctggcaca	gaattgcagg	tagagctagg	taaaccgccg	11520
ctgcccctcg	ggcaagtgcc	gtgaattcgg	agtgatgcaa	tggggttact	gtggagtaaa	11580
atcagccagc	tggtcgtgga	cgccttcact	gagttccttg	ttagtgtggt	tgatattggt	11640
attttccttg	ccatactggt	tgggttcacc	gtcgcaggat	ggttactggg	cttccttctc	11700
agagtggttt	gctccgcgct	tctccgttcg	cgctctgcca	ttcactctcc	cgaactatcg	11760
aaggctcctt	gaaggcttgt	tgcccaactg	cagaccggat	gtcccacaat	ttgcattcaa	11820
gcacccaattg	ggtatgcttt	ggcacatgcg	agtttcccaa	ttaattgatg	agatgggtctc	11880
tcgtcgcatt	taccagacca	tggaaacattc	aggtcaagcg	gcctggaagc	aggcggttgg	11940
tgaggccact	ctcacgaagc	tgtcaaggct	cgatatagtt	actcatttcc	aacacctggc	12000
cgcagtagag	gcggattcct	gccgctttct	cagctcacga	ctcgtgatgc	taaaaaatct	12060
tgccgttggc	aatgtgagcc	tacagtacaa	caccacgttg	gaccgcgttg	agctcatctt	12120
ccccacgoca	ggtacgaggc	ccaagttgac	cgacttcaga	caatggctca	tcagtgtgca	12180
cgcttccatt	ttttcctctg	tggcttcac	tgttaccttg	ttcatagtgc	tttggcttcg	12240
aattccagct	ctacgctatg	tttttggttt	ccattggccc	acggcaaac	atcattogag	12300
ctgaccatca	actacaccat	atgcatgccc	tgttctacca	gtcaagcggc	tcgccaaagg	12360
ctcgagcccg	gtcgtaacat	gtggtgcaaa	atagggtag	acaggtgtga	ggagcgtgac	12420
catgatgagt	tgtaaatgcc	catcccgtcc	gggtacgaca	acctcaaact	tgagggttat	12480
tatgcttggc	tggctttttt	gtccttttcc	tacgcggccc	aattccatcc	ggagttgttc	12540
gggatagggg	atgtgtcgcg	cgtcttcgtg	gacaagcgac	accagttcat	tttgtccgag	12600
catgatggac	agaattcaac	cgtatctacc	ggacacaaca	tctccgcatt	atatgcggca	12660
tattaccacc	accaaataga	cgggggcaat	tggttccatt	tggaaatggc	gcggccactc	12720
ttttcctcct	ggctgggtgt	caatatatca	tggtttctga	ggcgttcgcc	tgtaagccct	12780
gtttctcgac	gcctctatca	gatattgaga	ccaacacgac	cgcggtgcc	ggtttcatgg	12840
tcttcagga	catcaattgt	ctccgacctc	acgggggtctc	agcagcgcaa	gaggaaattc	12900
ccttcggaaa	gtcgtcccaa	tgctgtgaag	ccgtcggtag	tcccagtag	atcacgataa	12960
cggctaactg	gaccgacgaa	tcatacttgt	acaacgcgga	cttgctgatg	ctttctgcgt	13020
gccttttcca	cgcctcagaa	atgagcgaga	aaggettcaa	agttatcttt	gggaatgtct	13080
ctggcggtgt	ttccgcttgt	gtcaatttca	cagattatgt	ggcccatgtg	accaacata	13140
cccagcagca	tcatttggta	attgatcaca	ttcggttgct	gcatttctctg	acaccatctg	13200
caatgaggtg	ggctacaacc	attgcttgtt	tgttcgccat	tctcttggcg	atatgagatg	13260
ttctcaca	ttggggcggt	tcttgactcc	gcactcttgc	ttctgggtgg	tttttttget	13320
gtgtaccggc	ttgtcctggg	cctttgccga	tggcaacggc	aacagctcga	cataccaata	13380
catatataac	ttgacgatat	gcgagctgaa	tgggaccgac	tggttgtcca	gccatttttg	13440
ttggggcagtc	gagacctttg	tgttttaccc	ggttggccact	catatcctct	cactgggttt	13500
tctcacaaca	agccattttt	ttgacgcgct	cggctctcggc	gctgtatcca	ctgcaggatt	13560
tgttggcggg	cggtatgtac	tctgcagcgt	ctacggcgct	tgtgctttcg	cagcgttcgt	13620
atgttttgtc	atccgtgctg	ctaaaaattg	catggcctgc	cgctatgccc	gtaccgggtt	13680
taccaacttc	attgtagaca	accgggggag	agttcatcga	tggaaagtctc	caatagtggg	13740
agaaaaattg	ggcaaagccg	aagtcgacgg	caacctcgtc	accatcaaac	atgtcgtcct	13800
cgaaggggtt	aaagctcaac	ccttgacgag	gacttcggct	gagcaatggg	aggcctagac	13860
gattttttgca	acgatcctat	cgcgcacaa	aagctcgtgc	tagccttttag	catcacatac	13920
acacctataa	tgatatacgc	ccttaagggtg	tcacgcggcc	gactcctggg	gctgttgca	13980
atcctaatat	ttctgaactg	ttcctttaca	ttcggatata	tgacatatgt	gcattttcaa	14040
tccaccaacc	gtgtcgcact	taccctgggg	gctgttgtcg	cccttctgtg	gggtgtttac	14100
agcttcacag	aatcatggaa	gtttatcact	tccagatgca	gatttgtgtg	ccttggccgg	14160
cgatacatte	tggcccctgc	ccatcacgta	gaaagtgtcg	caggtctcca	ttcaatctca	14220
gcgtctggta	accgagcata	cgcgtgtgaga	aagcccgga	taacatcagt	gaacggcact	14280
ctagtaccag	gacttcggag	cctcgtgctg	ggcggaac	gagctgttaa	acgaggagt	14340
gttaacctcg	tcaagtatgg	cgggtaaaaa	ccagagccag	aagaaaaaga	aaagtacagc	14400

```
tccgatgggg aatggccagc cagtcaatca actgtgccag ttgctgggtg caatgataaa 14460
gtcccagcgc cagcaaccta ggggaggaca ggccaaaaag aaaaagcctg agaagccaca 14520
ttttcccctg gctgctgaag atgacatccg gcaccacctc acccagactg aacgctccct 14580
ctgcttgcaa tcgatccaga cggctttcaa tcaaggcgca ggaactgctg cgctttcatc 14640
cagcgggaag gtcagttttc aggttgagtt tatgtgccg gttgtcata cagtgcgcct 14700
gattcgctg acttctacat ccgccagtca gggtgcaagt taatttgaca gtcaggtgaa 14760
tggccgcgat tggcgtgtgg cctctgagtc acctattcaa ttagggcggt catag 14815
```

<210> 6

<211> 750

<212> DNA

<213> PRRS virus

<400> 6

```
atgcaatggg gtcactgtgg agtaaaatca gccagctgtt cgtggacgcc ttcactgagt 60
tccttggttag tgtggttgat attgccattt tccttgccat actgtttggg ttcaccgtcg 120
caggatgggt actgggtcttt cttctcagag tggtttgctc cgcgcttctc cgttcgcgct 180
ctgccattca ctctccgaa ctatcgaagg tcctatgaag gcttggtgac caactgcaga 240
ccgatgtcc cacaatttgc agtcaagcac ccattgggga tgttttgga catgcgagtt 300
tcccacttga ttgatgagat ggtctctcgt cgcatttacc agaccatgga acattcaggt 360
caagcggcct ggaagcaggt ggttggtgag gccactctca cgaagctgtc agggctcgat 420
atagttactc atttccaaca cctggccgca gtggaggcgg attcttgccg cttctctcagc 480
tcacgactcg tgatgctaaa aaatcttgcc gttggcaatg tgagcctaca gtacaacacc 540
acgttggacc gcgttgagct catcttcccc acgccaggta cgaggcccaa gttgaccgat 600
ttcagacaat ggctcatcag tgtgcacgct tccatttttt cctctgtggc ttcattctgtt 660
accttgttca tagtgttttg gcttcgaatt ccagctctac gctatgtttt tggtttccat 720
tggcccaagg caacacatca ttcgagctga 750
```

<210> 7

<211> 798

<212> DNA

<213> PRRS virus

<400> 7

```
atggctcatc agtgtgcacg cttccatttt ttcctctgtg gcttcatctg ttaccttggt 60
catagtgttt tggcttcgaa ttccagctct acgctatgtt tttggtttcc attggcccac 120
ggcaacacat cattcgagct gaccatcaac tacaccatat gcatgccctg ttctaccagt 180
caagcggctc gccaaaggct cgagcccggg catagcatgt ggtgcaaaat agggcatgac 240
aggtgtgagg agcgtgacca tgatgagttg ttaatgcca tccggtccgg gtacgacaac 300
ctcaaacttg agggttatta tgcttggtg gcttttttgt ccttttccta cgcggcccaa 360
ttccatccgg agttgttcgg gatagggaaat gtgtcgcgcg tottcgtgga caagcgacac 420
cagttcattt gtgccgagca tgatggacac aattcaaccg tgtctaccgg acacaacatc 480
tccgcattat atgcggcata ttaccaccac caaatagacg ggggcaattg gttccatttg 540
gaatggctgc ggccactctt ttcttcttg ctggtgtcga acatatcatg gtttctgagg 600
cgttcgcctg taagccctgt ttctcgacgc atctatcaga tattaagacc aacacgaccg 660
cggctgcggg tttcatggtc cttcaggaca tcaattgttt ccgacctcac ggggtctcag 720
cagcgcaaga gaaaatttcc ttcggaaggt cgtcccaatg tcgtgaagcc gtcggtactc 780
cccagtacat cagcataa 798
```

<210> 8

<211> 552

<212> DNA

<213> PRRS virus

<400> 8

```

atggetgcgg ccactctttt cttcctgggt ggtgetcaac atatcatggt ttctgaggcg 60
ttcgctgtga agccctgttt ctgcacgcat ctatcagata ttaagaccaa cacgaccgcg 120
gctgcccgggt tcatgggtcct tcaggacatc aattgtttcc gacctcacgg ggtctcagca 180
gcgcaagaga aaatttcctt cggaaagtcg tccaatgtc gtgaagccgt cgggtactccc 240
cagtacatca cgataacggc taacgtgacc gacgaatcat acttgtacaa cgcggacctg 300
ctgatgcttt ctgcgtgcct tttctacgcc tcagaaatga gcgagaaagg cttcaaagtc 360
atctttggga atgtctctgg cgttgtttct gcttgtgtca atttcacaga ttatgtggcc 420
catgtgaccc aacataacca gcagcatcat ctggtagttg atcacattcg gttgctgcat 480
ttcctgacac catctgcaat gaggtgggct acaaccattg cttgtttgct cgcoattctc 540
ttggcnatat ga 552

```

<210> 9

<211> 606

<212> DNA

<213> PRRS virus

<400> 9

```

atgagatggt ctcacaaatt ggggcgttcc ttgactccgc actcttgctt ctgggtggctt 60
tttttgctgt gtaccggctt gtccctgggtc ttgcccgatg gcaacggcga cagctcgaca 120
taccaataca tatatgactt gacgatatgc gagctgaatg ggaccgactg gttgtccagc 180
cattttgggtt gggcagtcga gacctttgtg ttttaaccgg ttgccactca tatcctctca 240
ctgggttttc tcacaacaag ccattttttt gacgcgctcg gtctcggcgc tgtatccact 300
gcaggatttg ttggcgggcg gtaactactc tgcagcgtct acggcgcttg tgctttcgca 360
gcgttcgtat gttttgtcat ccgtgctgct aaaaattgca tggcctgccg ctatgcccg 420
accgggttta ccaacttcat tgtggacgac cgggggagag ttcacgatg gaagtctcca 480
atagtggtag aaaaattggg caaagccgaa gtcgatggca acctcgtcac catcaaacad 540
gtcgtcctcg aaggggttaa agctcaaccc ttgacgagga cttcggctga gcaatgggag 600
gcctag 606

```

<210> 10

<211> 2396

<212> PRT

<213> PRRS virus

<400> 10

```

Met Ser Gly Thr Phe Ser Arg Cys Met Cys Thr Pro Ala Ala Arg Val
 1          5          10          15

Phe Trp Asn Ala Gly Gln Val Phe Cys Thr Arg Cys Leu Ser Ala Arg
          20          25          30

Ser Leu Leu Ser Pro Glu Leu Gln Asp Thr Asp Leu Gly Ala Val Gly
          35          40          45

Leu Phe Tyr Lys Pro Arg Asp Lys Leu His Trp Lys Val Pro Ile Gly
          50          55          60

Ile Pro Gln Val Glu Cys Thr Pro Ser Gly Cys Cys Trp Leu Ser Ala
          65          70          75          80

Val Phe Pro Leu Ala Arg Met Thr Ser Gly Asn His Asn Phe Leu Gln
          85          90          95

```

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

385		390		395		400
Lys Asp Ser Ala	Pro Thr Pro Lys Val Ala Leu Pro Val	Pro Thr Cys				
	405	410			415	
Gly Ile Thr Thr	Tyr Ser Pro Pro Thr Asp Gly Ser Cys Gly Trp His					
	420	425			430	
Val Leu Ala Ala	Ile Met Asn Arg Met Ile Asn Gly Asp Phe Thr Ser					
	435	440			445	
Pro Leu Thr Gln	Tyr Asn Arg Pro Glu Asp Asp Trp Ala Ser Asp Tyr					
	450	455			460	
Asp Leu Val Gln	Ala Ile Gln Cys Leu Gln Leu Pro Ala Thr Val Val					
465	470	475			480	
Arg Asn Arg Ala	Cys Pro Asn Ala Lys Tyr Leu Ile Lys Leu Asn Gly					
	485	490			495	
Val His Trp Glu	Val Glu Val Arg Ser Gly Met Ala Pro Arg Ser Leu					
	500	505			510	
Pro Arg Glu Cys	Val Val Gly Val Cys Ser Glu Gly Cys Val Ala Pro					
	515	520			525	
Pro Tyr Pro Ala	Asp Gly Leu Pro Lys Arg Ala Leu Glu Ala Leu Ala					
	530	535			540	
Ser Ala Tyr Arg	Leu Pro Ser Asp Cys Val Ser Ser Gly Ile Ala Asp					
545	550	555			560	
Phe Leu Ala Asn	Pro Pro Gln Glu Phe Trp Thr Leu Asp Lys Met					
	565	570			575	
Leu Thr Ser Pro	Ser Pro Glu Arg Ser Gly Phe Ser Ser Leu Tyr Lys					
	580	585			590	
Leu Leu Leu Glu	Val Val Pro Gln Lys Cys Gly Ala Thr Glu Gly Ala					
	595	600			605	
Phe Ile Tyr Ala	Val Glu Arg Met Leu Lys Asp Cys Pro Ser Ser Lys					
	610	615			620	
Gln Ala Met Ala	Leu Leu Ala Lys Ile Lys Val Pro Ser Ser Lys Ala					
625	630	635			640	
Pro Ser Val Ser	Leu Asp Gly Cys Phe Pro Thr Asp Val Pro Ala Asp					
	645	650			655	
Phe Glu Pro Ala	Ser Pro Glu Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa					
	660	665			670	
Xaa Xaa Xaa Xaa	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa					
	675	680			685	

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa	690	695	700
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa	705	710	715 720
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa	725	730	735
Xaa Xaa Xaa Ala Gly Leu Ile Asn Leu Val Gly Gly Asn Leu Ser Pro	740	745	750
Ser Asp Ser Met Lys Glu Asn Met Leu Asn Ser Arg Glu Asp Glu Pro	755	760	765
Leu Asp Leu Ser Gln Pro Ala Pro Ala Ala Thr Thr Thr Leu Val Arg	770	775	780
Glu Gln Thr Pro Asp Asn Pro Gly Ser Asp Ala Gly Ala Leu Pro Val	785	790	795 800
Thr Val Arg Glu Phe Val Pro Thr Gly Pro Ile Leu Arg His Val Glu	805	810	815
His Cys Gly Thr Glu Ser Gly Asp Ser Ser Ser Pro Leu Asp Gln Ser	820	825	830
Asp Ala Gln Thr Leu Asp Gln Pro Leu Asn Leu Ser Leu Ala Ala Trp	835	840	845
Pro Val Arg Ala Thr Ala Ser Asp Pro Gly Trp Val His Gly Arg Arg	850	855	860
Glu Pro Val Phe Val Lys Pro Arg Asn Ala Phe Ser Asp Gly Asp Ser	865	870	875 880
Ala Leu Gln Phe Gly Glu Leu Ser Glu Ser Ser Pro Val Ile Glu Phe	885	890	895
Asp Arg Thr Lys Asp Ala Pro Val Val Asp Ala Pro Val Asp Leu Thr	900	905	910
Thr Ser Asn Glu Ala Leu Ser Val Val Asp Pro Phe Glu Phe Ala Glu	915	920	925
Leu Lys Arg Pro Arg Phe Ser Ala Gln Ala Leu Ile Asp Arg Gly Gly	930	935	940
Pro Leu Ala Asp Val His Ala Lys Ile Lys Asn Arg Val Tyr Glu Gln	945	950	955 960
Cys Leu Gln Ala Cys Glu Pro Gly Ser Arg Ala Thr Pro Ala Thr Arg	965	970	975
Glu Trp Leu Asp Lys Met Trp Asp Arg Val Asp Met Lys Thr Trp Arg	980	985	990

Cys Thr Ser Gln Phe Gln Ala Gly Arg Ile Leu Ala Ser Leu Lys Phe
 995 1000 1005
 Leu Pro Asp Met Ile Gln Asp Thr Pro Pro Pro Val Pro Arg Lys Asn
 1010 1015 1020
 Arg Ala Ser Asp Asn Ala Gly Leu Lys Gln Pro Val Ala Gln Trp Asp
 1025 1030 1035 1040
 Arg Lys Leu Ser Val Thr Pro Pro Pro Lys Pro Val Gly Pro Val Leu
 1045 1050 1055
 Asp Gln Thr Val Pro Pro Pro Thr Asp Ile Gln Gln Glu Asp Val Thr
 1060 1065 1070
 Pro Ser Asp Gly Pro Pro His Ala Pro Asp Phe Pro Ser Arg Val Ser
 1075 1080 1085
 Thr Gly Gly Ser Trp Lys Gly Leu Met Leu Ser Gly Thr Arg Leu Ala
 1090 1095 1100
 Gly Ser Ile Ser Gln Arg Leu Met Thr Trp Val Phe Glu Val Phe Ser
 1105 1110 1115 1120
 His Leu Pro Ala Phe Met Leu Thr Leu Phe Ser Pro Arg Gly Ser Met
 1125 1130 1135
 Ala Pro Gly Asp Trp Leu Phe Ala Gly Val Val Leu Leu Ala Leu Leu
 1140 1145 1150
 Leu Cys Arg Ser Tyr Pro Ile Leu Gly Cys Leu Pro Leu Leu Gly Val
 1155 1160 1165
 Phe Ser Gly Ser Leu Arg Arg Val Arg Leu Gly Val Phe Gly Ser Trp
 1170 1175 1180
 Met Ala Phe Ala Val Phe Leu Phe Ser Thr Pro Ser Asn Pro Val Gly
 1185 1190 1195 1200
 Ser Ser Cys Asp His Asp Ser Pro Glu Cys His Ala Glu Leu Leu Ala
 1205 1210 1215
 Leu Glu Gln Arg Gln Leu Trp Glu Pro Val Arg Gly Leu Val Val Gly
 1220 1225 1230
 Pro Ser Gly Leu Leu Cys Val Ile Leu Gly Lys Leu Leu Gly Gly Ser
 1235 1240 1245
 Arg Tyr Leu Trp His Val Phe Leu Arg Leu Cys Met Leu Ala Asp Leu
 1250 1255 1260
 Ala Leu Ser Leu Val Tyr Val Val Ser Gln Gly Arg Cys His Lys Cys
 1265 1270 1275 1280
 Trp Gly Lys Cys Ile Arg Thr Ala Pro Ala Glu Val Ala Leu Asn Val

1285	1290	1295
Phe Pro Phe Leu Arg Ala Thr Arg Ala Ser Leu Val Ser Leu Cys Asp 1300 1305 1310		
Arg Phe Gln Thr Pro Lys Gly Val Asp Pro Val His Leu Ala Thr Gly 1315 1320 1325		
Trp Arg Gly Cys Trp Arg Gly Glu Ser Pro Ile His Gln Pro His Gln 1330 1335 1340		
Lys Pro Ile Ala Tyr Ala Asn Leu Asp Glu Lys Lys Ile Ser Ala Gln 1345 1350 1355 1360		
Thr Val Val Ala Val Pro Tyr Asp Pro Ser Gln Ala Val Lys Cys Leu 1365 1370 1375		
Lys Val Leu Gln Ala Gly Gly Ala Ile Val Asp Gln Pro Thr Pro Glu 1380 1385 1390		
Val Val Arg Val Ser Glu Ile Pro Phe Ser Ala Pro Phe Phe Pro Lys 1395 1400 1405		
Val Pro Val Asn Pro Asp Cys Arg Val Val Val Asp Ser Asp Thr Phe 1410 1415 1420		
Val Ala Ala Val Arg Cys Gly Tyr Ser Thr Ala Gln Leu Val Leu Gly 1425 1430 1435 1440		
Arg Gly Asn Phe Ala Lys Leu Asn Gln Thr Pro Pro Arg Asn Ser Ile 1445 1450 1455		
Ser Thr Lys Thr Thr Gly Gly Ala Ser Tyr Thr Leu Ala Val Ala Gln 1460 1465 1470		
Val Ser Ala Trp Thr Leu Val His Phe Ile Leu Gly Leu Trp Phe Thr 1475 1480 1485		
Ser Pro Gln Val Cys Gly Arg Gly Thr Ala Asp Pro Trp Cys Ser Asn 1490 1495 1500		
Pro Phe Ser Tyr Pro Thr Tyr Gly Pro Gly Val Val Cys Ser Ser Arg 1505 1510 1515 1520		
Leu Cys Val Ser Ala Asp Gly Val Thr Leu Pro Leu Phe Ser Ala Val 1525 1530 1535		
Ala Gln Leu Ser Gly Arg Glu Val Gly Ile Phe Ile Leu Val Leu Val 1540 1545 1550		
Ser Leu Thr Ala Leu Ala His Arg Met Ala Leu Lys Ala Asp Met Leu 1555 1560 1565		
Val Ile Phe Ser Ala Phe Cys Ala Tyr Ala Trp Pro Met Ser Ser Trp 1570 1575 1580		

Leu Ile Cys Phe Phe Pro Ile Leu Leu Lys Trp Val Thr Leu His Pro
1585 1590 1595 1600

Leu Thr Met Leu Trp Val His Ser Phe Leu Val Phe Cys Leu Pro Ala
1605 1610 1615

Ala Gly Ile Leu Ser Leu Gly Ile Thr Gly Leu Leu Trp Ala Ile Gly
1620 1625 1630

Arg Phe Thr Gln Val Ala Gly Ile Ile Thr Pro Tyr Asp Ile His Gln
1635 1640 1645

Tyr Thr Ser Gly Pro Arg Gly Ala Ala Ala Val Ala Thr Ala Pro Glu
1650 1655 1660

Gly Thr Tyr Met Ala Ala Val Arg Arg Ala Ala Leu Thr Gly Arg Thr-
1665 1670 1675 1680

Leu Ile Phe Thr Pro Ser Ala Val Gly Ser Leu Leu Glu Gly Ala Phe
1685 1690 1695

Arg Thr His Lys Pro Cys Leu Asn Thr Val Asn Val Val Gly Ser Ser
1700 1705 1710

Leu Gly Ser Gly Gly Val Phe Thr Ile Asp Gly Arg Arg Thr Val Val
1715 1720 1725

Thr Ala Ala His Val Leu Asn Gly Asp Thr Ala Arg Val Thr Gly Asp
1730 1735 1740

Ser Tyr Asn Arg Met His Thr Phe Lys Thr Asn Gly Asp Tyr Ala Trp
1745 1750 1755 1760

Ser His Ala Asp Asp Trp Gln Gly Val Ala Pro Val Val Lys Val Ala
1765 1770 1775

Lys Gly Tyr Arg Gly Arg Ala Tyr Trp Gln Thr Ser Thr Gly Val Glu
1780 1785 1790

Pro Gly Ile Ile Gly Glu Gly Phe Ala Phe Cys Phe Thr Asn Cys Gly
1795 1800 1805

Asp Ser Gly Ser Pro Val Ile Ser Glu Ser Gly Asp Leu Ile Gly Ile
1810 1815 1820

His Thr Gly Ser Asn Lys Leu Gly Ser Gly Leu Val Thr Thr Pro Glu
1825 1830 1835 1840

Gly Glu Thr Cys Thr Ile Lys Glu Thr Lys Leu Ser Asp Leu Ser Arg
1845 1850 1855

His Phe Ala Gly Pro Ser Val Pro Leu Gly Asp Ile Lys Leu Ser Pro
1860 1865 1870

Ala Ile Ile Pro Asp Val Thr Ser Ile Pro Ser Asp Leu Ala Ser Leu
1875 1880 1885

Leu Ala Ser Val Pro Val Val Glu Gly Gly Leu Ser Thr Val Gln Leu
 1890 1895 1900
 Leu Cys Val Phe Phe Leu Leu Trp Arg Met Met Gly His Ala Trp Thr
 1905 1910 1915 1920
 Pro Ile Val Ala Val Gly Phe Phe Leu Leu Asn Glu Ile Leu Pro Ala
 1925 1930 1935
 Val Leu Val Arg Ala Val Phe Ser Phe Ala Leu Phe Val Leu Ala Trp
 1940 1945 1950
 Ala Thr Pro Trp Ser Ala Gln Val Leu Met Ile Arg Leu Leu Thr Ala
 1955 1960 1965
 Ser Leu Asn Arg Asn Lys Leu Ser Leu Ala Phe Tyr Ala Leu Gly Gly
 1970 1975 1980
 Val Val Gly Leu Ala Ala Glu Ile Gly Thr Phe Ala Gly Arg Leu Ser
 1985 1990 1995 2000
 Glu Leu Ser Gln Ala Leu Ser Thr Tyr Cys Phe Leu Pro Arg Val Leu
 2005 2010 2015
 Ala Met Thr Ser Cys Val Pro Thr Ile Ile Ile Gly Gly Leu His Thr
 2020 2025 2030
 Leu Gly Val Ile Leu Trp Leu Phe Lys Tyr Arg Cys Leu His Asn Met
 2035 2040 2045
 Leu Val Gly Asp Gly Ser Phe Ser Ser Ala Phe Phe Leu Arg Tyr Phe
 2050 2055 2060
 Ala Glu Gly Asn Leu Arg Lys Gly Val Ser Gln Ser Cys Gly Met Asn
 2065 2070 2075 2080
 Asn Glu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ala Cys Lys Leu Ser Gln Ala Asp
 2085 2090 2095
 Leu Asp Phe Leu Ser Ser Leu Thr Asn Phe Lys Cys Phe Val Ser Ala
 2100 2105 2110
 Ser Asn Met Lys Asn Ala Ala Gly Gln Tyr Ile Glu Ala Ala Tyr Ala
 2115 2120 2125
 Lys Ala Leu Arg Gln Glu Leu Ala Ser Leu Val Gln Ile Asp Lys Met
 2130 2135 2140
 Lys Gly Val Leu Ser Lys Leu Glu Ala Phe Ala Glu Thr Ala Thr Pro
 2145 2150 2155 2160
 Ser Leu Asp Ile Gly Asp Val Ile Val Leu Leu Gly Gln His Pro His
 2165 2170 2175
 Gly Ser Ile Leu Asp Ile Asn Val Gly Thr Glu Arg Lys Thr Val Ser

2180	2185	2190
Val Gln Glu Thr Arg Ser Leu Gly Gly Ser Lys Phe Ser Val Cys Thr		
2195	2200	2205
Val Val Ser Asn Thr Pro Val Asp Ala Leu Thr Gly Ile Pro Leu Gln		
2210	2215	2220
Thr Pro Thr Pro Leu Phe Glu Asn Gly Pro Arg His Arg Ser Glu Glu		
2225	2230	2235
Asp Asp Leu Lys Val Glu Arg Met Lys Lys His Cys Val Ser Leu Gly		
2245	2250	2255
Phe His Asn Ile Asn Gly Lys Val Tyr Cys Lys Ile Trp Asp Lys Ser		
2260	2265	2270
Thr Gly Asp Thr Phe Tyr Thr Asp Asp Ser Arg Tyr Thr Gln Asp His		
2275	2280	2285
Ala Phe Gln Asp Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asp Arg Asp Tyr Glu Gly		
2290	2295	2300
Val Gln Thr Ala Pro Gln Gln Gly Phe Asp Pro Lys Ser Glu Thr Pro		
2305	2310	2315
Val Gly Thr Val Val Ile Gly Gly Ile Thr Tyr Asn Arg Tyr Leu Ile		
2325	2330	2335
Lys Gly Lys Glu Val Leu Val Pro Lys Pro Asp Asn Cys Leu Glu Ala		
2340	2345	2350
Ala Lys Leu Ser Leu Glu Gln Ala Leu Ala Gly Met Gly Gln Thr Cys		
2355	2360	2365
Asp Leu Thr Ala Ala Glu Val Glu Lys Leu Lys Arg Ile Ile Ser Gln		
2370	2375	2380
Leu Gln Gly Leu Thr Thr Glu Gln Ala Leu Asn Cys		
2385	2390	2395

<210> 11
 <211> 1463
 <212> PRT
 <213> PRRS virus

<400> 11

Thr Gly Phe Lys Leu Leu Ala Ala Ser Gly Leu Thr Arg Cys Gly Arg
1 5 10 15
Gly Gly Leu Val Val Thr Glu Thr Ala Val Lys Ile Ile Lys Tyr His
20 25 30
Ser Arg Thr Phe Thr Leu Gly Pro Leu Asp Leu Lys Val Thr Ser Glu
35 40 45

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

	340		345		350										
Leu	Ala	His	Arg	Ser	Ala	Leu	Ser	Gly	Val	Thr	Gln	Ala	Phe	Met	Lys
	355						360					365			
Lys	Ala	Trp	Lys	Ser	Pro	Ile	Ala	Leu	Gly	Lys	Asn	Lys	Phe	Lys	Glu
	370					375					380				
Leu	His	Cys	Thr	Val	Ala	Gly	Arg	Cys	Leu	Glu	Ala	Asp	Leu	Ala	Ser
385					390					395					400
Cys	Asp	Arg	Ser	Thr	Pro	Ala	Ile	Val	Arg	Trp	Phe	Val	Ala	Asn	Leu
				405					410					415	
Leu	Tyr	Glu	Leu	Ala	Gly	Cys	Glu	Glu	Tyr	Leu	Pro	Ser	Tyr	Val	Leu
			420					425						430	
Asn	Cys	Cys	His	Asp	Leu	Val	Ala	Thr	Gln	Asp	Gly	Ala	Phe	Thr	Lys
		435					440					445			
Arg	Gly	Gly	Leu	Ser	Ser	Gly	Asp	Pro	Val	Thr	Ser	Val	Ser	Asn	Thr
	450					455						460			
Val	Tyr	Ser	Leu	Val	Ile	Tyr	Ala	Gln	His	Met	Val	Leu	Ser	Ala	Leu
465					470					475					480
Lys	Met	Gly	His	Glu	Ile	Gly	Leu	Lys	Phe	Leu	Glu	Glu	Gln	Leu	Lys
				485					490					495	
Phe	Glu	Asp	Leu	Leu	Glu	Ile	Gln	Pro	Met	Leu	Val	Tyr	Ser	Asp	Asp
			500					505						510	
Leu	Val	Leu	Tyr	Ala	Glu	Arg	Pro	Thr	Phe	Pro	Asn	Tyr	His	Trp	Trp
	515						520							525	
Val	Glu	His	Leu	Asp	Leu	Met	Leu	Gly	Phe	Arg	Thr	Asp	Pro	Lys	Lys
	530					535						540			
Thr	Val	Ile	Thr	Asp	Lys	Pro	Ser	Phe	Leu	Gly	Cys	Arg	Ile	Glu	Ala
545					550					555					560
Gly	Arg	Gln	Leu	Val	Pro	Asn	Arg	Asp	Arg	Ile	Leu	Ala	Ala	Leu	Ala
				565					570					575	
Tyr	His	Met	Lys	Ala	Gln	Asn	Ala	Ser	Glu	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Ala	Ala
			580					585						590	
Ala	Ile	Leu	Met	Asp	Ser	Cys	Ala	Cys	Ile	Asp	His	Asp	Pro	Glu	Trp
	595						600						605		
Tyr	Glu	Asp	Leu	Ile	Cys	Gly	Ile	Ala	Arg	Cys	Ala	Arg	Gln	Asp	Gly
	610					615					620				
Tyr	Ser	Phe	Pro	Gly	Pro	Ala	Phe	Phe	Met	Ser	Met	Trp	Glu	Lys	Leu
625					630					635					640

Arg	Ser	His	Asn	Glu	Gly	Lys	Lys	Phe	Arg	His	Cys	Gly	Ile	Cys	Asp	
				645					650					655		
Ala	Lys	Ala	Asp	Tyr	Ala	Ser	Ala	Cys	Gly	Leu	Asp	Leu	Cys	Leu	Phe	
			660					665					670			
His	Ser	His	Phe	His	Gln	His	Cys	Pro	Val	Thr	Leu	Ser	Cys	Gly	His	
		675					680					685				
His	Ala	Gly	Ser	Lys	Glu	Cys	Ser	Gln	Cys	Gln	Ser	Pro	Val	Gly	Ala	
	690					695					700					
Gly	Arg	Ser	Pro	Leu	Asp	Ala	Val	Leu	Lys	Gln	Ile	Pro	Tyr	Lys	Pro	
705					710					715					720	
Pro	Arg	Thr	Val	Ile	Met	Lys	Val	Gly	Asn	Lys	Thr	Thr	Ala	Leu	Asp	
				725					730					735		
Pro	Gly	Arg	Tyr	Gln	Ser	Arg	Arg	Gly	Leu	Val	Ala	Val	Lys	Arg	Gly	
			740					745					750			
Ile	Ala	Gly	Asn	Glu	Val	Asp	Leu	Ser	Asp	Gly	Asp	Tyr	Gln	Val	Val	
		755					760					765				
Pro	Leu	Leu	Pro	Thr	Cys	Lys	Asp	Ile	Asn	Met	Val	Lys	Val	Ala	Cys	
	770					775					780					
Asn	Val	Leu	Leu	Ser	Lys	Phe	Ile	Val	Gly	Pro	Pro	Gly	Ser	Gly	Lys	
785					790					795					800	
Thr	Thr	Trp	Leu	Leu	Ser	Gln	Val	Gln	Asp	Asp	Asp	Val	Ile	Tyr	Thr	
				805					810					815		
Pro	Thr	His	Gln	Thr	Met	Phe	Asp	Ile	Val	Ser	Ala	Leu	Lys	Val	Cys	
			820					825					830			
Arg	Tyr	Ser	Val	Pro	Gly	Ala	Ser	Gly	Leu	Pro	Phe	Pro	Pro	Pro	Ala	
		835					840					845				
Arg	Ser	Gly	Pro	Trp	Val	Arg	Leu	Ile	Ala	Ser	Gly	His	Val	Pro	Gly	
	850					855					860					
Arg	Val	Ser	Tyr	Leu	Asp	Glu	Ala	Gly	Tyr	Cys	Asn	His	Leu	Asp	Ile	
865					870					875					880	
Leu	Arg	Leu	Leu	Ser	Lys	Thr	Pro	Leu	Val	Cys	Leu	Gly	Asp	Leu	Gln	
				885					890					895		
Gln	Leu	His	Pro	Val	Gly	Phe	Asp	Ser	Xaa	Cys	Tyr	Val	Phe	Asp	Gln	
			900					905					910			
Met	Pro	Gln	Lys	Gln	Leu	Thr	Thr	Ile	Tyr	Arg	Phe	Gly	Pro	Asn	Ile	
		915					920					925				
Cys	Ala	Ala	Ile	Gln	Pro	Cys	Tyr	Arg	Glu	Lys	Leu	Glu	Ser	Lys	Ala	
	930					935					940					

Arg	Asn	Thr	Arg	Val	Val	Phe	Thr	Thr	Arg	Pro	Val	Ala	Phe	Gly	Gln
945					950					955					960
Val	Leu	Thr	Pro	Tyr	His	Lys	Asp	Arg	Ile	Gly	Ser	Ala	Ile	Thr	Ile
				965					970					975	
Asp	Ser	Ser	Gln	Gly	Ala	Thr	Phe	Asp	Ile	Val	Thr	Leu	His	Leu	Pro
			980					985					990		
Ser	Pro	Lys	Ser	Leu	Asn	Lys	Ser	Arg	Ala	Leu	Val	Ala	Ile	Thr	Arg
		995					1000					1005			
Ala	Arg	His	Gly	Leu	Phe	Ile	Tyr	Asp	Pro	His	Asn	Gln	Leu	Gln	Glu
1010						1015						1020			
Phe	Phe	Asn	Leu	Thr	Pro	Glu	Arg	Thr	Asp	Cys	Asn	Leu	Val	Phe	Ser
1025					1030					1035					1040
Cys	Gly	Asp	Glu	Leu	Val	Val	Leu	Asn	Ala	Asp	Asn	Ala	Val	Thr	Thr
			1045						1050					1055	
Val	Ala	Lys	Ala	Leu	Glu	Thr	Gly	Pro	Ser	Arg	Phe	Arg	Val	Ser	Asp
			1060					1065					1070		
Pro	Arg	Cys	Lys	Ser	Leu	Leu	Ala	Ala	Cys	Ser	Ala	Ser	Leu	Glu	Gly
		1075					1080					1085			
Ser	Cys	Met	Pro	Leu	Pro	Gln	Val	Ala	His	Asn	Leu	Gly	Phe	Tyr	Phe
		1090				1095					1100				
Ser	Pro	Asp	Ser	Pro	Val	Phe	Ala	Pro	Leu	Pro	Lys	Glu	Leu	Ala	Pro
1105				1110						1115					1120
His	Trp	Pro	Val	Val	Thr	His	Gln	Asn	Asn	Arg	Ala	Trp	Pro	Asp	Arg
			1125					1130						1135	
Leu	Val	Ala	Ser	Met	Arg	Pro	Ile	Asp	Ala	Arg	Tyr	Ser	Lys	Pro	Met
			1140					1145					1150		
Val	Gly	Ala	Gly	Tyr	Val	Val	Gly	Pro	Ser	Thr	Phe	Leu	Gly	Thr	Pro
	1155						1160					1165			
Gly	Val	Val	Ser	Tyr	Tyr	Leu	Thr	Leu	Tyr	Ile	Arg	Gly	Glu	Pro	Gln
	1170					1175					1180				
Ala	Leu	Pro	Glu	Thr	Leu	Val	Ser	Thr	Gly	Arg	Ile	Ala	Thr	Asp	Cys
1185				1190						1195					1200
Arg	Glu	Tyr	Leu	Asp	Ala	Ala	Glu	Glu	Glu	Ala	Ala	Lys	Glu	Leu	Pro
			1205					1210					1215		
His	Ala	Phe	Ile	Gly	Asp	Val	Lys	Gly	Thr	Thr	Val	Gly	Gly	Cys	His
			1220					1225					1230		
His	Ile	Thr	Ser	Lys	Tyr	Leu	Pro	Arg	Ser	Leu	Pro	Lys	Asp	Ser	Val

1235	1240	1245
Ala Val Val Gly Val Ser Ser Pro Gly Arg Ala Ala Lys Ala Val Cys		
1250	1255	1260
Thr Leu Thr Asp Val Tyr Leu Pro Glu Leu Arg Pro Tyr Leu Gln Pro		
1265	1270	1275 1280
Glu Thr Ala Ser Lys Cys Trp Lys Leu Lys Leu Asp Phe Arg Asp Val		
1285	1290	1295
Arg Leu Met Val Trp Lys Gly Ala Thr Ala Tyr Phe Gln Leu Glu Gly		
1300	1305	1310
Leu Thr Trp Ser Ala Leu Pro Asp Tyr Ala Arg Phe Ile Gln Leu Pro		
1315	1320	1325
Lys Asp Ala Val Val Tyr Ile Asp Pro Cys Ile Gly Pro Ala Thr Ala		
1330	1335	1340
Asn Arg Lys Val Val Arg Thr Thr Asp Trp Arg Ala Asp Leu Ala Val		
1345	1350	1355 1360
Thr Pro Tyr Asp Tyr Gly Ala Gln Asn Ile Leu Thr Thr Ala Trp Phe		
1365	1370	1375
Glu Asp Leu Gly Pro Gln Trp Lys Ile Leu Gly Leu Gln Pro Phe Arg		
1380	1385	1390
Arg Ala Phe Gly Phe Glu Asn Thr Glu Asp Trp Ala Ile Leu Ala Arg		
1395	1400	1405
Arg Met Asn Asp Gly Lys Asp Tyr Thr Asp Tyr Asn Trp Asn Cys Val		
1410	1415	1420
Arg Glu Arg Pro His Ala Ile Tyr Gly Arg Ala Arg Asp His Thr Tyr		
1425	1430	1435 1440
His Phe Ala Pro Gly Thr Glu Leu Gln Val Glu Leu Gly Lys Pro Arg		
1445	1450	1455
Leu Pro Pro Gly Gln Val Pro		
1460		

<210> 12

<211> 249

<212> PRT

<213> PRRS virus

<400> 12

Met	Gln	Trp	Gly	Tyr	Cys	Gly	Val	Lys	Ser	Ala	Ser	Cys	Ser	Trp	Thr
1				5					10					15	
Pro	Ser	Leu	Ser	Ser	Leu	Leu	Val	Trp	Leu	Ile	Leu	Leu	Phe	Ser	Leu
			20					25					30		

- 51 -

Pro Tyr Cys Leu Gly Ser Pro Ser Gln Asp Gly Tyr Trp Ser Ser Phe
35 40 45

Ser Glu Trp Phe Ala Pro Arg Phe Ser Val Arg Ala Leu Pro Phe Thr
50 55 60

Leu Pro Asn Tyr Arg Arg Ser Tyr Glu Gly Leu Leu Pro Asn Cys Arg
65 70 75 80

Pro Asp Val Pro Gln Phe Ala Phe Lys His Pro Leu Gly Met Leu Trp
85 90 95

His Met Arg Val Ser Gln Leu Ile Asp Glu Met Val Ser Arg Arg Ile
100 105 110

Tyr Gln Thr Met Glu His Ser Gly Gln Ala Ala Trp Lys Gln Ala Val
115 120 125

Gly Glu Ala Thr Leu Thr Lys Leu Ser Arg Leu Asp Ile Val Thr His
130 135 140

Phe Gln His Leu Ala Ala Val Glu Ala Asp Ser Cys Arg Phe Leu Ser
145 150 155 160

Ser Arg Leu Val Met Leu Lys Asn Leu Ala Val Gly Asn Val Ser Leu
165 170 175

Gln Tyr Asn Thr Thr Leu Asp Arg Val Glu Leu Ile Phe Pro Thr Pro
180 185 190

Gly Thr Arg Pro Lys Leu Thr Asp Phe Arg Gln Trp Leu Ile Ser Val
195 200 205

His Ala Ser Ile Phe Ser Ser Val Ala Ser Ser Val Thr Leu Phe Ile
210 215 220

Val Leu Trp Leu Arg Ile Pro Ala Leu Arg Tyr Val Phe Gly Phe His
225 230 235 240

Trp Pro Thr Ala Thr His His Ser Ser
245

<210> 13

<211> 265

<212> PRT

<213> PRRS virus

<400> 13

Met Ala His Gln Cys Ala Arg Phe His Phe Phe Leu Cys Gly Phe Ile
1 5 10 15

Cys Tyr Leu Val His Ser Ala Leu Ala Ser Asn Ser Ser Ser Thr Leu
20 25 30

- 52 -

Cys Phe Trp Phe Pro Leu Ala His Gly Asn Thr Ser Phe Glu Leu Thr
35 40 45

Ile Asn Tyr Thr Ile Cys Met Pro Cys Ser Thr Ser Gln Ala Ala Arg
50 55 60

Gln Arg Leu Glu Pro Gly Arg Asn Met Trp Cys Lys Ile Gly Tyr Asp
65 70 75 80

Arg Cys Glu Glu Arg Asp His Asp Glu Leu Leu Met Pro Ile Pro Ser
85 90 95

Gly Tyr Asp Asn Leu Lys Leu Glu Gly Tyr Tyr Ala Trp Leu Ala Phe
100 105 110

Leu Ser Phe Ser Tyr Ala Ala Gln Phe His Pro Glu Leu Phe Gly Ile
115 120 125

Gly Asn Val Ser Arg Val Phe Val Asp Lys Arg His Gln Phe Ile Cys
130 135 140

Ala Glu His Asp Gly Gln Asn Ser Thr Val Ser Thr Gly His Asn Ile
145 150 155 160

Ser Ala Leu Tyr Ala Ala Tyr Tyr His His Gln Ile Asp Gly Gly Asn
165 170 175

Trp Phe His Leu Glu Trp Leu Arg Pro Leu Phe Ser Ser Trp Leu Val
180 185 190

Leu Asn Ile Ser Trp Phe Leu Arg Arg Ser Pro Val Ser Pro Val Ser
195 200 205

Arg Arg Ile Tyr Gln Ile Leu Arg Pro Thr Arg Pro Arg Leu Pro Val
210 215 220

Ser Trp Ser Phe Arg Thr Ser Ile Val Ser Asp Leu Thr Gly Ser Gln
225 230 235 240

Gln Arg Lys Arg Lys Phe Pro Ser Glu Ser Arg Pro Asn Val Val Lys
245 250 255

Pro Ser Val Leu Pro Ser Thr Ser Arg
260 265

<210> 14

<211> 183

<212> PRT

<213> PRRS virus

<400> 14

Met Ala Ala Ala Thr Leu Phe Leu Leu Ala Gly Ala Gln Tyr Ile Met
1 5 10 15

Val Ser Glu Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Thr His Leu Ser
20 25 30

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

<210> 15

<211> 201

<212> PRT

<213> PRRS virus

<400> 15

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

Ala	Val	Ser	Thr	Ala	Gly	Phe	Val	Gly	Gly	Arg	Tyr	Val	Leu	Cys	Ser
			100					105					110		
Val	Tyr	Gly	Ala	Cys	Ala	Phe	Ala	Ala	Phe	Val	Cys	Phe	Val	Ile	Arg
		115					120					125			
Ala	Ala	Lys	Asn	Cys	Met	Ala	Cys	Arg	Tyr	Ala	Arg	Thr	Arg	Phe	Thr
		130				135					140				
Asn	Phe	Ile	Val	Asp	Asn	Arg	Gly	Arg	Val	His	Arg	Trp	Lys	Ser	Pro
145					150					155					160
Ile	Val	Val	Glu	Lys	Leu	Gly	Lys	Ala	Glu	Val	Asp	Gly	Asn	Leu	Val
			165						170					175	
Thr	Ile	Lys	His	Val	Val	Leu	Glu	Gly	Val	Lys	Ala	Gln	Pro	Leu	Thr
			180					185					190		
Arg	Thr	Ser	Ala	Glu	Gln	Trp	Glu	Ala							
		195					200								

<210> 16

<211> 173

<212> PRT

<213> PRRS virus

<400> 16

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

Thr Leu Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Val Leu Gly Gly Lys Arg Ala
145 150 155 160

Val Lys Arg Gly Val Val Asn Leu Val Lys Tyr Gly Arg
165 170

<210> 17

<211> 128

<212> PRT

<213> PRRS virus

<400> 17

Met Ala Gly Lys Asn Gln Ser Gln Lys Lys Lys Lys Ser Thr Ala Pro
1 5 10 15

Met Gly Asn Gly Gln Pro Val Asn Gln Leu Cys Gln Leu Leu Gly Ala
20 25 30

Met Ile Lys Ser Gln Arg Gln Gln Pro Arg Gly Gly Gln Ala Lys Lys
35 40 45

Lys Lys Pro Glu Lys Pro His Phe Pro Leu Ala Ala Glu Asp Asp Ile
50 55 60

Arg His His Leu Thr Gln Thr Glu Arg Ser Leu Cys Leu Gln Ser Ile
65 70 75 80

Gln Thr Ala Phe Asn Gln Gly Ala Gly Thr Ala Ser Leu Ser Ser Ser
85 90 95

Gly Lys Val Ser Phe Gln Val Glu Phe Met Leu Pro Val Ala His Thr
100 105 110

Val Arg Leu Ile Arg Val Thr Ser Thr Ser Ala Ser Gln Gly Ala Ser
115 120 125

<210> 18

<211> 249

<212> PRT

<213> PRRS virus

<400> 18

Met Gln Trp Gly His Cys Gly Val Lys Ser Ala Ser Cys Ser Trp Thr
1 5 10 15

Pro Ser Leu Ser Ser Leu Leu Val Trp Leu Ile Leu Ser Phe Ser Leu
20 25 30

Pro Tyr Cys Leu Gly Ser Pro Ser Gln Asp Gly Tyr Trp Ser Ser Phe
35 40 45

Ser Glu Trp Phe Ala Pro Arg Phe Ser Val Arg Ala Leu Pro Phe Thr
50 55 60

- 56 -

Leu	Pro	Asn	Tyr	Arg	Arg	Ser	Tyr	Glu	Gly	Leu	Leu	Pro	Asn	Cys	Arg
65					70					75					80
Pro	Asp	Val	Pro	Gln	Phe	Ala	Phe	Lys	His	Pro	Leu	Gly	Met	Leu	Trp
				85					90					95	
His	Met	Arg	Val	Ser	His	Leu	Ile	Asp	Glu	Met	Val	Ser	Arg	Arg	Ile
			100					105					110		
Tyr	Gln	Thr	Met	Glu	His	Ser	Gly	Gln	Ala	Ala	Trp	Lys	Gln	Val	Val
		115					120					125			
Gly	Glu	Ala	Thr	Leu	Thr	Lys	Leu	Ser	Gly	Leu	Asp	Ile	Val	Thr	His
	130					135					140				
Phe	Gln	Xaa	Leu	Ala	Ala	Val	Glu	Ala	Asp	Ser	Cys	Arg	Phe	Leu	Ser
145					150					155					160
Ser	Arg	Leu	Val	Met	Leu	Lys	Asn	Leu	Ala	Val	Gly	Asn	Val	Ser	Leu
				165					170					175	
Gln	Tyr	Asn	Thr	Thr	Leu	Asp	Arg	Val	Glu	Leu	Ile	Phe	Pro	Thr	Pro
			180					185					190		
Gly	Thr	Arg	Pro	Lys	Leu	Thr	Asp	Phe	Arg	Gln	Trp	Leu	Ile	Ser	Val
		195					200					205			
His	Ala	Ser	Ile	Phe	Ser	Ser	Val	Ala	Ser	Ser	Val	Thr	Leu	Phe	Ile
	210					215					220				
Val	Leu	Trp	Leu	Arg	Ile	Pro	Ala	Leu	Arg	Tyr	Val	Phe	Gly	Phe	His
225					230					235					240
Trp	Pro	Thr	Ala	Thr	His	His	Ser	Ser							
				245											

<210> 19

<211> 265

<212> PRT

<213> PRRS virus

<400> 19

Met	Ala	His	Gln	Cys	Ala	Arg	Phe	His	Phe	Phe	Leu	Cys	Gly	Phe	Ile
1				5					10					15	
Cys	Tyr	Leu	Val	His	Ser	Ala	Leu	Ala	Ser	Asn	Ser	Ser	Ser	Thr	Leu
			20					25					30		
Cys	Phe	Trp	Phe	Pro	Leu	Ala	His	Gly	Asn	Thr	Ser	Phe	Glu	Leu	Thr
		35					40					45			
Ile	Asn	Tyr	Thr	Ile	Cys	Met	Pro	Cys	Ser	Thr	Ser	Gln	Ala	Ala	Arg
	50					55					60				

Gln Arg Leu Glu Pro Gly His Ser Met Trp Cys Lys Ile Gly His Asp
65 70 75 80

Arg Cys Glu Glu Arg Asp His Asp Glu Leu Leu Met Pro Ile Pro Ser
85 90 95

Gly Tyr Asp Asn Leu Lys Leu Glu Gly Tyr Tyr Ala Trp Leu Ala Phe
100 105 110

Ileu Ser Phe Ser Tyr Ala Ala Gln Phe His Pro Glu Leu Phe Gly Ile
115 120 125

Gly Asn Val Ser Arg Val Phe Val Asp Lys Arg His Gln Phe Ile Cys
130 135 140

Ala Glu His Asp Gly His Asn Ser Thr Val Ser Thr Gly His Asn Ile
145 150 155 160

Ser Ala Leu Tyr Ala Ala Tyr Tyr His His Gln Ile Asp Gly Gly Asn
165 170 175

Trp Phe His Leu Glu Trp Leu Arg Pro Leu Phe Ser Ser Trp Leu Val
180 185 190

Ileu Asn Ile Ser Trp Phe Leu Arg Arg Ser Pro Val Ser Pro Val Ser
195 200 205

Arg Arg Ile Tyr Gln Ile Leu Arg Pro Thr Arg Pro Arg Leu Pro Val
210 215 220

Ser Trp Ser Phe Arg Thr Ser Ile Val Ser Asp Leu Thr Gly Ser Gln
225 230 235 240

Gln Arg Lys Arg Lys Phe Pro Ser Glu Ser Arg Pro Asn Val Val Lys
245 250 255

Pro Ser Val Leu Pro Ser Thr Ser Arg
260 265

<210> 20

<211> 183

<212> PRT

<213> PRRS virus

<400> 20

Met Ala Ala Ala Thr Leu Phe Phe Leu Ala Gly Ala Gln His Ile Met
1 5 10 15

Val Ser Glu Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Thr His Leu Ser
20 25 30

Asp Ile Lys Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Gly Phe Met Val Leu Gln
35 40 45

Asp Ile Asn Cys Phe Arg Pro His Gly Val Ser Ala Ala Gln Glu Lys
50 55 60

Ile	Ser	Phe	Gly	Lys	Ser	Ser	Gln	Cys	Arg	Glu	Ala	Val	Gly	Thr	Pro
65					70					75					80
Gln	Tyr	Ile	Thr	Ile	Thr	Ala	Asn	Val	Thr	Asp	Glu	Ser	Tyr	Leu	Tyr
				85					90					95	
Asn	Ala	Asp	Leu	Leu	Met	Leu	Ser	Ala	Cys	Leu	Phe	Tyr	Ala	Ser	Glu
			100					105					110		
Met	Ser	Glu	Lys	Gly	Phe	Lys	Val	Ile	Phe	Gly	Asn	Val	Ser	Gly	Val
		115					120					125			
Val	Ser	Ala	Cys	Val	Asn	Phe	Thr	Asp	Tyr	Val	Ala	His	Val	Thr	Gln
		130				135					140				
His	Thr	Gln	Gln	His	His	Leu	Val	Val	Asp	His	Ile	Arg	Leu	Leu	His
145					150					155					160
Phe	Leu	Thr	Pro	Ser	Ala	Met	Arg	Trp	Ala	Thr	Thr	Ile	Ala	Cys	Leu
				165					170					175	
Leu	Ala	Ile	Leu	Leu	Ala	Ile									
					180										

<210> 21

<211> 201

<212> PRT

<213> PRRS virus

<400> 21

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

Ala Ala Lys Asn Cys Met Ala Cys Arg Tyr Ala Arg Thr Arg Phe Thr
130 135 140

Asn Phe Ile Val Asp Asp Arg Gly Arg Val His Arg Trp Lys Ser Pro
145 150 155 160

Ile Val Val Glu Lys Leu Gly Lys Ala Glu Val Asp Gly Asn Leu Val
165 170 175

Thr Ile Lys His Val Val Leu Glu Gly Val Lys Ala Gln Pro Leu Thr
180 185 190

Arg Thr Ser Ala Glu Gln Trp Glu Ala
195 200

<210> 22

<211> 750

<212> DNA

<213> PRRS Lelystad agents ORF2

<400> 22

```

ATGCAATGGG  GTCAC TGTGG  AGTAAAATCA  GCCAGCTGTT  CGTGGACGCC  TTCAC TGA GT  60
TCCTTGTTAG  TGTGGTTGAT  ATTGCCATTT  TCCTTGCCAT  ACTGTTTGGG  TTCAC CGT CG  120
CAGGATGGTT  ACTGGTCTTT  CTTCTCAGAG  TGGTTTGCTC  CGCGCTTCTC  CGTTC GCG CT  180
CTGCCATTCA  CTCTCCCGAA  CTATCGAAGG  TCCATGAAG  GCTTGTTGCC  CAAC TGCAGA  240
CCGGATGTCC  CACAATTTGC  AGTCAAGCAC  CCATTGGGyA  TGT TTTGGCA  CATGC GAGTT  300
TCCCAC TTGA  TTGATGAGAT  GGTCTCTCGT  CGCATTTACC  AGACCATGGA  ACATTCAGGT  360
CAAGCGGCCT  GGAAGCAGGT  GGTGGTGAG  GCCACTCTCA  CGAAGCTGTC  AGGGCTCGAT  420
ATAGTTACTC  ATTTCCAACA  CCTGGCCGCA  GTGGAGGCGG  ATTCTTGCCG  CTTTCTCAGC  480
TCACGACTCG  TGATGCTAAA  AAATCTTGCC  GTTGGCAATG  TGAGCCTACA  GTACAAGACC  540
ACGTTGGACC  GCGTTGAGCT  CATCTTCCCC  ACGCCAGGTA  CGAGGCCCAA  GTTGACCGAT  600
TTCAGACAAT  GGCTCATCAG  TGTGCACGCT  TCCATTTTTT  CCTCTGTGGC  TTCATCTGTT  660
ACCTTGTTCA  TAGTGCTTTG  GCTTCGAATT  CCAGCTCTAC  GCTATGTTTT  TGGTTTCCAT  720
TGGCCCACGG  CAACACATCA  TTCGAGCTGA  750

```

<210> 23

<211> 798

<212> DNA

<213> PRRS Lelystad agents ORF3

<400> 23

```

ATGGCTCATC  AGTGTGCACG  CTTCCATTTT  TTCCTCTGTG  GCTTCATCTG  TTACCTTGTT  60
CATAGTGCTT  TGGCTTCGAA  TTCCAGCTCT  ACGCTATGTT  TTTGGTTTCC  ATTGGCCAC  120
GGCAACACAT  CATTGAGCT  GACCATCAAC  TACACCATAT  GCATGCCCTG  TTCTACCAGT  180
CAAGCGGCTC  GCCAAAGGCT  CGAGCCCGGT  CGTAACATGT  GGTGCAAAAT  AGGGCATGAC  240
AGGTGTGAGG  AGCGTGACCA  TGATGAGTTG  TTAATGTCCA  TCCCGTCCGG  GTACGGACAA  300
CTCAAAC TTG  AGGGTTATTA  TGCTTGGCTG  GCTTTTTTGT  CCTTTTCCTA  CGCGGCCCAA  360
TTCCATCCGG  AGTTGTTCCG  GATAGGGAAT  GTGTCGCGCG  TCTTCGTGGA  CAAGCGACAC  420
CAGTTCATTT  GTGCCGAGCA  TGATGGACAC  AATTCAACCG  TATCTACCGG  ACACAACATC  480
TCCGCATTAT  ATGCGGCATA  TTACCACCAC  CAAATAGACG  GGGGCAATTG  GTTCCATT TG  540
GAATGGCTGC  GGCCACTCTT  TTCTTCCTGG  CTGGTGCTCA  ACATATCATG  GTTCTGAGG  600
CGTTCGCCTG  TAAGCCCTGT  TTCTCGACGC  ATCTATCAGA  TATTGAGACC  AACACGACCG  660

```

CGGCTGCCGG TTTCATGGTC CTTCAGGACA TCAATTGTTT CCGACCTCAC GGGGTCTCAG 720
CAGCGCAAGA GAAAATTTCC TTCGGAAAGT CGTCCCAATG TCGTGAAGCC GTCGGTACTC 780
CCCAGTACAT CACGATAA 798

<210> 24
<211> 606
<212> DNA
<213> PRRS Lelystad agens ORF5

<400> 24
ATGAGATGTT CTCACAAATT GGGGCGTTTC TTGACTCCGC ACTCTTGCTT CTGGTGGCTT 60
TTTTTGCTGT GTACCGGCTT GTCCTGGTCC TTTGCCGATG GCAACGGCGA CAGCTCGACA 120
TACCAATACA TATATAACTT GACGATATGC GAGCTGAATG GGACCGACTG GTTGTCCAGC 80
CATTTTGGTT GGGCAGTCGA GACCTTTGTG CTTTACCCGG TTGCCACTCA TATCCTCTCA 240
CTGGGTTTTT TCACAACAAG CCATTTTTTT GACGCGCTCG GTCTCGGCGC TGTATCCACT 300
GCAGGATTTG TTGGCGGGCG GTACGTACTC TGCAGCGTCT ACGGCGCTTG TGCTTTCGCA 360
GCGTTCGTAT GTTTTGTTCAT CCGTGCTGCT AAAAATTGCA TGGCCTGCCG CTATGCCCGT 420
ACCCGGTTTA CCAACTTCAT TGTGGACGAC CGGGGGAGAG TTCATCGATG GAAGTCTCCA 480
ATAGTGGTAG AAAAATTGGG CAAAGCCGAA GTCGATGGCA ACCTCGTCAC CATCAAACAT 540
GTCGTCTCG AAGGGGTAA AGCTCAACCC TTGACGAGGA CTTCGGCTGA GCAATGGGAG 600
GCCTAG 606

<210> 25
<211> 21
<212> DNA
<213> PRRS zoslabovacie miesto I ORF2

<400> 25
TACTGGTCTT TCTTCTCAGA G 21

<210> 26
<211> 21
<212> DNA
<213> PRRS zoslabovacie miesto II ORF2

<400> 26
ACAATTTGCA GTCAAGCACC C 21

<210> 27
<211> 21
<212> DNA
<213> PRRS zoslabovacie miesto III ORF2

<400> 27
ATTGGyATG TTTTGGCACA T 21

<210> 28

<211> 21

<212> DNA

<213> PRRS zoslabovacie miesto ORF3

<400> 28

GTTGTTAAT GTCCATCCCGT C

21

<210> 29

<211> 21

<212> DNA

<213> PRRS zoslabovacie miesto ORF5

<400> 29

GACCTTTGTG CTTTACCCGG T

21

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Oslabený európsky PRRS vírus kódovaný nukleovou kyselinou obsahujúcou ORF1, ORF2, ORF3, ORF4, ORF5, ORF6 a ORF7, v ktorom

a) ORF2 obsahuje v polohách 11915-11935 aspoň jeden z nukleotidov ako sú uvedené v tabuľke 1:

A	T	G	A	C	C	A	G	A	A	C	G	A	A	G	A	G	T	C	T	C
C	C	A	C	T	T	C	A	C	C	A	A	C	C	A	C	A	C	A	C	A
G	G	T	G	A	A	G	T	G	G	G	T	G	G	T	G	T	G	T	G	T

a v polohách 12037-12057 aspoň jeden z nukleotidov ako sú uvedené v tabuľke 2:

T	G	T	T	A	A	A	C	G	T	C	A	G	T	T	C	G	T	G	G	G
C	A	C	C	C	C	C	T	A	C	T	C	A	C	C	T	A	C	A	A	A
G	T	G	G	G	G	G	A	T	G	A	G	T	G	G	A	T	G	T	T	T

a v polohách 12058-12078 aspoň jeden z nukleotidov ako sú uvedené v tabuľke 3:

T	A	A	C	C	C	A	T	A	C	A	A	A	A	C	C	G	T	G	T	A
C	C	C	T	T	T	C	C	C	T	C	C	C	C	T	T	A	C	A	C	C
G	G	G	A	A	A	G	G	G	A	G	G	G	G	A	A	T	G	T	G	G

a/alebo deléciu v uvedenej polohe (polohách) a/alebo

b) ORF3 obsahuje v polohách 12660-12680 aspoň jeden z nukleotidov ako sú uvedené v tabuľke 4:

C	A	A	C	A	A	T	T	A	C	A	G	G	T	A	G	G	G	C	A	G
T	C	C	T	C	C	C	C	C	T	C	A	A	C	C	A	A	A	T	C	A
A	G	G	A	G	G	G	G	G	A	G	T	T	G	G	T	T	T	A	G	T

a/alebo deléciu v uvedenej polohe (polohách) a/alebo

c) ORF5 obsahuje v polohách 13684-13704 aspoň jeden z nukleotidov uvedených v tabuľke 5:

C	T	G	G	A	A	A	C	A	C	G	A	A	A	T	G	G	G	C	C	A
T	C	A	A	C	C	C	T	C	T	A	C	C	C	C	A	A	A	T	T	C
A	G	T	T	G	G	G	A	G	A	T	G	G	G	G	T	T	T	A	A	G

a/alebo deléciu v uvedenej polohe (polohách).

2. Oslabený európsky PRRS vírus podľa nároku 1, v ktorom

- a) ORF2 obsahuje C, A alebo G v polohe 11925 a/alebo C, T alebo A v polohe 12047 a/alebo A, C alebo G v polohe 12068 alebo deléciu v uvedenej polohe (polohách) a/alebo
- b) ORF3 obsahuje A, C alebo G v polohe 12670 alebo deléciu v uvedenej polohe a/alebo
- c) ORF5 obsahuje G, A alebo T v polohe 13694 alebo deléciu v uvedenej polohe.

3. Oslabený európsky PRRS vírus podľa nároku 1 alebo 2, ktorého nukleová kyselina je charakteristická tým, že

- a) ORF2 obsahuje C v polohe 11925 a/alebo T v polohe 12047 a/alebo C v polohe 12068 alebo deléciu v uvedenej polohe (polohách) a/alebo
- b) ORF3 obsahuje C v polohe 12670 alebo deléciu v uvedenej polohe a/alebo
- c) ORF5 obsahuje T v polohe 13694 alebo deléciu v uvedenej polohe.

4. Oslabený európsky PRRS vírus podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 3, ktorého nukleová kyselina je charakteristická tým, že

- a) ORF2 obsahuje nukleovú kyselinu ako je definovaná v sekv. č. 1 a/alebo
- b) ORF3 obsahuje nukleovú kyselinu ako je definovaná v sekv. č. 2 a/alebo
- c) ORF4 obsahuje nukleovú kyselinu ako je definovaná v sekv. č. 3 a/alebo
- d) ORF5 obsahuje nukleovú kyselinu ako je definovaná v sekv. č. 4,

alebo ich fragment, alelický variant, funkčný variant, variant založený na degenerovanosti nukleokyselinového kódu, fúzanú molekulu alebo chemický derivát.

5. Oslabený európsky PRRS vírus podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 4, ktorého nukleová kyselina je charakteristická tým, že

- a) ORF2 pozostáva z nukleovej kyseliny ako je definovaná v sekv. č. 1 a/alebo
- b) ORF3 pozostáva z nukleovej kyseliny ako je definovaná v sekv. č. 2 a/alebo
- c) ORF4 pozostáva z nukleovej kyseliny ako je definovaná v sekv. č. 3 a/alebo
- d) ORF5 pozostáva z nukleovej kyseliny ako je definovaná v sekv. č. 4.

6. Oslabený európsky PRRS vírus podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 5, ktorého nukleová kyselina je charakteristická tým, že obsahuje nukleovú kyselinu ako je definovaná v sekv. č. 5 alebo jej fragment, alelický variant, funkčný variant, variant založený na degenerovanosti nukleokyselinového kódu, fúzovanú molekulu alebo chemický derivát.

7. Oslabený európsky PRRS vírus podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 6, ktorého nukleová kyselina je charakteristická tým, že pozostáva z nukleovej kyseliny ako je definovaná v sekv. č. 5.

8. Oslabený európsky PRRS vírus podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 3, ktorého nukleová kyselina je ďalej charakteristická tým, že

- a) ORF2 obsahuje nukleovú kyselinu ako je definovaná v sekv. č. 6 a/alebo
- b) ORF3 obsahuje nukleovú kyselinu ako je definovaná v sekv. č. 7 a/alebo
- c) ORF4 obsahuje nukleovú kyselinu ako je definovaná v sekv. č. 8 a/alebo
- d) ORF5 obsahuje nukleovú kyselinu ako je definovaná v sekv. č. 9 a/alebo jej fragment, alelický variant, funkčný variant, variant založený a degenerovanosti nukleokyselinového kódu, fúzovanú molekulu alebo chemický derivát.

9. Oslabený európsky PRRS vírus podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 3, ktorého nukleová kyselina je ďalej charakteristická tým, že

- a) ORF2 pozostáva z nukleovej kyseliny ako je definovaná v sekv. č. 6 a/alebo
- b) ORF3 pozostáva z nukleovej kyseliny ako je definovaná v sekv. č. 7 a/alebo
- c) ORF4 pozostáva z nukleovej kyseliny ako je definovaná v sekv. č. 8 a/alebo
- d) ORF5 pozostáva z nukleovej kyseliny ako je definovaná v sekv. č. 9.

10. Oslabený európsky PRRS vírus, ktorý je charakteristický tým, že

- a) ORF1a obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 10 a/alebo
- b) ORF1b obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 11 a/alebo
- c) ORF2 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 12 a/alebo
- d) ORF3 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 13 a/alebo
- e) ORF4 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 14 a/alebo

- f) ORF5 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 15 a/alebo
- g) ORF6 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 16 a/alebo
- h) ORF7 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 17 alebo jej fragment, alelický variant, funkčný variant, variant založený a degenerovanosti nukleokyselinového kódu, fúzovanú molekulu alebo chemický derivát.

11. Oslabený európsky PRRS vírus, ktorý je charakteristický tým, že

- a) ORF1a pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 10 a/alebo
- b) ORF1b pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 11 a/alebo
- c) ORF2 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 12 a/alebo
- d) ORF3 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 13 a/alebo
- e) ORF4 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 14 a/alebo
- f) ORF5 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 15 a/alebo
- g) ORF6 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 16 a/alebo
- h) ORF7 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 17.

12. Oslabený európsky PRRS vírus, ktorý je charakteristický tým, že

- a) ORF2 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 18 a/alebo
- b) ORF3 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 19 a/alebo
- c) ORF4 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 20 a/alebo
- d) ORF5 obsahuje aminokyselinu, ako je definovaná v sekv. č. 21 alebo jej fragment, alelický variant, funkčný variant, variant založený a degenerovanosti nukleokyselinového kódu, fúzovanú molekulu alebo chemický derivát.

13. Oslabený európsky PRRS vírus, ktorý je charakteristický tým, že

- a) ORF2 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 18 a/alebo
- b) ORF3 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 19 a/alebo
- c) ORF4 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 20 a/alebo
- d) ORF5 pozostáva z aminokyseliny, ako je definovaná v sekv. č. 21.

14. Nukleotidová sekvencia kódujúca vírus podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 13.

15. Nukleotidová sekvencia podľa nároku 14, ktorá bola modifikovaná tak, aby kodovala virulentný marker a/alebo serologický marker.

16. Nukleotidová sekvencia podľa nároku 14 alebo 15, pričom nukleotidová sekvencia kódujúca marker je lokalizovaná medzi ktorýmikoľvek z otvorených čítacích rámcov kódujúcich štrukturálne vírusové proteíny.

17. Spôsob generovania infekčného živého oslabeného PRRS vírusu, vyznačujúci sa tým, že zahŕňa produkciu rekombinantnej nukleovej kyseliny obsahujúcej aspoň jednu kompletnú DNA kópiu alebo *in vitro* transkribovanú RNA kópiu alebo derivát jednej z nich, pričom nukleotidovou sekvenciou je nukleotidová sekvencia podľa ktoréhokoľvek z nárokov 14 až 16.

18. Spôsob generovania infekčného živého oslabeného PRRS vírusu, vyznačujúci sa tým, že zahŕňa nasledujúce kroky:

- a) PRRS vírus podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 13 sa použije na infikovanie vhodnej bunkovej línie,
- b) PRRS vírus sa oslabuje pasážovaním na bunkovej kultúre.

19. Spôsob podľa nároku 18, vyznačujúci sa tým, že bunkovou líniou je Marc bunka alebo jej derivát.

20. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 18 alebo 19, vyznačujúci sa tým, že PRRS vírusom je vírus podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 13.

21. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 18 až 20, vyznačujúci sa tým, že PRRS vírusom je vírus podľa nároku 5, 9, 11 alebo 13.

22. Bunková línia obsahujúca PRRS vírus podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 13.

23. Bunková línia podľa nároku 22, ktorou je Marc bunka alebo jej derivát.

24. Farmaceutický prostriedok, vyznačujúci sa tým, že obsahuje PRRS vírus podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 13 a farmaceuticky prijateľný nosič.

25. Použitie PRRS vírusu podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 13 na výrobu vakcíny na profylaxiu a liečenie PRRS infekcií.

26. Spôsob oslabenia európskeho PRRS vírusu, vyznačujúci sa tým, že

- a) nukleotidová sekvencia vírusu je modifikovaná miestne špecifickou mutagenézou aspoň v jednej z polôh ORF2 zodpovedajúcich polohám 130 až 150 a/alebo polohám 252 až 272 a/alebo polohám 273 až 293 sekv. č. 22;
- b) je testovaná, či výsledný PRRS vírus je oslabený.

27. Spôsob oslabenia európskeho PRRS vírusu, vyznačujúci sa tým, že

- a) nukleotidová sekvencia vírusu je modifikovaná miestne špecifickou mutagenézou aspoň v jednej z polôh ORF3 zodpovedajúcich polohám 267 až 287 sekv. č. 23;
- b) je testovaná, či výsledný PRRS vírus je oslabený.

28. Spôsob oslabenia európskeho PRRS vírusu, vyznačujúci sa tým, že

- a) nukleotidová sekvencia vírusu je modifikovaná miestne špecifickou mutagenézou aspoň v jednej z polôh zodpovedajúcim polohám 201 až 221 v ORF5 podľa sekv. č. 24;
- b) je testovaná, či výsledný PRRS vírus je oslabený.

29. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 26 až 28, vyznačujúci sa tým, že modifikácia vedie k zmene aminokyselinovej sekvencie kódovaného proteínu.

30. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 26 až 29, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že modifikáciou je delécia alebo substitúcia.

31. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 26 až 30, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že sekvencia každého z ORF2, ORF3 a ORF5 je modifikovaná.

32. Spôsob podľa nároku 31, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že ORF2 je modifikovaný aspoň v dvoch, výhodne aspoň v troch polohách.

33. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 26 až 32, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že modifikácia vedie jednému alebo viacerým z nasledujúcich znakov: ORF2 kódujúci proteín majúci aminokyselinu v jednej alebo viacerých aminokyselinových sekvenčných polohách zodpovedajúcich pozíciám 47, 88 a/alebo 95 v aminokyselinovej sekvencii kódovanej sekv. č. 22, substituovanú alebo deletovanú; ORF3 kódujúci proteín majúci aminokyselinu zodpovedajúcu polohe 93 aminokyselinovej sekvencie kódovanej sekv. č. 23 substituovanú alebo deletovanú; a/alebo ORF5 kódujúci proteín majúci aminokyselinu zodpovedajúcu polohe 71 aminokyselinovej sekvencie kódovanej sekv. č. 24 substituovanú alebo deletovanú.

34. Spôsob podľa nároku 33, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že modifikácia vedie k jednému alebo viacerým, výhodne ku všetkým, z nasledujúcich znakov: ORF2 kódujúci proteín, ktorý má serín v polohe zodpovedajúcej pozícii 47 aminokyselinovej sekvencie kódovanej sekv. č. 22, ORF2 kódujúci proteín, ktorý má fenylalanín v pozícii zodpovedajúcej polohe 88 aminokyselinovej sekvencie kódovanej sekv. č. 22, ORF2, ktorý má leucín v polohe zodpovedajúcej pozícii 95 aminokyselinovej sekvencie kódovanej sekv. č. 22, ORF3, ktorý má prolín v polohe zodpovedajúcej pozícii 93 aminokyselinovej sekvencie kódovanej sekv. č. 23, a/alebo ORF5, ktorý má fenylalanín v polohe zodpovedajúcej pozícii 71 aminokyselinovej sekvencie kódovanej sekv. č. 24.

35. Spôsob podľa nároku 34, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že modifikácia vedie k jednému alebo viacerým, výhodne ku všetkým z nasledujúcich znakov:

ORF2 majúci C v polohe zodpovedajúcej polohe 140 sekv. č. 22, ORF2 majúci T v polohe zodpovedajúcej polohe 262 sekv. č. 22, ORF2 majúci C v polohe zodpovedajúcej polohe 283 sekv. č. 22, ORF3 majúci C v polohe zodpovedajúcej polohe 277 sekv. č. 23 a/alebo ORF5 majúci T v polohe zodpovedajúcej polohe 211 sekv. č. 24.

36. Oslabený európsky PRRS vírus získateľný spôsobom podľa ktoréhokoľvek z nárokov 26 až 35.

37. Oslabený európsky PRRS vírus majúci ORF2, ktorý sa líši od sekv. č. 22 v jednej alebo viacerých polohách 130 až 150 a/alebo v jednej alebo viacerých polohách 252 až 272 a/alebo v jednej alebo viacerých polohách 273 až 293.

38. Oslabený európsky PRRS vírus majúci ORF3, ktorý sa líši od sekv. č. 23 v jednej alebo viacerých polohách 267 až 287.

39. Oslabený európsky PRRS vírus majúci ORF5, ktorý sa líši od sekv. č. 24 v jednej alebo vo viacerých polohách 201 až 221.

40. Vakcína, v y z n a č u j ú c a s a t ý m , že obsahuje oslabený európsky PRRS vírus podľa ktoréhokoľvek z nárokov 36 až 39 spolu s farmaceuticky prijateľným nosičom.

41. Použitie oslabeného európskeho PRRS vírusu podľa nárokov 36 až 39 na výrobu vakcíny na očkovanie prasiat.

42. Použitie oslabeného európskeho PRRS vírusu podľa ktoréhokoľvek z nárokov 36 až 39 na výrobu vakcíny proti PRRS.

Fig. 1A

	10	20	30	40	50	60
Lelystad	ATGCAATGGG	GTCACCTGTGG	AGTAAAATCA	GCCAGCTGTT	CGTGGACGCC	TTCACCTGAGT
Vir.A		..T.....				
Lelystad-b						
	70	80	90	100	110	120
Lelystad	TCCTTGTTAG	TGTGGTTGAT	ATTGCCATTT	TCCTTGCCAT	ACTGTTTGGG	TTCACCGTCG
Vir.A			TT....			
Lelystad-b			T.....			
	130	140	150	160	170	180
Lelystad	CAGGATGGTT	ACTGGTCTTT	CTTCTCAGAG	TGGTTTGCTC	CGCGCTTCTC	CGTTCGCGCT
Vir.A						
Lelystad-b						
	190	200	210	220	230	240
Lelystad	CTGCCATTCA	CTCTCCCGAA	CTATCGAAGG	TCCTATGAAG	GCTTGTTGCC	CAACTGCAGA
Vir.A						
Lelystad-b						
	250	260	270	280	290	300
Lelystad	CCGGATGTCC	CACAATTTGC	AGTCAAGCAC	CCATTGGGyA	TGTTTGGCA	CATGCGAGTT
Vir.A				T.....		
Lelystad-b				T.....		
	310	320	330	340	350	360
Lelystad	TCCCACCTGA	TTGATGAGAT	GGTCTCTCGT	CGCATTTACC	AGACCATGGA	ACATTCAGGT
Vir.A	A..A.					
Lelystad-b						
	370	380	390	400	410	420
Lelystad	CAAGCGGCCT	GGAAGCAGGT	GGTTGGTGAG	GCCACTCTCA	CGAAGCTGTC	AGGGCTCGAT
Vir.A		C				..A.....
Lelystad-b						
	430	440	450	460	470	480
Lelystad	ATAGTTACTC	ATTTCCAACA	CCTGGCCGCA	GTGGAGGCGG	ATTCTTGCCG	CTTTCTCAGC
Vir.A				..A.....		
Lelystad-b	C....	Y.				
	490	500	510	520	530	540
Lelystad	TCACGACTCG	TGATGCTAAA	AAATCTTGCC	GTTGGCAATG	TGAGCCTACA	GTACAACACC
Vir.A						
Lelystad-b						
	550	560	570	580	590	600
Lelystad	ACGTTGGACC	GCGTTGAGCT	CATCTTCCCC	ACGCCAGGTA	CGAGGCCCAA	GTTGACCGAT
Vir.A						C
Lelystad-b						
	610	620	630	640	650	660
Lelystad	TTCAGACAAT	GGCTCATCAG	TGTGCACGCT	TCCATTTTTT	CCTCTGTGGC	TTCATCTGTT
Vir.A						
Lelystad-b						
	670	680	690	700	710	720
Lelystad	ACCTTGTTCA	TAGTGCTTTG	GCTTCGAATT	CCAGCTCTAC	GCTATGTTTT	TGGTTTCCAT
Vir.A						
Lelystad-b						

Fig. 1B

	730	740	750
Lelystad	TGGCCCACGG	CAACACATCA	TTCGAGCTGA
Vir.A			
Lelystad-b			

Fig. 2A

	10	20	30	40	50	60
LELYSTAD	ATGGCTCATC	AGTGTGCACG	CTTCCATTTT	TCCTCTGTG	GCTTCATCTG	TTACCTTGTT
Vir.A						
Lelystad-b						
	70	80	90	100	110	120
LELYSTAD	CATAGTGCTT	TGGCTTCGAA	TTCCAGCTCT	ACGCTATGTT	TTTGGTTTCC	ATTGGCCCAC
Vir.A						
Lelystad-b						
	130	140	150	160	170	180
Lelystad	GGCAACACAT	CATTTCGAGCT	GACCATCAAC	TACACCATAT	GCATGCCCTG	TTCTACCAGT
Vir.A						
Lelystad-b						
	190	200	210	220	230	240
LELYSTAD	CAAGCGGCTC	GCCAAAGGCT	CGAGCCCGGT	CGTAACATGT	GGTGCAAAAT	AGGGCATGAC
Vir.A						T.....
Lelystad-b				..A..G.....		
	250	260	270	280	290	300
LELYSTAD	AGGTGTGAGG	AGCGTGACCA	TGATGAGTTG	TTAATGTCCA	TCCCGTCCGG	GTACGGACAA
Vir.A						ACA.C
Lelystad-b				C.....		ACA.C
	310	320	330	340	350	360
LELYSTAD	CTCAAACCTTG	AGGGTTATTA	TGCTTGGCTG	GCTTTTTTGT	CCTTTTCCTA	CGGGGCCCAA
Vir.A						
Lelystad-b						
	370	380	390	400	410	420
LELYSTAD	TTCCATCCGG	AGTTGTTCGG	GATAGGGAAT	GTGTCGCGCG	TCTTCGTGGA	CAAGCGACAC
Vir.A						
Lelystad-b						
	430	440	450	460	470	480
LELYSTAD	CAGTTCATTT	GTGCCGAGCA	TGATGGACAC	AATTCAACCG	TATCTACCGG	ACACAACATC
Vir.A			G			
Lelystad-b					..G.....	
	490	500	510	520	530	540
LELYSTAD	TCCGCATTAT	ATGCGGCATA	TTACCACCAC	CAAATAGACG	GGGGCAATTG	GTTCCATTTG
Vir.A						
Lelystad-b						
	550	560	570	580	590	600
LELYSTAD	GAATGGCTGC	GGCCACTCTT	TTCTTCCTGG	CTGGTGCTCA	ACATATCATG	GTTTCTGAGG
Vir.A			...C.....		..T.....	
Lelystad-b						
610	620	630	640	650	660	
LELYSTAD	CGTTCGCCTG	TAAGCCCTGT	TTCTCGACGC	ATCTATCAGA	TATTGAGACC	AACACGACCG
Vir.A						
Lelystad-b					...A.....	
	670	680	690	700	710	720
LELYSTAD	CGGCTGCCGG	TTTCATGGTC	CTTCAGGACA	TCAATTGTTT	CCGACCTCAC	GGGGTCTCAG
Vir.A				C.....		
Lelystad-b						

Fig. 2B

	730	740	750	760	770	780
LELYSTAD	CAGCGCAAGA	GAAAATTTCC	TTCGGAAAGT	CGTCCCAATG	TCGTGAAGCC	GTCGGTACTC
Vir.A		.G.....C..				
Lelystad-b						

	790	798
LELYSTAD	CCCAGTACAT	CACGATAA
Vir.A		
Lelystad-b		

Fig. 3

	10	20	30	40	50	60
LELYSTAD	ATGGCTGCGG	CCACTCTTTT	CTTCCTGGCT	GGTGCTCAAC	ATATCATGGT	TTCTGAGGCG
Vir.A			.C.....	T		
Lelystad-B						
	70	80	90	100	110	120
LELYSTAD	TTCGCCTGTA	AGCCCTGTTT	CTCGACGCAT	CTATCAGATA	TTGAGACCAA	CACGACCGCG
Vir.A						
Lelystad-B					..A.....	
	130	140	150	160	170	180
LELYSTAD	GCTGCCGGTT	TCATGGTCTT	TCAGGACATC	AATTGTTTCC	GACCTCACGG	GGTCTCAGCA
Vir.A				C...		
Lelystad-B						
	190	200	210	220	230	240
LELYSTAD	GCGCAAGAGA	AAATTTTCCTT	CGGAAAGTCG	TCCCAATGTC	GTGAAGCCGT	CGGTACTCCC
Vir.A	G	C....				
Lelystad-B						
	250	260	270	280	290	300
LELYSTAD	CAGTACATCA	CGATAACGGC	TAACGTGACC	GACGAATCAT	ACTTGTACAA	CGCGGACCTG
Vir.A						T..
Lelystad-B						
	310	320	330	340	350	360
LELYSTAD	CTGATGCTTT	CTGCGTGCCT	TTTCTACGCC	TCAGAAATGA	GCGAGAAAGG	CTTCAAAGTC
Vir.A			C.....			T
Lelystad-B						
	370	380	390	400	410	420
LELYSTAD	ATCTTTGGGA	ATGTCTCTGG	CGTTGTTTCT	GCTTGTGTCA	ATTTCACAGA	TTATGTGGCC
Vir.A			C			
Lelystad-B						
	430	440	450	460	470	480
LELYSTAD	CATGTGACCC	AACATACCCA	GCAGCATCAT	CTGGTAATTG	ATCACATTCTG	GTTGCTGCAT
Vir.A				T.....		
Lelystad-B				G...		
	490	500	510	520	530	540
LELYSTAD	TTCCTGACAC	CATCTGCAAT	GAGGTGGGCT	ACAACCATTG	CTTGTTTGTT	CGCCATTCTC
Vir.A						
Lelystad-B					C.	
	550					
Lelystad	TTGGCAATAT	GA				
Vir.A	G....	..				
Lelystad-B	N....	..				

Fig.4

	10	20	30	40	50	60
LELYSTAD	ATGAGATGTT	CTCACAAATT	GGGGCGTTTC	TTGACTCCGC	ACTCTTGCTT	CTGGTGGCTT
Vir.A						T..
LELYSTAD-B			C.			
	70	80	90	100	110	120
Lelystad	TTTTTGCTGT	GTACCGGCTT	GTCCTGGTCC	TTTGCCGATG	GCAACGGCGA	CAGCTCGACA
Vir.A					A.	
LELYSTAD-B						
	130	140	150	160	170	180
LELYSTAD	TACCAATACA	TATATAACTT	GACGATATGC	GAGCTGAATG	GGACCGACTG	GTTGTCCAGC
Vir.A						
LELYSTAD-B		G....				
	190	200	210	220	230	240
LELYSTAD	CATTTTGGTT	GGGCAGTCGA	GACCTTTGTG	CTTTACCCGG	TTGCCACTCA	TATCCTCTCA
Vir.A						
LELYSTAD-B						
	250	260	270	280	290	300
LELYSTAD	CTGGGTTTTTC	TCACAACAAG	CCATTTTTTTT	GACGCGCTCG	GTCTCGGCGC	TGTATCCACT
Vir.A						
LELYSTAD-B						
	310	320	330	340	350	360
LELYSTAD	GCAGGATTTG	TTGGCGGGCG	GTACGTACTC	TGCAGCGTCT	ACGGCGCTTG	TGCTTTCGCA
Vir.A			T.....			
LELYSTAD-B						
	370	380	390	400	410	420
LELYSTAD	GCGTTCGTAT	GTTTTGTCAT	CCGTGCTGCT	AAAAATTGCA	TGGCCTGCCG	CTATGCCCGT
Vir.A						
LELYSTAD-B						
	430	440	450	460	470	480
LELYSTAD	ACCCGGTTTA	CCAACTTCAT	TGTGGACGAC	CGGGGGAGAG	TTCATCGATG	GAAGTCTCCA
Vir.A			A...A..			
LELYSTAD-B						
	490	500	510	520	530	540
LELYSTAD	ATAGTGGTAG	AAAAATTGGG	CAAAGCCGAA	GTCGATGGCA	ACCTCGTCAC	CATCAAACAT
Vir.A				C.....		
LELYSTAD-B						
	550	560	570	580	590	600
LELYSTAD	GTCGTCCTCG	AAGGGGTTAA	AGCTCAACCC	TTGACGAGGA	CTTCGGCTGA	GCAATGGGAG
Vir.A						
LELYSTAD-B						
	606					
LELYSTAD	GCCTAG					
Vir.A						
LELYSTAD-B						