



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0046879
(43) 공개일자 2016년04월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/12 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01) C12N 7/04 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 39/12 (2013.01)
C12N 7/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-7007769
(22) 출원일자(국제) 2014년09월24일
심사청구일자 2016년03월24일
(85) 번역문제출일자 2016년03월24일
(86) 국제출원번호 PCT/US2014/057190
(87) 국제공개번호 WO 2015/048115
국제공개일자 2015년04월02일
(30) 우선권주장
61/882,289 2013년09월25일 미국(US)

(71) 출원인
조에티스 서비스즈 엘엘씨
미국 뉴저지 (우편번호 07932) 플로햄 파크 캠퍼스 드라이브 100
(72) 발명자
니켈 그레고리 폴
미국 뉴저지주 07932 플로햄 파크 캠퍼스 드라이브 100 조에티스 엘엘씨
슬레이드 데이빗 유엘
미국 뉴저지주 07932 플로햄 파크 캠퍼스 드라이브 100 조에티스 엘엘씨
(74) 대리인
제일특허법인

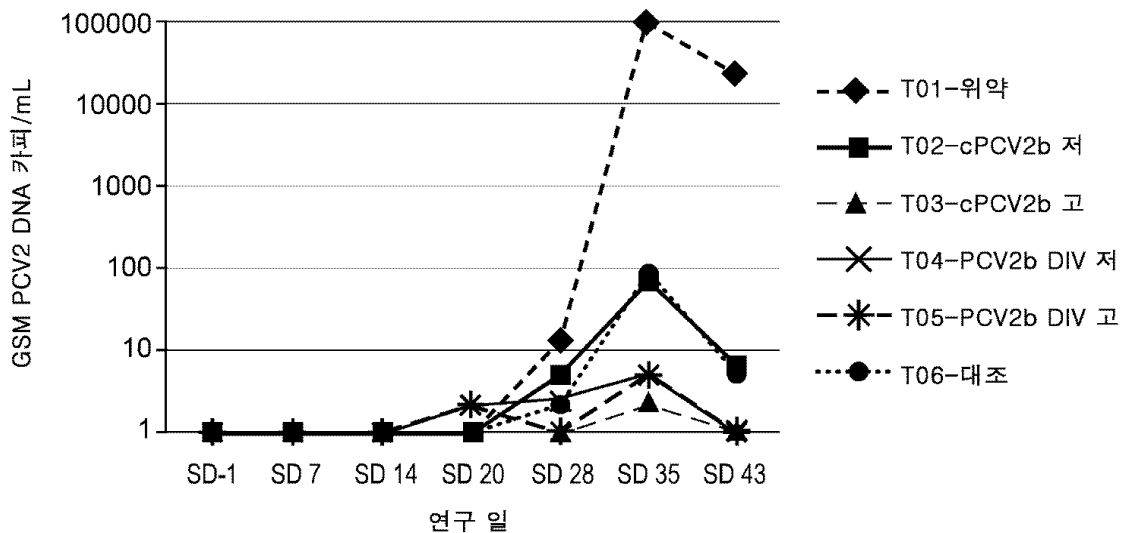
전체 청구항 수 : 총 30 항

(54) 발명의 명칭 PCV2B 분지형 백신 조성물 및 사용 방법

(57) 요약

본 발명은 고병독성 돼지 쉼코바이러스 2b형(PCV2b) 분지형 균주를 포함하는 PCV2에 대해 돼지를 보호하기 위한 백신 조성물을 제공하고, 상기 백신 조성물은 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고, 상기 ORF2 폴리펩타이드는 본원에서 서열번호 1의 넘버링에 따라 위치 89에 류신(L), 위치 90에 트레오닌(T) 및 위치 134에 아스파라긴(N)을 포함한다.

대표도



(52) CPC특허분류

C12N 7/045 (2013.01)

A61K 2039/5252 (2013.01)

A61K 2039/552 (2013.01)

A61K 2039/55566 (2013.01)

A61K 2039/58 (2013.01)

C12N 2710/14043 (2013.01)

C12N 2750/10034 (2013.01)

C12N 2750/10044 (2013.01)

C12N 2750/10071 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

고병독성 돼지 쉼코바이러스 2b형(PCV2b) 분지형 균주를 포함하는 PCV2에 대해 돼지를 보호하기 위한 백신 조성물로서, 상기 백신 조성물이 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고, 상기 ORF2 폴리펩타이드가 서열번호 1의 넘버링에 따라 위치 89에 류신(L), 위치 90에 트레오닌(T) 및 위치 134에 아스파라긴(N)을 포함하는, 백신 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 백신 조성물이 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고/하거나 발현하는 불활성화된 PCV2b 분지형 전체 바이러스 형태인, 백신 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 백신 조성물이 불활성화된 키메라성 바이러스 형태이고, 상기 키메라성 바이러스가 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고/하거나 발현하는 불활성화된 재조합 돼지 쉼코바이러스 1형을 포함하는, 백신 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 백신 조성물이 단리된 재조합 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드 형태인, 백신 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 단리된 재조합 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드가 벡터로부터 발현되는, 백신 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 벡터가 배큘로바이러스 또는 파라폭스바이러스인, 백신 조성물.

청구항 7

제5항에 있어서,

상기 벡터가 생 벡터 또는 불활성화된 벡터인, 백신 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드가 서열번호 1의 넘버링에 따라 잔기 59에 라이신(K), 잔기 234에 라이신(K), 잔기 190에 트레오닌(T), 잔기 53에 이소류신(I), 잔기 68에 아스파라긴(N), 잔기 169에 아르기닌(R) 또는 글리신(G) 및 잔기 215에 이소류신(I)으로 이루어진 균으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기를 추가로 포함하는, 백신 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드가 서열번호 1의 넘버링에 따라 잔기 59에 라이신(K) 및 잔기 234에 라이신(K)을 추가로 포함하는, 백신 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드가 서열번호 1의 넘버링에 따라 잔기 190에 트레오닌(T), 잔기 53에 이소류신(I), 잔기 68에 아스파라긴(N), 잔기 169에 아르기닌(R) 또는 글리신(G) 및 잔기 215에 이소류신(I)을 추가로 포함하는, 백신 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 PCV2 분지형 ORF2 폴리펩타이드가 서열번호 1의 아미노산 서열 또는 이의 단편으로 표시되는, 백신 조성물.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

하나 이상의 추가적인 돼지 항원을 추가로 포함하는, 백신 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 하나 이상의 추가적인 항원이 미생물에 의해 야기된 돼지에서의 질병에 대해 보호하는, 백신 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 미생물이 박테리아, 바이러스 또는 원생동물을 포함하는, 백신 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서,

상기 미생물이 마이코플라스마 하리오뉴모니에(*Mycoplasma hyopneumoniae*), 돼지 생식기 및 호흡기 증후군 바이러스(PRRSV), 돼지 과보바이러스(PPV), 헤모필루스 파라수이스(*Haemophilus parasuis*), 파스튜렐라 멀토시다(*Pasteurella multocida*), 스트렙토코쿰 수이스(*Streptococcus suis*), 스태필로코쿠스 하이쿠스(*Staphylococcus hyicus*), 악티노바실러스 플레우로뉴모니에(*Actinobacillus pleuropneumoniae*), 보데텔라 브론키셉티카(*Bordetella bronchiseptica*), 살모넬라 콜레라에수이스(*Salmonella choleraesuis*), 살모넬라 엔테리티디스(*Salmonella enteritidis*), 에리시펠로트릭스 루시오파티에(*Erysipelothrix rhusiopathiae*), 마이코플라스마 하리오리니스(*Mycoplasma hyorhinis*), 마이코플라스마 하리오사이노비에(*Mycoplasma hyosynoviae*), 랩토스피라 박테리아, 로소니아 인트라셀룰라리스(*Lawsonia intracellularis*), 돼지 인플루엔자 바이러스(SIV), 에스케리치아 콜라이(*Escherichia coli*) 항원, 브라키스피라 하리오다이센테리애(*Brachyspira hyodysenteriae*), 돼지 호흡기 코로나바이러스, 돼지 유행병 설사(PED) 바이러스, 로타바이러스, 토크 테노 바이러스(TTV), 돼지 사이토메갈로바이러스, 돼지 엔테로바이러스, 엔세팔로미오카디티스 바이러스, 오제스키병의 원인 병원체, 고전적 돼지열(CSF), 돼지 전염성 위장염의 원인 병원체 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 백신 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 백신 조성물이 아쥬반트를 추가로 포함하는, 백신 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서,

상기 아쥘반트가 수중유 아쥘반트, 폴리머 및 물 아쥘반트, 유중수 아쥘반트, 알루미늄 하이드록사이드 아쥘반트, 비타민 E 아쥘반트 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 백신 조성물.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 백신 조성물이 약학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함하는, 백신 조성물.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 따른 백신 조성물을 돼지에게 투여함을 포함하는, PCV2b 분지형 균주에 대해 돼지를 면역화하는 방법.

청구항 20

제19항에 있어서,

상기 백신 조성물이 비강내, 근육내, 진피내, 경피, 피하, 또는 경구 투여되는, PCV2b 분지형 균주에 대해 돼지를 면역화하는 방법.

청구항 21

제19항 또는 제20항에 있어서,

상기 백신 조성물이 단일 용량으로 투여되는, PCV2b 분지형 균주에 대해 돼지를 면역화하는 방법.

청구항 22

제19항 또는 제20항에 있어서,

상기 백신 조성물이 2회 용량으로 투여되는, PCV2b 분지형 균주에 대해 돼지를 면역화하는 방법.

청구항 23

제19항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 백신 조성물이 PCV2에 대해 모계-유도된 항체를 갖는 돼지에게 투여되는, PCV2b 분지형 균주에 대해 돼지를 면역화하는 방법.

청구항 24

제19항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 백신 조성물이 3 주령 이상의 돼지에게 투여되는, PCV2b 분지형 균주에 대해 돼지를 면역화하는 방법.

청구항 25

고병독성 돼지 쉼코바이러스 2b형(PCV2b) 분지형 균주에 대해 돼지를 보호하기 위한 백신 조성물을 포함하는 병을 포함하는 키트로서, 상기 백신 조성물이 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고, 상기 ORF2 폴리펩타이드가 서열번호 1의 넘버링에 따라 위치 89에 류신(L), 위치 90에 트레오닌(T) 및 위치 134에 아스파라긴(N)을 포함하는, 키트.

청구항 26

제25항에 있어서,

상기 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드가 서열번호 1의 넘버링에 따라 잔기 59에 라이신(K), 잔기 234에 라이신(K), 잔기 190에 트레오닌(T), 잔기 53에 이소류신(I), 잔기 68에 아스파라긴(N), 잔기 169에 아르기닌(R) 또는 글리신(G) 및 잔기 215에 이소류신(I)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기를 추가로 포함하는, 키트.

청구항 27

제25항 또는 제26항에 있어서,

상기 병 안의 상기 백신 조성물이 사용 준비된 액체 조성물로서 제공되는, 키트.

청구항 28

제25항 또는 제26항에 있어서,

상기 백신 조성물이 동결건조된 형태로 제공되는, 키트.

청구항 29

제28항에 있어서,

희석제를 추가로 포함하는, 키트.

청구항 30

제25항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 백신 조성물을 투여하기 위한 정보를 함유하는 설명 매뉴얼을 추가로 포함하는, 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 돼지 쉼코바이러스에 관한 것이다. 더 상세하게는, 본 발명은 PCV2b 분지형 ORF2 항원을 포함하는 백신 조성물 및 고병독성 돼지 쉼코바이러스 2b형(PCV2b) 분지형 균주를 포함하는 PCV2 및 이유 후 전신 소모성 증후군(PMWS)에 대해 돼지를 보호하기 위한 백신에서 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 쉼코비리과(*circoviridae*) 과, 쉼코바이러스(*Circovirus*) 속 멤버인 돼지 쉼코바이러스 2형(PCV2)은 1998년에 최초 발견된 작은 외피-비모유 원형 바이러스이다. PCV2는 돼지 산업에서 직면하는 가장 보편적인 두 병원체 중 하나로, 다른 하나는 마이코플라스마 하이오뉴모니아(*Mycoplasma hyoneumoniae*)이다. PCV2로 감염된 돼지는 통상적으로 이유 후 전신 소모성 증후군(PMWS)으로 불리는 증후군을 나타낸다. PMWS는 임상적으로 허약, 피부 창백, 수척, 호흡 곤란, 설사 및 황달(icterus 및 jaundice)을 특징으로 한다. PMWS에 부가하여, PCV2는 가성광견병, 돼지 생식기 및 호흡기 증후군(PRRS), 동물토착 폐렴, 글래서병, 연쇄상구균 수막염, 살모넬라증, 이유 후 대장균증, 식이 간장증 및 화농성 기관지폐렴을 포함하는 몇몇 다른 질환에 관련되었다. 노령군에 걸친 돼지에서 PCV2 감염의 다양한 임상 징후가 돼지 쉼코바이러스-관련 질환(PCVAD)으로 공지되었고, 허약 및 성장 지연을 특징으로 한다. PRRS 바이러스, 돼지 인플루엔자 바이러스(SIV), 마이코플라스마 하이오뉴모니아, 및 다른 박테리아가 PCVAD의 발생에서 주요 보조인자로 연관되었다. PCVAD는 계속해서 세계적인 돼지 산업에 위협이 되어, 큰 경제적 손실을 초래하였다.

[0003] PCV2 단리체는 현재 3가지 유전자형: PCV2a, PCV2b 및 PCV2c로 추가 세분된다. PCV2는 복제 관련 단백질(ORF1, 945 nt), 및 바이러스 캡시드(ORF2, 702 nt)를 인코딩하는 2개의 주요한 열린 해독틀(ORF)을 함유한다. PCV2는 최근에 상당한 유전적 변화를 겪었다. 고전적 PCV2a 및 PCV2b 유전자형에 비해 ORF2-인코딩된 캡시드 단백질의 C-말단에 추가 라이신(K)을 갖는 새로 출현한 PCV2 변종이 유산된 돼지의 혈청 샘플로부터 2008년에 단리되었다(Guo 등, 2010, Virology Journal 7: 273). 상기 새로 출현한 PCV2 변종에서, 게놈 서열의 위치 1039에서 1-염기 결실이 ORF2에서 정지 코돈의 돌연변이를 일으켜(UAA부터 AAG로) 705 nt의 ORF2 유전자 및 새로운 정지 코돈을 제공한다(Guo 등, 2011, Virology Journal 8: 291). 또한, Kneill 등은 이전에 한 균주의 1767 nt 게놈(유전자은행 번호 AY713470)의 위치 1042에서 결실(T)이 발견되었으므로 돌연변이가 ORF2 유전자에서 일어날 수 있고, 이것이 ORF2-인코딩된 캡시드 단백질의 C 말단에서 하나의 아미노산(라이신)으로 연장됨을 보고하였다(Kneill 등, 2005, Veterinary Microbiology 109: 169-177). Olvera 등은 또한 ORF2의 정지 코돈에서의 돌연변이로 인해 캡시드 단백질의 C 말단의 하나의 라이신 잔기에 의한 연장을 보고하였다(Olvera 등, 2007, Virology

357: 175-185). 추가로, 젠뱅크(GenBank) 수탁 번호 JQ413808을 갖는 "JSTZ"로 명명된 PCV2 균주가 중국에서 중증 설사를 하는 새끼돼지의 대변 샘플에서 검출 및 확인되었고, 그것의 전체 1767 nt 게놈이 서열분석되었다(Li 등, 2012, Journal of Virology(jvi.asm.org), p. 4716). PCV2 균주 JSTZ의 게놈 및 다른 중국 PCV2 균주의 ORF에 기반한 계통발생적 분석은 PCV2 균주 JSTZ가 중국의 신규 유전자형에 속함을 시사하였다(Li 등, 2012, 상기와 동일).

[0004] Guo 등은 PMWS로 유산된 돼지 샘플에서 2008년에 회수된 PCV2b/rBDH 또는 BDH로 명명된 PCV2 변종 균주(젠뱅크 수탁 번호 HM038017)의 상대 병독성을 평가하였고, 새끼돼지에서 고전적 PCV2a 및 PCV2b 유전자형과 관련된 것보다 PCV2 변종 균주의 더 큰 병독성을 확인하였다(Guo 등, 2012, PLoS ONE(plosone.org), Vol. 7, Issue 7, e41463, 1-10). 상기 PCV2 변종 균주는 허약, 기침, 호흡곤란, 설사, 거친 모발-코팅 및 우울증을 특징으로 하는, PMWS와 양립가능한 더 중증 징후를 나타내었다. 게다가, 병리적 병변 및 바이러스혈증뿐만 아니라 림프절, 편도, 및 비장에서의 바이러스 부하는 고전적 PCV2a 및 PCV2b로 유발접종된 군에 비해 PCV2 변종 균주로 유발접종된 새끼돼지에 있어서 유의미하게 더 중증이었다. 또한, 유행하는 PCV2a 및 PCV2b 유전자형로 유발접종된 군에 비해 PCV2 변종 균주로 유발접종된 군에서 유의미하게 더 낮은 평균 1 일 체중 증가가 기록되었다(Guo 등, 2012, 상기와 동일).

[0005] 2개의 PCV2 균주, US22625-33 및 US22664-35는 미국에 위치한 생산 시스템에서 PMWS-이환 돼지의 의심되는 백신 실패 사례에서 최근에 확인되었다(Xiao 등, 2012, Journal of Virology(jvi.asm.org), Vol. 86, No. 22, p. 12469). 이들 두 미국 균주의 전체 게놈은 1767 nt로 이루어지고, 그 ORF2 유전자 크기는 일반적인 PCV2보다 1 개 아미노산이 더 긴 234 aa의 ORF2 단백질을 인코딩하는 705 nt인 것으로 나타났다. 고전적 PCV2a 및 PCV2b 균주의 ORF2의 뉴클레오타이드 서열을 이용한 계통발생적 분석은 두 미국 PCV2 균주 US22625-33 및 US22664-35가 PCV2b에 밀접하게 관련됨을 제시하였다. 고전적 PCV2b에 비해, ORF2 유전자 내의 단일 염기 결실은 ORF2 단백질의 C-말단에 단일 아미노산(라이신) 부가를 일으켰다. 추가 서열 BLAST 및 비교는 두 미국 PCV2 균주가 중국에서 확인된 PCV2 균주, BDH와 고수준의 동일성(99.9%)을 가짐을 나타내었고, 병독성이 증가된 것으로 보고되었다. ORF1에서 하나의 침묵 돌연변이(1677A→1677T)가 BDH 및 2개의 미국 변종 PCV2 간에 발견되었다. 새로운 PCV2 유전자형 정의 및 명명법 기준(Cortey, 등, 2011, Vet. Microbiol. 149:522-523; Segales, 등, 2008, Vet. Rec. 162:867-868)에 따르면, 이들 모든 신규 변종 PCV2 균주는 ORF2 유전자 뉴클레오타이드 서열의 계통발생적 분석에 기반하여 유전자형 PCV2b로 분류될 수 있었다(Xiao 등, 2012, 상기와 동일).

[0006] 새로운 PCV2b 분지형의 증가된 병독성 보고와, 미국에서 의심되는 백신 실패 사례에서의 그 존재의 측면에서, 상기 새로운 PCV2b 분지형에 대해 유효한 백신이 필요하다. 바람직하게는, 상기 백신은 다른 돼지 항원, 예컨대 마이코플라스마 하리오뉴모나에 및 PRRS 바이러스와 상용성일 것이다.

발명의 내용

[0007] 본 발명은 고병독성 돼지 쉼코바이러스 2b형(PCV2b) 분지형 균주를 포함하는 PCV2에 대해 돼지를 보호하기 위한 백신 조성물을 제공하고, 상기 조성물은 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고, 상기 ORF2 폴리펩타이드는 서열번호 1의 넘버링에 따라 위치 89에 류신(L), 위치 90에 트레오닌(T) 및 위치 134에 아스파라긴(N)을 포함한다. 일 구현예에서, 상기 조성물은 또한 고전적 PCV2a 및 PCV2b 균주에 대한 이중성 보호를 제공한다.

[0008] 일 구현예에서, 상기 조성물은 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고/하거나 발현하는 불활성화된, PCV2b 분지형 전체 바이러스 형태이다.

[0009] 또 하나의 구현예에서, 상기 조성물은 불활성화된 키메라성 바이러스 형태이고, 상기 키메라성 바이러스는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고/하거나 발현하는 불활성화된 재조합 돼지 쉼코바이러스 1형을 포함한다.

[0010] 또 하나의 구현예에서, 상기 조성물은 단리된, 재조합 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드 형태이다. 일 구현예에서, 상기 단리된, 재조합 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드는 벡터로부터 발현된다. 또 하나의 구현예에서, 상기 벡터는 배콜로바이러스 또는 파라폭스바이러스이다. 추가 구현예에서, 상기 벡터는 생 벡터 또는 불활성화된 벡터이다.

[0011] 일 구현예에서, 서열번호 1의 넘버링에 따라 위치 89에 류신(L), 위치 90에 트레오닌(T) 및 위치 134에 아스파라긴(N)을 포함하는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드에는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 하나 이상의 잔기가 추가로 포함된다: 서열번호 1의 넘버링에 따라 잔기 59에 라이신(K), 잔기 234에 라이신(K), 잔기 190에 트레오닌(T), 잔기 53에 이소류신(I), 잔기 68에 아스파라긴(N), 잔기 169에 아르기닌(R) 또는 글리신(G) 및 잔

기 215에 이소류신(I).

- [0012] 또 하나의 구현예에서, 서열번호 1의 넘버링에 따라 위치 89에 류신(L), 위치 90에 트레오닌(T) 및 위치 134에 아스파라긴(N)을 포함하는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드에는 서열번호 1의 넘버링에 따라 잔기 59에 라이신(K) 및 잔기 234에 라이신(K)이 추가로 포함된다.
- [0013] 추가 구현예에서, 서열번호 1의 넘버링에 따라 위치 89에 류신(L), 위치 90에 트레오닌(T), 위치 134에 아스파라긴(N), 잔기 59에 라이신(K) 및 잔기 234에 라이신(K)을 포함하는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드에는 서열번호 1의 넘버링에 따라 잔기 190에 트레오닌(T), 잔기 53에 이소류신(I), 잔기 68에 아스파라긴(N), 잔기 169에 아르기닌(R) 또는 글리신(G) 및 잔기 215에 이소류신(I)이 추가로 포함된다.
- [0014] 일 구현예에서, PCV2 분지형 ORF2 폴리펩타이드는 서열번호 1의 아미노산 서열 또는 이의 단편으로 나타난다.
- [0015] 또 하나의 구현예에서, PCV2 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하는 조성물에는 하나 이상의 추가의 돼지 항원이 추가로 포함된다. 일 구현예에서, 하나 이상의 추가의 항원은 미생물에 의해 야기된 돼지에서의 질환에 대해 보호한다.
- [0016] 일 구현예에서, 미생물에는 박테리아, 바이러스 또는 원생동물이 포함된다. 또 하나의 구현예에서, 미생물은 비제한적으로 하기로부터 선택된다: 돼지 생식기 및 호흡기 증후군 바이러스(PRRSV), 돼지 파코바이러스(PPV), 헤모필루스 파라수이스(*Haemophilus parasuis*), 파스튜렐라 멀토시다(*Pasteurella multocida*), 스트렙토코쿠스 수이스(*Streptococcus suis*), 스탕필로코쿠스 하이쿠스(*Staphylococcus hyicus*), 악티노바실러스 플레우로뉴모니아에(*Actinobacillus pleuropneumoniae*), 보테텔라 브론키셉티카(*Bordetella bronchiseptica*), 살모넬라 콜레라에수이스(*Salmonella choleraesuis*), 살모넬라 엔테리티디스(*Salmonella enteritidis*), 에리시펠로트릭스 루시오파티에(*Erysipelothrix rhusiopathiae*), 마이코플라스마 하이오리니스(*Mycoplasma hyorhinis*), 마이코플라스마 하이오사이노비에(*Mycoplasma hyosynoviae*), 랩토스피라 박테리아, 로소니아 인트라셀룰라리스(*Lawsonia intracellularis*), 돼지 인플루엔자 바이러스(SIV), 에스케리치아 콜라이(*Escherichia coli*) 항원, 브라키스피라 하이오다이센테리에(*Brachyspira hyodysenteriae*), 돼지 호흡기 코로나바이러스, 돼지 유행병 설사(PED) 바이러스, 로타바이러스, 토크 테노 바이러스(TTV), 돼지 사이토메갈로바이러스, 돼지 엔테로바이러스, 엔세팔로미오카디티스 바이러스, 오체스키병의 원인 병원체, 고전적 돼지열(CSF) 및 돼지 전염성 위장염의 원인 병원체, 또는 이들의 조합.
- [0017] 일부 구현예에서, 본 발명의 조성물에는 아쥬반트가 추가로 포함된다. 일 구현예에서, 아쥬반트는 비제한적으로 수중유 아쥬반트, 폴리머 및 물 아쥬반트, 유중수 아쥬반트, 알루미늄 하이드록사이드 아쥬반트, 비타민 E 아쥬반트 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 또 하나의 구현예에서, 본 발명의 조성물에는 약학적으로 허용가능한 담체가 추가로 포함된다.
- [0018] 본 발명은 또한 PCV2b 분지형 균주를 포함하는 PCV2에 대해 돼지를 면역화하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 상술된 바와 같이 본 발명의 조성물을 돼지에게 투여함을 포함한다. 상기 투여를 위한 조성물에는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드가 포함되고, 상기 ORF2 폴리펩타이드에는 서열번호 1의 넘버링에 따라 위치 89에 류신(L), 위치 90에 트레오닌(T) 및 위치 134에 아스파라긴(N)이 포함된다. 상술된 바와 같이, 상기 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드에는 하기로부터 선택되는 하나 이상의 잔기가 추가로 포함될 수 있다: 서열번호 1의 넘버링에 따라, 잔기 59에 라이신(K), 잔기 234에 라이신(K), 잔기 190에 트레오닌(T), 잔기 53에 이소류신(I), 잔기 68에 아스파라긴(N), 잔기 169에 아르기닌(R) 또는 글리신(G) 및 잔기 215에 이소류신(I).
- [0019] 일 구현예에서, 상기 투여를 위한 조성물에는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고/하거나 발현하는 바이러스가 포함된다. 또 하나의 구현예에서, 상기 투여를 위한 조성물에는 단리된, 재조합 PCV2b ORF2 폴리펩타이드가 포함된다.
- [0020] 본 발명의 방법의 일 구현예에서, 상기 조성물은 근육내, 진피내, 경피, 피하, 비강내 또는 경구, 또는 당해분야의 숙련가에게 공지된 다른 경로에 의해 투여될 수 있다. 또 하나의 구현예에서, 상기 조성물은 단일 용량으로 투여된다. 또 하나의 구현예에서, 상기 조성물은 2회 용량으로 투여된다.
- [0021] 추가 구현예에서, 상기 조성물은 PCV2에 대해 모계-유도된 항체를 갖는 돼지에게 투여된다.
- [0022] 일 구현예에서, 상기 조성물은 3 주령 이상의 돼지에게 투여된다.
- [0023] 본 발명은 키트를 추가로 제공한다. 상기 키트에는 고병독성 돼지 쉼코바이러스 2b형(PCV2b) 분지형 균주에 대해 돼지를 보호하기 위한 본 발명에 따른 백신 조성물을 포함하는 병이 포함된다. 상기 백신 조성물에는 PCV2b

분지형 ORF2 폴리펩타이드가 포함되고, 상기 ORF2 폴리펩타이드에는 서열번호 1의 넘버링에 따라 위치 89에 류신(L), 위치 90에 트레오닌(T) 및 위치 134에 아스파라긴(N)이 포함된다. 상술된 바와 같이, 상기 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드에는 하기로부터 선택되는 하나 이상의 잔기가 추가로 포함될 수 있다: 서열번호 1의 넘버링에 따라 잔기 59에 라이신(K), 잔기 234에 라이신(K), 잔기 190에 트레오닌(T), 잔기 53에 이소류신(I), 잔기 68에 아스파라긴(N), 잔기 169에 아르기닌(R) 또는 글리신(G) 및 잔기 215에 이소류신(I).

[0024] 키트의 일 구현예에서, 상기 백신 조성물은 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고/하거나 발현하는 바이러스 형태이다. 키트의 또 하나의 구현예에서, 상기 백신 조성물은 단리된, 재조합 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드 형태이다.

[0025] 키트의 일 구현예에서, 병 안의 백신 조성물은 사용 준비된 액체 조성물로 제공된다. 키트의 또 하나의 구현예에서, 병 안의 백신 조성물은 동결건조된 형태로 제공된다. 추가 구현예에서, 상기 키트에는 희석제가 포함될 수 있다. 또 하나의 구현예에서, 상기 키트에는 백신 조성물을 투여하기 위한 정보를 함유하는 설명 매뉴얼이 추가로 포함될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 "PCV2B-DIV-MUT"로 명명된 PCV2b 분지형 균주의 캡시드 서열 및 고전적 PCV2A 균주(ISU-40895로 명명됨) 및 고전적 PCV2b 균주(NMB로 명명됨)의 서열 간 아미노산 서열 정렬을 나타낸다.

도 2는 치료일 별 DNA 카피의 기하 최소 제공 평균을 나타내는 그래프이다. *모든 "0"은 그래프화 목적으로 1로 변환되었다.

도 3은 유발접종 후 치료일 별 대변 박리(DNA 카피)의 기하 최소 제공 평균을 나타내는 그래프이다. *모든 "0"은 그래프화 목적으로 1로 변환되었다.

도 4는 치료일 및 치료 별 PCV2 ELISA S/P LS 평균 역가를 나타내는 그래프이다.

도 5는 치료일 별 DNA 카피의 역변환 기하 최소 제공 평균의 그래프이다.

도 6은 유발접종 후 치료일 별 대변 박리(DNA 카피)의 역변환 기하 최소 제공 평균의 그래프이다.

도 7은 연구일 별 PCV2 ELISA S/P LS 평균 역가를 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] 서열의 간단한 설명

[0028] 본원에서 사용된 바와 같이, 서열번호 1 내지 57 및 66으로 나타내는 PCV2 단리체는 PCV2b 분지형 균주의 대표 예이다.

[0029] 서열번호 1은 본원에서 PCV2B-DIV-MUT로 명명된 PCV2b 분지형 균주의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.

[0030] 서열번호 2는 본원에서 PCV2B-DIV-MUT로 명명된 PCV2b 분지형 균주의 전장 캡시드에 대응하는 뉴클레오타이드 서열이다.

[0031] 서열번호 3은 젠뱅크 수탁 번호 AB462384를 갖는 PCV2 균주: 798-1의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.

[0032] 서열번호 4는 젠뱅크 수탁 번호 AB462384를 갖는 PCV2 균주: 798-1의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.

[0033] 서열번호 5는 젠뱅크 수탁 번호 DQ231516을 갖는 PCV2 균주: FF의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.

[0034] 서열번호 6은 젠뱅크 수탁 번호 DQ231516을 갖는 PCV2 균주: FF의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.

[0035] 서열번호 7은 젠뱅크 수탁 번호 EF990645를 갖는 PCV2 균주: VC 2002-k2의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.

[0036] 서열번호 8은 젠뱅크 수탁 번호 EF990645를 갖는 PCV2 균주: VC 2002-k2의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오

타이드 서열이다.

- [0037] 서열번호 9는 젠뱅크 수탁 번호 GQ845025를 갖는 PCV2 균주: GY09의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0038] 서열번호 10은 젠뱅크 수탁 번호 GQ845025를 갖는 PCV2 균주: GY09의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0039] 서열번호 11은 젠뱅크 수탁 번호 GQ845028을 갖는 PCV2 균주: XS09의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0040] 서열번호 12는 젠뱅크 수탁 번호 GQ845028을 갖는 PCV2 균주: XS09의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0041] 서열번호 13은 젠뱅크 수탁 번호 HM535640을 갖는 PCV2 단리체: SD1d01의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0042] 서열번호 14는 젠뱅크 수탁 번호 HM535640을 갖는 PCV2 단리체: SD1d01의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0043] 서열번호 15는 젠뱅크 수탁 번호 HM755880을 갖는 PCV2 단리체: SD1d02의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0044] 서열번호 16은 젠뱅크 수탁 번호 HM755880을 갖는 PCV2 단리체: SD1d02의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0045] 서열번호 17은 젠뱅크 수탁 번호 HM755881을 갖는 PCV2 단리체: HM01의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0046] 서열번호 18은 젠뱅크 수탁 번호 HM755881을 갖는 PCV2 단리체: HM01의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0047] 서열번호 19는 젠뱅크 수탁 번호 HQ378157을 갖는 PCV2 균주: NIVS-1의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0048] 서열번호 20은 젠뱅크 수탁 번호 HQ378157을 갖는 PCV2 균주: NIVS-1의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0049] 서열번호 21은 젠뱅크 수탁 번호 JF683394를 갖는 PCV2 단리체: C/2010-2*의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0050] 서열번호 22는 젠뱅크 수탁 번호 JF683394를 갖는 PCV2 단리체: C/2010-2*의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0051] 서열번호 23은 젠뱅크 수탁 번호 JF683408을 갖는 PCV2 단리체: G/2009-2의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0052] 서열번호 24는 젠뱅크 수탁 번호 JF683408을 갖는 PCV2 단리체: G/2009-2의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0053] 서열번호 25는 젠뱅크 수탁 번호 JF927984를 갖는 PCV2 단리체: I/2010의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0054] 서열번호 26은 젠뱅크 수탁 번호 JF927984를 갖는 PCV2 단리체: I/2010의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0055] 서열번호 27은 젠뱅크 수탁 번호 JF927985를 갖는 PCV2 단리체: J/2010의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0056] 서열번호 28은 젠뱅크 수탁 번호 JF927985를 갖는 PCV2 단리체: J/2010의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0057] 서열번호 29는 젠뱅크 수탁 번호 JF927986을 갖는 PCV2 단리체: K/2010의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서

열이다.

- [0058] 서열번호 30은 젠뱅크 수탁 번호 JF927986을 갖는 PCV2 단리체: K/2010의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0059] 서열번호 31은 젠뱅크 수탁 번호 JF927988을 갖는 PCV2 단리체: M/2010의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0060] 서열번호 32는 젠뱅크 수탁 번호 JF927988을 갖는 PCV2 단리체: M/2010의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0061] 서열번호 33은 젠뱅크 수탁 번호 JN006445를 갖는 PCV2 단리체: WB/ROM89의 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0062] 서열번호 34는 젠뱅크 수탁 번호 JN006445를 갖는 PCV2 단리체: WB/ROM89의 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0063] 서열번호 35는 젠뱅크 수탁 번호 JN382188을 갖는 PCV2 단리체: EU-R0-F4-3의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0064] 서열번호 36은 젠뱅크 수탁 번호 JN382188을 갖는 PCV2 단리체: EU-R0-F4-3의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0065] 서열번호 37은 젠뱅크 수탁 번호 JN411096을 갖는 PCV2 단리체: HNing09의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0066] 서열번호 38은 젠뱅크 수탁 번호 JN411096을 갖는 PCV2 단리체: HNing09의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0067] 서열번호 39는 젠뱅크 수탁 번호 JN411099를 갖는 PCV2 단리체: YWu09의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0068] 서열번호 40은 젠뱅크 수탁 번호 JN411099를 갖는 PCV2 단리체: YWu09의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0069] 서열번호 41은 젠뱅크 수탁 번호 JX984586을 갖는 PCV2 단리체: CH-IVT4의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0070] 서열번호 42는 젠뱅크 수탁 번호 JX984586을 갖는 PCV2 단리체: CH-IVT4의 전장 캡시드 유전자의 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0071] 서열번호 43은 젠뱅크 수탁 번호 JX984588을 갖는 PCV2 단리체: CH-IVT6의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0072] 서열번호 44는 젠뱅크 수탁 번호 JX984588을 갖는 PCV2 단리체: CH-IVT6의 전장 캡시드 유전자의 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0073] 서열번호 45는 젠뱅크 수탁 번호 JX984589를 갖는 PCV2 단리체: CH-IVT7의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0074] 서열번호 46은 젠뱅크 수탁 번호 JX984589를 갖는 PCV2 단리체: CH-IVT7의 전장 캡시드 유전자의 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0075] 서열번호 47은 젠뱅크 수탁 번호 JX984590을 갖는 PCV2 단리체의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0076] 서열번호 48은 젠뱅크 수탁 번호 JX984590을 갖는 PCV2 단리체의 전장 캡시드 유전자의 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0077] 서열번호 49는 젠뱅크 수탁 번호 JX984591을 갖는 PCV2 단리체: CH-IVT9의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0078] 서열번호 50은 젠뱅크 수탁 번호 JX984591을 갖는 PCV2 단리체: CH-IVT9의 전장 캡시드 유전자의 뉴클레오타이드 서열이다.

- [0079] 서열번호 51은 젠뱅크 수탁 번호 JX984592를 갖는 PCV2 단리체: CH-IVT10의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0080] 서열번호 52는 젠뱅크 수탁 번호 JX984592를 갖는 PCV2 단리체: CH-IVT10의 전장 캡시드 유전자의 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0081] 서열번호 53은 젠뱅크 수탁 번호 JX984593을 갖는 PCV2 단리체: CH-IVT11의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0082] 서열번호 54는 젠뱅크 수탁 번호 JX984593을 갖는 PCV2 단리체: CH-IVT11의 전장 캡시드 유전자의 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0083] 서열번호 55는 젠뱅크 수탁 번호 JX519293을 갖는 PCV2 단리체: GDYX의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0084] 서열번호 56은 젠뱅크 수탁 번호 JX519293을 갖는 PCV2 단리체: GDYX의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0085] 서열번호 57은 젠뱅크 수탁 번호 JX519293을 갖는 PCV2 단리체: GDYX의 전체 게놈 서열이다.
- [0086] 서열번호 58은 젠뱅크 수탁 번호 AF264042를 갖는 고전적 PCV2a 단리체: ISU-40895의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0087] 서열번호 59는 젠뱅크 수탁 번호 AF264042를 갖는 고전적 PCV2a 단리체: ISU-40895의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0088] 서열번호 60은 젠뱅크 수탁 번호 AF055392를 갖는 고전적 PCV2a 단리체: Imp.1010-Stoon의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0089] 서열번호 61은 젠뱅크 수탁 번호 AF055392를 갖는 고전적 PCV2a 단리체: Imp.1010-Stoon의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0090] 서열번호 62는 젠뱅크 수탁 번호 GU799576을 갖는 고전적 PCV2b 균주: NMB의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0091] 서열번호 63은 젠뱅크 수탁 번호 GU799576을 갖는 고전적 PCV2b 단리체: NMB의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0092] 서열번호 64는 젠뱅크 수탁 번호 EU148503을 갖는 고전적 PCV2c 균주: DK1980PMWSfree의 전장 캡시드에 대응하는 아미노산 서열이다.
- [0093] 서열번호 65는 젠뱅크 수탁 번호 EU148503을 갖는 고전적 PCV2c 균주: DK1980PMWSfree의 전장 캡시드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0094] 서열번호 66은 "PCV2b-DIV-MUT"로 명명된 PCV2 분지형의 전체 게놈 서열이다.
- [0095] **발명의 상세한 설명**
- [0096] 명세서 및 청구범위에서 사용된 바와 같이, 맥락 상 명확히 달리 나타내지 않는 한, 단수 형태에는 복수의 참조물이 포함된다. 예를 들면, 용어 "단백질 항원"에는 이들의 혼합물을 포함하는 복수의 단백질 항원이 포함된다.
- [0097] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "포함하는"은 조성물 및 방법에 인용된 요소가 포함되지만 다른 요소를 배제하지 않음을 의미하려는 것이다.
- [0098] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어들 "PCV2b 분지형 균주", "PCV2b 분지형", "PCV2 변종", "신규한 변종 PCV2", "변종 PCV2" 등은 서열번호 1의 넘버링에 따라 위치 89에 류신(L), 위치 90에 트레오닌(T) 및 위치 134에 아스파라긴(N)을 포함하는 ORF2 캡시드 폴리펩타이드를 인코딩하는 고병원성 PCV2b 균주를 나타낸다. 인코딩된 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드에는 하기로부터 선택되는 하나 이상의 잔기가 추가로 포함될 수 있다: 서열번호 1의 넘버링에 따라 잔기 59에 라이신(K), 잔기 234에 라이신(K), 잔기 190에 트레오닌(T), 잔기 53에 이소류신(I), 잔기 68에 아스파라긴(N), 잔기 169에 아르기닌(R) 또는 글리신(G) 및 잔기 215에 이소류신(I).
- [0099] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드"는 ORF2 폴리펩타이드가 바이러스 성분 자

체(예를 들면, 바이러스의 단백질 피막)이도록 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고/하거나 발현하는 바이러스를 포함하려는 것이다. 바이러스는 PCV일 수 있지만, 여기에 제한되는 것으로 간주되어서는 안 되고, 다른 바이러스가 포함될 수 있다. 상기 용어는 또한 단리된, 제조함 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하려는 것이다.

[0100] 용어 "항원"은 동물 내로 주사되거나 흡수되는 조성을 포함하는, 동물에서 항체 또는 T-세포 반응, 또는 둘 모두의 생산을 자극할 수 있는 화합물, 조성물, 또는 면역원성 물질을 나타낸다. 면역 반응은 전체 분자, 또는 분자의 일부(예를 들면, 에피토프 또는 합텐)에 대해 산출될 수 있다. 용어 "항원"에는 전체 바이러스, 폴리펩타이드 또는 이의 단편이 포함될 수 있다.

[0101] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "백신 조성물"에는 숙주에서 면역 반응을 유도하기 유용한 약학적으로 허용가능한 비히클 중 하나 이상의 항원 또는 면역원이 포함된다. 백신 조성물은 고려 인자, 예컨대 수령체 동물의 연령, 성별, 체중, 종 및 병태, 및 투여 경로를 고려하여, 의학 또는 수의학 분야에서 숙련가들에게 잘 알려진 기술에 의해 그러한 투여량으로 투여될 수 있다. 투여 경로는 점막 투여(예를 들면, 구강, 코, 항문, 질)를 통한 경피 또는 비경구 경로(진피내, 경피, 근육내, 피하, 정맥내 또는 복강내)를 통할 수 있다. 백신 조성물은 단독으로 투여될 수 있고, 또는 다른 치료 또는 요법과 공동-투여되거나 순차적으로 투여될 수 있다. 투여 형태에는 현탁액, 시럽 또는 엘릭시르, 및 비경구, 피하, 진피내, 근육내 또는 정맥내 투여(예를 들면, 주사형 투여)용 제제, 예컨대 멸균된 현탁액 또는 에멀전이 포함될 수 있다. 백신 조성물은 스프레이로 투여될 수도 있거나, 음식 및/또는 수중에 혼합될 수도 있거나, 적합한 담체, 희석제 또는 부형제, 예컨대 멸균수, 생리 식염수, 글루코스 등과의 혼합물로 전달될 수도 있다. 조성물은 투여 경로 및 원하는 제제에 따라, 보조 물질, 예컨대 수화제 또는 유화제, pH 완충제, 아췌반트, 겔화 또는 점도 증대 첨가제, 보존제, 풍미제, 착색제 등을 함유할 수 있다. 과도한 실험과정 없이 적합한 제제를 제조하기 위해 표준 약학 텍스트(예컨대, ["Remington's Pharmaceutical Sciences"(1990)])를 참고할 수 있다.

[0102] 본원에서 정의된 바와 같이, "면역원성 또는 면역학적 조성물"은 관심 조성물 또는 백신으로 세포성 및/또는 항체-매개된 면역 반응의 숙주 내 면역학적 반응을 일으키는 하나 이상의 항원을 포함하는 해당 조성물을 나타낸다.

[0103] 용어 "면역 반응"은 본원에서 사용된 바와 같이 동물에서 유발된 반응을 나타낸다. 면역 반응은 세포성 면역(CMI), 체액성 면역을 나타낼 수도 있고, 둘 다가 관여될 수도 있다. 본 발명은 면역계 일부에 제한된 반응도 고려한다. 보통, "면역학적 반응"에는 비제한적으로 하기 효과 중 하나 이상이 포함된다: 관심 조성물 또는 백신에 포함된 항원 또는 항원들에 특이적으로 유도된 항체, B 세포, 헬퍼 T 세포, 억제 T 세포, 및/또는 세포독성 T 세포 및/또는 yδ T 세포의 생산 또는 활성화. 바람직하게는, 숙주는 새로운 감염에 대한 내성이 증대되고/되거나 질환의 임상적 중증도가 감소되도록 치료성 또는 보호성 면역학적 반응을 나타낼 것이다. 그와 같은 보호는 보통 감염된 숙주에 의해 나타나는 증상의 감소 또는 부재, 더 빠른 회복 시간 및/또는 감염된 숙주에서 낮아진 바이러스 역가에 의해 실증될 것이다.

[0104] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "면역원성"은 항원 또는 항원들에 대해 숙주 동물에서 면역 반응을 일으킬 수 있음을 의미한다. 상기 면역 반응은 특정한 감염성 유기체에 대해 백신에 의해 유발된 보호성 면역의 기반을 형성한다.

[0105] "아췌반트"는 본원에서 사용된 바와 같이 항원(들)에 대한 면역 반응을 증대시키는 하나 이상의 물질로 이루어진 조성물을 의미한다. 아췌반트가 어떻게 작동하는지에 대한 기전은 전적으로 공지되어 있지는 않다. 일부 아췌반트는 항원을 서서히 방출함으로써 면역 반응을 증대시키는 것으로 여겨지는 반면, 다른 아췌반트는 이들 자체가 강하게 면역원성이고, 상승적으로 기능하는 것으로 여겨진다.

[0106] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "다가"는 동일한 미생물 종(예를 들면, 마이코플라스마 하이오뉴모니아 또는 PCV의 상이한 단리체)으로부터든지, 상이한 종(예를 들면, 파스튜렐라 헤모라이티카 및 파스튜렐라 멀토시다 둘 다로부터의 단리체)으로부터든지, 1개 초과 항원을 함유하는 백신, 또는 상이한 숙주로부터의 항원 조합을 함유하는 백신(예를 들면, 파스튜렐라 멀토시다, 살모넬라, 에스케리치아 콜라이, 헤모필루스 슘누스 및 클로스트리듐으로부터의 항원을 포함하는 백신)을 의미한다.

[0107] 용어 "돼지" 또는 "새끼돼지"는 본원에서 사용된 바와 같이 돼지 기원의 동물을 나타내는 반면, "암돼지"는 생식 연령이고 생식 능력이 있는 암컷 돼지를 나타낸다. "어린 암돼지"는 임신한 적이 없는 암컷 돼지이다.

[0108] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "병독성"은 동물 숙주에서 감염성이 되는 그 능력을 보유하고 숙주 동물에서

질환을 야기할 수 있는 단리체를 의미한다.

- [0109] "불활성화된 백신"은 더 이상 복제 또는 성장할 수 없는 감염성 유기체 또는 병원체를 함유하는 백신 조성물을 의미한다. 병원체는 박테리아, 바이러스, 원생동물 또는 진균 기원일 수 있다. 불활성화는 냉동-해동, 화학적 처리(예를 들면, β -프로피오락톤(BPL) 또는 포르말린 처리), 초음파처리, 방사선, 열, 또는 그 면역원성을 유지하면서 유기체의 복제 또는 성장을 방지하기 충분한 임의의 다른 통상적 수단을 포함하는 다양한 방법에 의해 달성될 수 있다.
- [0110] 용어 "변이체"는 본원에서 사용된 바와 같이 대응하는 폴리펩타이드가 야생형 폴리펩타이드에 비교되는 경우 실질적으로 동등한 기능을 갖도록 하나 이상의 보존적 아미노산 변화 또는 다른 소소한 변형을 갖는 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드를 인코딩하는 핵산 서열을 나타낸다. 용어 "변이체"는 또한 상기 변화 또는 변형을 갖는 폴리펩타이드 또는 핵산 서열을 포함하는 미생물도 나타낼 수 있다.
- [0111] "보존적 변화"는 인코딩된 아미노산 잔기가 변화하지 않거나 또 하나의 생물학적으로 유사한 잔기이도록 하는 아미노산 잔기의 또 하나의 생물학적으로 유사한 잔기에 의한 대체 또는 핵산 서열 내 뉴클레오타이드의 대체를 나타낸다. 보존적 변화의 예에는 하나의 소수성 잔기, 예컨대 이소류신, 발린, 류신 또는 메티오닌의 또 하나의 소수성 잔기에 대한 치환, 또는 하나의 극성 잔기의 또 하나의 극성 잔기로의 치환, 예컨대 라이신에 대한 아르기닌의, 아스파르트산에 대한 글루탐산의, 또는 아스파라긴에 대한 글루타민의 치환 등이 포함된다. 용어 "보존적 변화"에는 또한 치환된 폴리펩타이드에 대해 생성된 항체가 모(치환되지 않은) 폴리펩타이드와 또한 면역반응하는 한, 모 아미노산 대신 치환된 아미노산이 포함된다.
- [0112] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어들 "약학적으로 허용가능한 담체" 및 "약학적으로 허용가능한 비히클"은 상호 교환가능하고, 역효과 없이 숙주 내로 주사될 수 있는 백신 항원을 함유하기 위한 유체 비히클을 나타낸다. 당해분야에 공지된 적합한 약학적으로 허용가능한 담체에는 비제한적으로 멸균수, 식염수, 글루코스, 텍스트로스, 또는 완충 용액이 포함된다. 담체에는 비제한적으로, 희석제, 안정제(즉, 당 및 아미노산), 보존제, 수화제, 유화제, pH 완충제, 점도 증대 첨가제, 착색 첨가제 등을 포함하는 보조제가 포함될 수 있다.
- [0113] "북미 PRRS 바이러스"는 북미 PRRS 바이러스 단리체에 관련된 유전적 특성을 가지는 임의의 PRRS 바이러스, 예컨대 비제한적으로 1990년대 초에 미국에서 최초로 단리된 PRRS 바이러스(예를 들면, Collins, J. E., 등, 1992, J. Vet. Diagn. Invest. 4:117-126 참고); 북미 PRRS 바이러스 단리체 MN-1b(Kwang, J. 등, 1994, J. Vet. Diagn. Invest. 6:293-296); PRRS 바이러스의 퀵백 LAF-exp91 균주(Mardassi, H. 등, 1995, Arch. Virol. 140:1405-1418); 및 북미 PRRS 바이러스 단리체 VR 2385(Meng, X.-J 등, 1994, J. Gen. Virol. 75:1795-1801)를 의미한다. 북미 PRRS 바이러스 균주의 추가 예는 당해분야에 공지되어 있다. 유전적 특성은 북미 PRRS 바이러스 균주에 의해 공유되는 게놈 뉴클레오타이드 서열 유사성 및 아미노산 서열 유사성을 나타낸다. 중국 PRRS 바이러스 균주는 일반적으로 북미 균주와 약 80 내지 93% 뉴클레오타이드 서열 유사성을 보인다.
- [0114] "유럽 PRRS 바이러스"는 1991년 경에 유럽에서 최초로 단리된 PRRS 바이러스에 관련된 유전적 특성을 가지는 임의의 PRRS 바이러스 균주를 나타낸다(예를 들면, Wensvoort, G., 등, 1991, Vet. Q. 13:121-130 참고). "유럽 PRRS 바이러스"는 때때로 당해분야에서 "Lelystad 바이러스"로도 불린다. 유럽 PRRS 바이러스 균주의 추가 예는 당해분야에 공지되어 있다.
- [0115] 본원에서 사용된 바와 같이, 유전적으로 개질된 바이러스는 그 변형되지 않은 모계 균주보다 병독성이 적은 경우, "약독화된다". 균주는 이것이 질환 중증도를 결정하는 하나 이상의 파라미터에서 통계적으로 유의미한 감소를 나타내는 경우 "병독성이 더 적다". 그와 같은 파라미터에는 바이러스혈증 수준, 열, 호흡 곤란의 중증도, 생식기 증상의 중증도, 또는 병리적 병변의 수 또는 중증도 등이 포함될 수 있다.
- [0116] "감염성 클론"은 실험실에서 특이적으로 목적을 위해 변형된 다음 살아있는 유전적으로-변형된 유기체를 재생성하기 위해 사용될 수 있는 질환 제제(예를 들면, 바이러스)의 단리된 또는 클로닝된 게놈이다. 감염성 클론으로부터 생산된 살아있는 유전적으로-변형된 바이러스는 바이러스 생 백신에서 이용될 수 있다. 대안적으로, 불활성화된 바이러스 백신은 감염성 클론으로부터 유도된 살아있는 바이러스를 불활성화제, 예컨대 포르말린, 베타-프로피오락톤, 2원 에틸렌에민 또는 소수성 용매, 산 등의 처리에 의해, 자외선 또는 X-선의 조사에 의해, 가열에 의해 등으로 제조될 수 있다.
- [0117] 본 발명은 고병독성 돼지 쉼코바이러스 2b형(PCV2b) 분지형 균주를 포함하는 PCV2에 대해 돼지를 보호하기 위한 백신 조성물을 제공하고, 상기 조성물은 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고, 상기 ORF2 폴리펩타이드

는 서열번호 1의 넘버링에 따라 위치 89에 류신(L), 위치 90에 트레오닌(T) 및 위치 134에 아스파라긴(N)을 포함한다. 상술된 바와 같이, 상기 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드에는 하기로부터 선택되는 하나 이상의 잔기가 추가로 포함될 수 있다: 서열번호 1의 넘버링에 따라 잔기 59에 라이신(K), 잔기 234에 라이신(K), 잔기 190에 트레오닌(T), 잔기 53에 이소류신(I), 잔기 68에 아스파라긴(N), 잔기 169에 아르기닌(R) 또는 글리신(G) 및 잔기 215에 이소류신(I).

[0118] 일 구현예에서, 서열번호 1의 넘버링에 따라 위치 89에 류신(L), 위치 90에 트레오닌(T) 및 위치 134에 아스파라긴(N)을 포함하는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드에는 서열번호 1의 넘버링에 따라 잔기 59에 라이신(K) 및 잔기 234에 라이신(K)이 추가로 포함된다.

[0119] 추가 구현예에서, 서열번호 1의 넘버링에 따라 위치 89에 류신(L), 위치 90에 트레오닌(T), 위치 134에 아스파라긴(N), 잔기 59에 라이신(K) 및 잔기 234에 라이신(K)을 포함하는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드에는 서열번호 1의 넘버링에 따라 잔기 190에 트레오닌(T), 잔기 53에 이소류신(I), 잔기 68에 아스파라긴(N), 잔기 169에 아르기닌(R) 또는 글리신(G) 및 잔기 215에 이소류신(I)이 추가로 포함된다.

[0120] 일 구현예에서, PCV2 분지형 ORF2 폴리펩타이드는 서열번호 1의 아미노산 서열 또는 이의 단편으로 나타난다. 그러나, 본 발명이 상기 구현예에 제한되는 것은 아니다. 예를 들면, 다른 구현예에서, PCV2 분지형 ORF2 폴리펩타이드는 비제한적으로 서열번호 3의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 5의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 7의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 9의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 11의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 13의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 13의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 15의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 17의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 19의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 21의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 23의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 25의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 27의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 29의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 31의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 33의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 35의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 37의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 39의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 41의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 43의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 45의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 47의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 49의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 51의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 서열번호 53의 아미노산 서열 또는 이의 단편, 및 서열번호 55의 아미노산 서열 또는 이의 단편으로부터 선택될 수 있다.

[0121] 일 구현예에서, 본 발명의 백신 조성물에는 하나 이상의 추가의 항원이 포함된다. 일 구현예에서, 하나 이상의 추가의 항원은 미생물에 의해 야기된 돼지에서의 질환에 대해 보호성이다.

[0122] 일부 구현예에서, 하나 이상의 추가의 항원 성분은 돼지를 감염시키는 것으로 공지된 박테리아, 바이러스 또는 원생동물에 의해 야기된 돼지에서의 질환에 대해 보호성이다. 그와 같은 미생물의 예에는 비제한적으로 하기가 포함된다: 마이코플라스마 하이오뉴모니에, 돼지 생식기 및 호흡기 증후군 바이러스(PRRSV), 돼지 파코바이러스(PPV), 헤모필루스 파라수이스, 파스튜렐라 멀토시다, 스트렙토코쿠스 수이스, 스태필로코쿠스 하이쿠스, 악티노바실러스 플레우로뉴모니에, 보테텔라 브론키셉티카, 살모넬라 콜레라에수이스, 살모넬라 엔테리티디스, 에리시펠로트릭스 루시오파티에, 마이코플라스마 하이오리니스, 마이코플라스마 하이오사이노비에, 랩토스피라 박테리아, 로소니아 인트라셀룰라리스, 돼지 인플루엔자 바이러스(SIV), 에스케리치아 콜라이 항원, 브라키스피라 하이오다이센테리애, 돼지 호흡기 코로나바이러스, 돼지 유행병 설사(PED) 바이러스, 돼지 로타바이러스(예를 들면, 그룹 A, B 및 C), 토크 테노 바이러스(TTV), 돼지 사이토메갈로바이러스, 돼지 엔테로바이러스, 엔세팔로미오카디티스 바이러스, 오제스키병의 원인이 되는 병원체, 고전적 돼지열(CSF), 돼지 전염성 위장염의 원인이 되는 병원체, 또는 이들의 조합.

[0123] 일 구현예에서, 하나 이상의 추가의 항원은 마이코플라스마 하이오뉴모니에이다. 또 하나의 구현예에서, 하나 이상의 추가의 항원은 PRRS 바이러스, 예컨대 북미 PRRS 바이러스 균주, 중국 PRRS 바이러스 균주 또는 유럽 PRRS 바이러스 균주이다. 또한, 하나 이상의 추가의 항원이 PCV2의 상이한 단리체, 예컨대 고전적 PCV2a 균주, 고전적 PCV2b 균주, 또는 다른 PCV2 유전자형일 수 있음이 이해된다.

[0124] 일 구현예에서, 상기 조성물은 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고/하거나 발현하는 불활성화된, PCV2b 분지형 전체 바이러스 형태이다.

[0125] 일 구현예에서, PCV2b 분지형 전체 바이러스의 ORF2 캡시드 유전자는 서열번호 2에 대응한다. 추가 구현예에서,

PCV2b 분지형 전체 바이러스에 의해 발현되는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드의 아미노산 서열은 서열번호 1 또는 이의 단편에 대응한다. 그러나, 본 발명은 이들 구현예에 제한되는 것은 아니다. 예를 들면 일부 구현예에서, PCV2b 분지형 전체 바이러스에 의해 발현된 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드는 임의의 하기 서열 또는 이의 단편으로부터 선택될 수 있다: 서열번호 3, 서열번호 5, 서열번호 7, 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 13, 서열번호 15, 서열번호 17, 서열번호 19, 서열번호 21, 서열번호 23, 서열번호 25, 서열번호 27, 서열번호 29, 서열번호 31, 서열번호 33, 서열번호 35, 서열번호 37, 서열번호 39, 서열번호 41, 서열번호 43, 서열번호 45, 서열번호 47, 서열번호 49, 서열번호 51, 서열번호 53 또는 서열번호 55. 대응하는 ORF2 유전자 서열이 본원에 기재된다.

[0126] 또 하나의 구현예에서, 상기 조성물은 불활성화된 키메라성 바이러스 형태이고, 상기 키메라성 바이러스는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고/하거나 발현하는 불활성화된 재조합 돼지 쉼코바이러스 1형(키메라성 PCV1-2b 바이러스)을 포함한다. 키메라성 돼지 쉼코바이러스 및 이의 제조 방법은 WO 03/049703 A2에, 그리고, 또한 미국 특허 번호 7,279,166 및 7,575,752에 기재되고, 이들은 본원에 그 전체가 참조로 편입된다.

[0127] 일 구현예에서, 키메라성 PCV1-2 바이러스의 ORF2 캡시드 유전자는 서열번호 2에 대응한다. 추가 구현예에서, 키메라성 PCV1-2b 바이러스에 의해 발현되는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드의 아미노산 서열은 서열번호 1 또는 이의 단편에 대응한다. 그러나, 본 발명은 이들 구현예에 제한되는 것은 아니다. 예를 들면, 일부 구현예에서, 키메라성 PCV1-2b 바이러스에 의해 발현되는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드는 임의의 하기 서열 또는 이의 단편으로부터 선택될 수 있다: 서열번호 3, 서열번호 5, 서열번호 7, 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 13, 서열번호 15, 서열번호 17, 서열번호 19, 서열번호 21, 서열번호 23, 서열번호 25, 서열번호 27, 서열번호 29, 서열번호 31, 서열번호 33, 서열번호 35, 서열번호 37, 서열번호 39, 서열번호 41, 서열번호 43, 서열번호 45, 서열번호 47, 서열번호 49, 서열번호 51, 서열번호 53 또는 서열번호 55.

[0128] 또 하나의 구현예에서, 상기 조성물은 단리된, 재조합 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드 형태이다. 일 구현예에서, 단리된, 재조합 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드는 벡터, 예컨대 배콜로바이러스로부터 발현된다. 대안적으로, 예컨대 비제한적으로 파라독스 벡터를 포함하는 다른 공지된 발현 벡터가 사용될 수 있다. 일 구현예에서, 상기 벡터는 생 벡터 또는 불활성화된 벡터일 수 있다.

[0129] 추가 구현예에서, 재조합으로-발현된 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드는 서열번호 1 또는 이의 단편에 대응한다. 대안적으로 일부 구현예에서, 재조합으로-발현된 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드는 임의의 하기 서열 또는 이의 단편으로부터 선택될 수 있다: 서열번호 3, 서열번호 5, 서열번호 7, 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 13, 서열번호 15, 서열번호 17, 서열번호 19, 서열번호 21, 서열번호 23, 서열번호 25, 서열번호 27, 서열번호 29, 서열번호 31, 서열번호 33, 서열번호 35, 서열번호 37, 서열번호 39, 서열번호 41, 서열번호 43, 서열번호 45, 서열번호 47, 서열번호 49, 서열번호 51, 서열번호 53 또는 서열번호 55.

[0130] 일부 형태에서, PCV2 분지형 ORF2 단백질의 면역원성 부분이 조성물 중 항원성 성분으로 사용된다. 예를 들면, PCV2 분지형 ORF2 단백질의 끝이 잘린 및/또는 치환된 형태 또는 단편이 본 발명의 조성물에서 이용될 수 있다.

[0131] 당해분야의 숙련자에게는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드의 변이체가 이것을 본 발명의 백신 조성물에서 유용하게 만드는 항원성 특성을 여전히 보유하는 한, 본 발명의 조성물에서 이용될 수 있음이 이해된다. 바람직하게는, PCV2b 분지형 변이체는 PCV2B-DIV-MUT로 명명된 PCV2 단리체의 전장 게놈 서열과 80% 이상, 바람직하게는 85% 이상, 더 바람직하게는 90% 이상, 더욱더 바람직하게는 95% 이상 서열 동일성을 갖는다. 면역학적 조성물의 항원성 특성은, 예를 들면 실시예에서 제공된 바와 같이 유발접종 실험에 의해 추정될 수 있다. 게다가, 변형된 PCV2b 분지형 ORF2 항원의 항원성 특징은 변형된 항원이 서열번호 1을 갖는 야생형 PCV2b 분지형 ORF2 단백질에 비해 적어도 70%, 바람직하게는 80%, 더 바람직하게는 90%의 보호성 면역을 부여하는 경우 여전히 보유된다.

[0132] PCV2b 분지형 ORF2 항원 성분은 원하는 면역 반응, 즉 그 예가 본원에서 PCV2B-DIV-MUT로 명명된 바이러스인 고 병독성 PCV2b 균주의 감염으로 생성된 임상 징후의 발생률 감소 또는 중증도 경감을 유도하기 효과적인 항원 편입 수준으로 면역원성/백신 조성물 중에 제공된다. 일부 구현예에서, 조성물은 또한 고전적 PCV2a 및 PCV2b 균주에 대해 이중성 보호를 제공한다.

[0133] 일 구현예에서, 본 발명에 따른 백신 조성물은 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고/포함하거나 발현하는 불활성화된 재조합 돼지 쉼코바이러스 1형(키메라성 PCV1-2bDIV 바이러스) 형태이다. 상기 키메라성 바이러스는 적어도 $1.0 \leq RP \leq 5.0$ 의 수준으로 본 발명의 조성물에 포함되고, 여기서 RP는 참조 백신 대비 ELISA 항원 정량(시험관내 역가 시험)에 의해 결정된 상대 역가 단위이다. 또 하나의 구현예에서, 키메라성 PCV1-2bDIV

바이러스는 20-배(20X) 농축된 벌크 PCV1-2bDIV 항원의 약 0.5% 내지 약 5%의 최종 농도로 본 발명의 조성물에 포함된다.

[0134] 또 하나의 구현예에서, 본 발명에 따른 백신 조성물은 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고/포함하거나 발현하는 불활성화된 PCV2b 분지형 전체 바이러스 형태이다. 상기 바이러스는 적어도 $1.0 \leq RP \leq 5.0$ 의 수준으로 본 발명의 조성물에 포함되고, 여기서 RP는 참조 백신 대비 ELISA 항원 정량(시험관내 역가 시험)에 의해 결정된 상대 역가 단위이다. 또 하나의 구현예에서, 불활성화된 PCV2b 분지형 전체 바이러스는 20-배(20X) 농축된 벌크 PCV2b 분지형 ORF2 항원의 약 0.5% 내지 약 5%의 최종 농도로 본 발명의 조성물에 포함된다.

[0135] 또 하나의 구현예에서, 본 발명에 따른 백신 조성물은 단리된, 재조합 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드 형태이다. PCV2b 분지형 ORF2 재조합 단백질은 최종 면역원성/백신 조성물($\mu\text{g/mL}$)의 적어도 $0.2 \mu\text{g}$ 항원/mL 수준으로 본 발명의 조성물에 포함될 수 있다. 추가 구현예에서, 재조합 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드 편입 수준은 약 0.2 내지 약 $400 \mu\text{g/mL}$ 이다. 또 하나의 구현예에서, 재조합 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드 편입 수준은 약 0.3 내지 약 $200 \mu\text{g/mL}$ 이다. 또 추가의 구현예에서, 재조합 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드 편입 수준은 약 0.35 내지 약 $100 \mu\text{g/mL}$ 이다. 또 하나의 구현예에서, 재조합 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드 편입 수준은 약 0.4 내지 약 $50 \mu\text{g/mL}$ 이다.

[0136] 일 구현예에서, 본 발명의 백신 조성물에는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드, 및 하나 이상의 마이코플라스마 하이오뉴모니에 가용성 항원(예를 들면, 2개 이상)의 조합이 포함된다. 일 구현예에서, 본 발명의 백신 조성물에는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드 및 하나 이상의 하기 마이코플라스마 하이오뉴모니에 특이적 단백질 항원: 약 46kD(p46), 64kD(p64) 및 97kD(p97) 분자량의 마이코플라스마 하이오뉴모니에 단백질이 포함된다. 약 64kD(p64)의 마이코플라스마 하이오뉴모니에 단백질은 대안적으로 Kim 등[Infect. Immun. 58(8):2637-2643(1990)]뿐만 아니라 미국 특허 번호 5,788,962에 기재된 p65 표면 항원으로 불릴 수 있다. Futo 등은 본 발명의 조성물에 이용될 수 있는 마이코플라스마 하이오뉴모니에로부터의 46kD 표면 단백질의 클로닝 및 특성규명을 기재하였다[J. Bact 177: 1915-1917(1995)]. Zhang 등은 마이코플라스마 하이오뉴모니에의 p97 부착소 단백질을 기재하고 특성규명하였다[Infect. Immun. 63: 1013-1019, 1995]. 추가로, King 등은 마이코플라스마 하이오뉴모니에의 P-5722 균주로부터 Mhp1로 명명된 124kD 단백질을 기재하였고, Mhp1 및 p97이 동일한 단백질임을 제시하는 데이터를 제공하였다[Vaccine 15:25-35(1997)]. 그와 같은 p97 단백질은 본 발명의 조성물에서 이용될 수 있다. 본 발명의 백신 조성물에는 마이코플라스마 하이오뉴모니에 특이적 단백질 항원, 예컨대 비제한적으로 약 41kD(p41), 42kD(p42), 89kD(p89) 및 65kD(p65)의 단백질이 추가로 포함될 수 있다([Okada 등, 2000, J. Vet. Med. B 47:527-533 및 Kim 등, 1990, Infect. Immun. 58(8):2637-2643] 참고). 또한, 마이코플라스마 하이오뉴모니에 성분에는 약 102kD(p102) 및 216kD(p216)의 마이코플라스마 하이오뉴모니에 특이적 단백질 항원이 포함될 수 있다. 미국 특허 번호 6,162,435 및 7,419,806(Minion 등)을 참고하라.

[0137] 또 하나의 구현예에서, 본 발명의 백신 조성물에는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드, 하나 이상의 마이코플라스마 하이오뉴모니에 가용성 항원(예를 들면, 2개 이상)뿐만 아니라 PRRS 바이러스 항원의 조합이 포함된다. 본 발명의 PCV2b 분지형/마이코플라스마 하이오뉴모니에/PRRS 조성물에서 사용하기 적합한 PRRS 바이러스 항원에는 북미 PRRS 바이러스 단리체, 중국 PRRS 바이러스 균주 및 유럽 PRRS 바이러스 균주뿐만 아니라 그와 같은 단리체/균주의 유전적으로 변형된 버전이 포함된다. 일 구현예에서, 본 발명에 따른 조성물에서 이용된 PRRS 바이러스 항원 성분은 북미 PRRS 바이러스이다.

[0138] 일부 구현예에서, 본 발명의 조성물에서 이용된 PRRS 바이러스 항원 성분은 P129로 명명된 북미 PRRS 바이러스 단리체, 또는 살아있는 그 유전적으로 변형된 버전이다. 바람직하게는, 유전적으로 변형된 PRRS 바이러스는 병원성 감염을 일으킬 수 없지만 야생형 PRRS 바이러스에 의한 감염에 대해 효과적인 면역보호 반응을 일으킬 수 있다.

[0139] 본 발명의 조성물에서 사용하기 위한 유전적으로 변형된 PRRS 바이러스는 감염성 클론으로부터 생산될 수 있다. P129로 명명된 북미 PRRS 바이러스 단리체의 감염성 cDNA 클론의 제조는 본원에 전체가 참조로 편입된 미국 특허 번호 6,500,662에 기재된다. P129 cDNA의 서열은 젠뱅크 수탁 번호 AF494042 및 미국 특허 번호 6,500,662에 개시된다.

[0140] 일 구현예에서, PCV2b 분지형/마이코플라스마 하이오뉴모니에 조합 백신은 단일-용량, 1-병 백신으로 제공된다. 또 하나의 구현예에서, PCV2b 분지형/마이코플라스마 하이오뉴모니에/PRRS 바이러스 조합 백신은 단일-용량, 2-병 백신으로 제공된다. 예를 들면, 일부 구현예에서, PCV2b 분지형/마이코플라스마 하이오뉴모니에 조합은 제1 병에서 안정한 액체 조성물로 제공되고 PRRS 바이러스는 제2병에서 동결건조된 상태로 제공된다. 일부 구현예에

서, 추가의 돼지 항원이 제1병 또는 제2병에 첨가될 수 있다.

- [0141] 일 구현예에서, PRRS 바이러스 성분은 동결건조된, 유전적으로 변형된 생 바이러스로 제공된다. 투여 전에, 제1 병으로부터의 PCV2b 분지형/마이코플라스마 하이오뉴모니아 액체가 제2병의 PRRS 바이러스를 재수화하기 위해 사용되어 모든 3개 항원이 단일-용량으로 동물에게 투여될 수 있다.
- [0142] 본 발명의 백신은 인간(적용 가능한 경우)을 포함하는 동물에 대해 약학적으로 허용가능한 담체, 예컨대 표준 완충제, 안정제, 희석제, 보존제 및/또는 가용화제를 포함하도록 허용된 관례를 따라 제형화될 수 있고, 또한 지속 방출을 촉진하도록 제형화될 수 있다. 희석제에는 물, 식염수, 텍스트로스, 에탄올, 글리세롤 등이 포함된다. 등장성을 위한 첨가제에는 다른 것들 중에서 염화나트륨, 텍스트로스, 만니톨, 소르비톨 및 락토오스가 포함된다. 안정제에는 다른 것들 중에서 알부민이 포함된다. 변형된 생 백신의 제형화에 특히 유용한 것들을 포함하는 다른 적합한 백신 비히클 및 첨가제는 당해분야의 숙련가에게 공지되어 있거나 자명할 것이다. 예를 들면, 본원에 참조로 편입된 [Remington's Pharmaceutical Science, 18th ed., 1990, Mack Publishing]을 참고하라.
- [0143] 본 발명의 백신은 다른 것들 중에서 하나 이상의 추가의 면역조절 성분, 예컨대 아췌반트 또는 사이토카인을 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물에서 사용하기 적합한 아췌반트 유형에는 하기가 포함된다: 수중유 아췌반트, 폴리머 및 물 아췌반트, 유중수 아췌반트, 알루미늄 하이드록사이드 아췌반트, 비타민 E 아췌반트 및 이들의 조합. 아췌반트의 일부 구체예에는 비제한적으로 완전 프로인트 아췌반트, 불완전한 프로인트 아췌반트, 코리네박테리움 파르범, 칼메트 게랭 간균, 알루미늄 하이드록사이드 겔, 글루칸, 텍스트란 셀레이트, 산화철, 나트륨 알기네이트, 박토-아췌반트, 특정 합성 폴리머, 예컨대 폴리 아미노산 및 아미노산의 코-폴리머, 블록 코폴리머(CytRx, Atlanta, Ga.), QS-21(Cambridge Biotech Inc., Cambridge Mass.), SAF-M(Chiron, Emeryville Calif.), AMPHIGEN® 아췌반트, 사포닌, Quil A 또는 다른 사포닌 분획, 모노포스포릴 지질 A, 및 Avidine 지질-아민 아췌반트(N,N-다이옥타데실-N',N'-비스(2-하이드록시에틸)-프로판다이아민), "REGRESSIN"(Vetrepharm, Athens, Ga.), 파라핀 오일, RIBI 아췌반트 시스템(Ribi Inc., Hamilton, Mont.), 뮤라밀 다이캡타이드 등이 포함된다.
- [0144] 본 발명의 백신에서 유용한 수중유 에멀전의 비-제한적인 예에는 변형된 SEAM62 및 SEAM 1/2 제형이 포함된다. 변형된 SEAM62는 5%(v/v) 스쿠알렌(Sigma), 1%(v/v) SPAN® 85 세제(ICI Surfactants), 0.7%(v/v) TWEEN® 80 세제(ICI Surfactants), 2.5%(v/v) 에탄올, 200 µg/mL Quil A, 100 µg/mL 콜레스테롤 및 0.5%(v/v) 레시틴을 함유하는 수중유 에멀전이다. 변형된 SEAM 1/2은 5%(v/v) 스쿠알렌, 1%(v/v) SPAN® 85 세제, 0.7%(v/v) Tween 80 세제, 2.5%(v/v) 에탄올, 100 µg/mL Quil A 및 50 µg/mL 콜레스테롤을 포함하는 수중유 에멀전이다.
- [0145] 본 발명의 조성물에서 유용한 아췌반트의 또 하나의 예는 SP-오일이다. 명세서 및 청구범위에서 사용된 바와 같이, 용어 "SP 오일"은 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 블록 코폴리머, 스쿠알란, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트 및 완충 염 용액을 포함하는 오일 에멀전을 나타낸다. 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 블록 코폴리머는 고체 및 액체 성분의 현탁을 보조하는 계면활성제이다. 이들 계면활성제는 상표명 Pluronic® 하에 폴리머로서 상업적으로 이용가능하다. 바람직한 계면활성제는 상표명 Pluronic® L-121 하에 상업적으로 이용가능한 폴록사머 401이다. 일반적으로, SP 오일 에멀전은 약 1 내지 3% vol/vol의 블록 코폴리머, 약 2 내지 6% vol/vol의 스쿠알란, 더 상세하게는 약 3 내지 6% vol/vol의 스쿠알란, 및 약 0.1 내지 0.5% vol/vol의 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트를 포함하고, 나머지가 완충 염 용액인 면역자극 아췌반트 혼합물이다. 일 구현예에서, SP-오일 에멀전은 약 1 내지 25% v/v, 바람직하게는 약 2 내지 15% v/v, 더 바람직하게는 약 5 내지 12% v/v의 v/v 양으로 최종 조성물에 존재한다.
- [0146] 본 발명의 조성물에서 사용하기 적합한 아췌반트의 또 하나의 예는 오일, 보통 경질 액체 파라핀에 용해된 탈오일화 레시틴으로 구성된 AMPHIGEN™ 아췌반트이다.
- [0147] 본 발명의 조성물에서 유용한 아췌반트의 다른 예는 하기 전용 아췌반트이다: Microsol Diluvac Forte® 이중 에멀전 아췌반트 시스템, Emunade 아췌반트, 및 Xsolve 아췌반트. Emunade 및 Xsolve 아췌반트는 둘 다 수중 경질 미네랄 오일의 에멀전이지만, Emunade는 알하이드로젤도 함유하고, d,l-α-토코페릴 아세테이트는 XSolve 아췌반트의 일부이다. 본 발명의 조성물에서 사용하기 적합한 아췌반트의 추가 예는 ImpranFLEX™ 아췌반트(유중수 아췌반트)이다. 적합한 아췌반트의 추가 예는 카보머(Carbopol®) 기반 아췌반트이다. 바람직한 Carbopol® 아췌반트에는 Carbopol® 934 폴리머 및 Carbopol® 941 폴리머가 포함된다.
- [0148] 일 구현예에서, 아췌반트 또는 아췌반트 혼합물은 용량 당 약 100 µg 내지 약 10 mg의 양으로 첨가된다. 또 하나의 구현예에서, 아췌반트/아췌반트 혼합물은 용량 당 약 200 µg 내지 약 5 mg의 양으로 첨가된다. 또 하나의

구현예에서, 아쥘반트/아쥘반트 혼합물은 약 300 μg 내지 약 1 mg/용량의 양으로 첨가된다.

- [0149] 아쥘반트 또는 아쥘반트 혼합물은 전형적으로 약 1 내지 25% v/v, 바람직하게는 약 2 내지 15% v/v, 더 바람직하게는 약 5 내지 12% v/v의 v/v 양으로 본 발명의 백신 조성물에 존재한다.
- [0150] 백신에 포함될 수 있는 다른 "면역조절제"에는, 예를 들면 하나 이상의 인터루킨, 인터페론, 또는 다른 공지된 사이토카인이 포함된다. 일 구현예에서, 아쥘반트는 사이클로텍스트린 유도체 또는 다중음이온성 폴리머, 예컨대 각각 미국 특허 번호 6,165,995 및 6,610,310에 기재된 것들일 수 있다.
- [0151] 본 발명은 또한, PCV2b 분지형 균주에 대해 돼지를 면역화하는 방법을 제공하고, 상기 방법에는 상술된 바와 같이 본 발명에 따른 조성물을 돼지에게 투여하는 단계가 포함된다. 투여를 위한 상기 조성물에는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드가 포함되고, 여기서 ORF2 폴리펩타이드는 서열번호 1의 넘버링에 따라 위치 89에 류신(L), 위치 90에 트레오닌(T) 및 위치 134에 아스파라긴(N)을 포함한다. 상술된 바와 같이, 상기 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드에는 하기로부터 선택되는 하나 이상의 잔기가 추가로 포함될 수 있다: 서열번호 1의 넘버링에 따라 잔기 59에 라이신(K), 잔기 234에 라이신(K), 잔기 190에 트레오닌(T), 잔기 53에 이소류신(I), 잔기 68에 아스파라긴(N), 잔기 169에 아르기닌(R) 또는 글리신(G) 및 잔기 215에 이소류신(I).
- [0152] 일 구현예에서, 투여를 위한 조성물에는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고/하거나 발현하는 바이러스가 포함된다. 또 하나의 구현예에서, 투여를 위한 조성물에는 단리된, 재조합 PCV2b ORF2 폴리펩타이드가 포함된다.
- [0153] 본 발명의 방법의 일 구현예에서, 상기 조성물은 근육내로, 진피내로, 경피로, 피하로 또는 경구로 투여된다. 또 하나의 구현예에서, 상기 조성물은 단일 용량으로 투여된다. 또 하나의 구현예에서, 상기 조성물은 2회 용량으로 투여된다.
- [0154] 추가 구현예에서, 상기 조성물은 PCV2에 대해 모계 유도된 항체를 갖는 돼지에게 투여된다.
- [0155] 일 구현예에서, 상기 조성물은 3 주령 이상의 돼지에게 투여된다.
- [0156] 본 발명에 따른 백신 조성물은 수령체 동물의 연령, 성별, 체중, 종 및 병태, 및 투여 경로와 같은 인자를 고려하여, 의학 또는 수의학 분야에서의 숙련가에게 잘 알려진 기술에 의해 그러한 투여량으로 투여될 수 있다. 투여 경로는 점막 투여(예를 들면, 구강, 코, 항문, 질)를 통한 경피 또는 비경구 경로(진피내, 경피, 근육내, 피하, 정맥내 또는 복강내)를 통할 수 있다. 본 발명에 따른 백신 조성물은 단독으로 투여될 수도 있거나, 다른 치료 또는 요법과 함께 공-투여되거나 순차적으로 투여될 수도 있다. 투여 형태에는 현탁액, 시럽 또는 엘릭시르, 및 비경구, 피하, 진피내, 근육내 또는 정맥내 투여(예를 들면, 주사형 투여)용 제제, 예컨대 멸균 현탁액 또는 에멀전이 포함될 수 있다. 본 발명에 따른 백신 조성물은 스프레이로 투여되거나, 음식 및/또는 수중에 혼합되거나, 적합한 담체, 희석제, 또는 부형제, 예컨대 멸균수, 생리 식염수, 글루코스 등과의 혼합물로 전달될 수 있다. 조성물은 투여 경로 및 원하는 제조물에 따라, 보조 물질, 예컨대 수화제 또는 유화제, pH 완충제, 아쥘반트, 겔화 또는 점도 증대 첨가제, 보존제, 풍미제, 착색제 등을 함유할 수 있다.
- [0157] 본 발명은 추가로 키트를 제공한다. 상기 키트에는 고병원성 돼지 쉼코바이러스 2b형(PCV2b) 분지형 균주에 대해 돼지를 보호하기 위한 본 발명에 따른 백신 조성물을 함유하는 병이 포함된다. 상기 백신 조성물에는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드가 포함되고, 상기 ORF2 폴리펩타이드는 서열번호 1의 넘버링에 따라 위치 89에 류신(L), 위치 90에 트레오닌(T) 및 위치 134에 아스파라긴(N)을 포함한다. 상술된 바와 같이, 상기 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드에는 하기로부터 선택되는 하나 이상의 잔기가 추가로 포함될 수 있다: 서열번호 1의 넘버링에 따라 잔기 59에 라이신(K), 잔기 234에 라이신(K), 잔기 190에 트레오닌(T), 잔기 53에 이소류신(I), 잔기 68에 아스파라긴(N), 잔기 169에 아르기닌(R) 또는 글리신(G) 및 잔기 215에 이소류신(I).
- [0158] 키트의 일 구현예에서, 상기 백신 조성물은 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 포함하고/하거나 발현하는 바이러스 형태이다. 키트의 또 하나의 구현예에서, 백신 조성물은 단리된, 재조합 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드 형태이다.
- [0159] 본 발명의 키트의 일 구현예에서, 병 안의 백신 조성물은 사용 준비된 액체 조성물로 제공된다. 키트의 또 하나의 구현예에서, 병 안의 백신 조성물은 동결건조된 형태로 제공된다. 추가 구현예에서, 상기 키트에는 희석제가 포함될 수 있다. 또 하나의 구현예에서, 상기 키트에는 백신 조성물을 투여하기 위한 정보를 함유하는 설명 매뉴얼이 추가로 포함될 수 있다.
- [0160] 본 발명의 또 하나의 측면은 불활성화된 키메라성 바이러스 형태인 백신 조성물의 제조 방법을 제공하고, 상기

키메라성 바이러스에는 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 발현하는 불활성화된 제조합 돼지 쉼코바이러스 1형이 포함된다. 키메라성 돼지 쉼코바이러스 및 그것의 제조 방법은 WO 03/049703 A2, 및 또한 미국 특허 번호 7,279,166 및 7,575,752에 기재된다. PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 발현하는 불활성화된 PCV1을 포함하는 키메라성 돼지 쉼코바이러스의 제조 방법은 아래 실시예 1에 기재된다. 일 구현예에서, 최종 조성물은 불활성화된 cPCV1-2b 바이러스를 적합한 아유반트 및/또는 다른 약학적으로 허용가능한 담체와 조합하여 제조된다.

[0161] 본 발명의 추가 측면은 PCV2b 분지형 ORF2 폴리펩타이드를 발현하는 불활성화된, PCV2b 분지형 전체 바이러스 형태인 백신 조성물의 제조 방법을 제공한다. 그와 같은 방법은 아래 실시예 3에 기재된다. 일 구현예에서, 최종 조성물은 불활성화된 PCV2B-DIV-MUT 바이러스를 적합한 아유반트 및/또는 다른 약학적으로 허용가능한 담체와 조합하여 제조된다.

[0162] 본 발명의 또 하나의 측면은 하기에 의한 제조합 PCV2 분지형 ORF2 단백질의 제조 방법을 제공한다: i) PCV2 분지형 ORF2 DNA 코딩 서열을 함유하는 제조합 바이러스 벡터로 배양 중 감수성 세포의 감염을 허용하고, 여기서 ORF2 단백질이 제조합 바이러스 벡터에 의해 발현되고, ii) 그 후에, 상청액 중 ORF2 단백질을 회수함. 전형적으로, 다량의 PCV2 분지형 ORF2 단백질이 상청액 중에 회수될 수 있다. 다량의 PCV2 분지형 ORF2는 약 20 μg /상청액mL 초과, 바람직하게는 약 25 μg /mL 초과, 더욱더 바람직하게는 약 30 μg /mL 초과, 더욱더 바람직하게는 약 40 μg /mL 초과, 더욱더 바람직하게는 약 50 μg /mL 초과, 더욱더 바람직하게는 약 60 μg /mL 초과, 더욱더 바람직하게는 약 80 μg /mL 초과, 더욱더 바람직하게는 약 100 μg /mL 초과, 더욱더 바람직하게는 약 150 μg /mL 초과, 가장 바람직하게는 약 190 μg /mL 초과를 의미한다.

[0163] 바람직한 세포 배양은 약 0.3 내지 2.0×10^6 세포/mL, 더 바람직하게는 약 0.35 내지 1.9×10^6 세포/mL, 더욱더 바람직하게는 약 0.4 내지 1.8×10^6 세포/mL, 더욱더 바람직하게는 약 0.45 내지 1.7×10^6 세포/mL, 가장 바람직하게는 약 0.5 내지 1.5×10^6 세포/mL의 세포수를 갖는다. 바람직한 세포는 당해분야의 숙련가에 의해 결정 가능하다. 바람직한 세포는 PCV2 분지형 ORF2 DNA를 함유하고 PCV2 분지형 ORF2 단백질을 발현하는 적절한 제조합 바이러스 벡터로의 감염에 감수성인 것들이다. 바람직하게는 상기 세포는 곤충 세포이고, 더 바람직하게는 상표명 Sf+ 곤충 세포(Protein Sciences Corporation, Meriden, Conn.) 하에 판매되는 곤충 세포가 포함된다.

[0164] 적절한 성장 배지는 또한 당해분야의 숙련가에 의해 결정 가능할 것이고, 바람직한 성장 배지는 무혈청 곤충 세포 배지, 예컨대 Excell 420(JRH Biosciences, Inc., Lenexa, Kans.) 등이다. 바람직한 바이러스 벡터에는 특히 생산 세포가 곤충 세포인 경우, 배클로바이러스, 예컨대 BaculoGold(BD Biosciences Pharmingen, San Diego, Calif.)가 포함된다. 배클로바이러스 발현 시스템이 바람직하지만, 당해분야의 숙련가에게는 다른 발현 시스템이 본 발명을 위해, 즉 세포 배양 상청액 내로 PCV2 분지형 ORF2의 발현을 위해 작용할 것이 이해된다. 그와 같은 다른 발현 시스템은 배지 내로 ORF2 발현을 유도하기 위해 신호 서열의 사용을 필요로 할 수 있다. 그러나, ORF2가 배클로바이러스 발현 시스템에 의해 생산되면, 전형적으로 배지 내로 ORF2 발현을 유도하기 위해 임의의 신호 서열 또는 추가 변형을 필요로 하지 않는다. 상기 단백질은 독립적으로 바이러스-유사 입자를 형성하고(Journal of General Virology 2000, Vol. 81, pp. 2281-2287), 배양 상청액 내로 분비될 수 있는 것으로 여겨진다. PCV2 분지형 ORF2 DNA 서열을 함유하는 제조합 바이러스 벡터는 감수성 세포의 감염을 위해 사용될 때, 약 0.03 내지 1.5, 더 바람직하게는 약 0.05 내지 1.3, 더욱더 바람직하게는 약 0.09 내지 1.1, 가장 바람직하게는 약 0.1 내지 1.0의 바람직한 감염 다중도(MOI)를 갖는다. 바람직하게는 상기 언급된 MOI는 1 mL의 세포 배양액에 관한 것이다. 바람직하게는, 본원에서 기재된 방법은 약 0.03 내지 1.5, 더 바람직하게는 약 0.05 내지 1.3, 더욱더 바람직하게는 약 0.09 내지 1.1, 가장 바람직하게는 약 0.1 내지 1.0의 MOI(감염 다중도)를 가지고 PCV2 분지형 ORF2 DNA를 함유하고 PCV2 분지형 ORF 단백질을 발현하는 제조합 바이러스 벡터를 이용한 0.35 내지 1.9×10^6 세포/mL, 더욱더 바람직하게는 약 0.4 내지 1.8×10^6 세포/mL, 더욱더 바람직하게는 약 0.45 내지 1.7×10^6 세포/mL, 가장 바람직하게는 약 0.5 내지 1.5×10^6 세포/mL의 감염을 포함한다.

[0165] 이어서, 감염된 세포를 최대 10 일, 더 바람직하게는 약 2 일 내지 약 10 일, 더욱더 바람직하게는 약 4 일 내지 약 9 일, 가장 바람직하게는 약 5 일 내지 약 8 일의 기간에 걸쳐 인큐베이션한다. 바람직한 인큐베이션 조건에는 약 22 내지 32°C, 더 바람직하게는 약 24 내지 30°C, 더욱더 바람직하게는 약 25 내지 29°C, 더욱더 바람직하게는 약 26 내지 28°C, 가장 바람직하게는 약 27°C의 온도가 포함된다. 바람직하게는, Sf+ 세포를 접종 후 특징적인 배클로바이러스-유도 변화에 대해 관찰한다. 그와 같은 관찰에는 감염-후 기간 동안 세포 밀도 추

세 및 생존력 감소의 모니터링이 포함될 수 있다. 피크 바이러스 역가는 전형적으로 감염 후 3 일 내지 5 일 관찰되고, 세포로부터 상청액 내로의 피크 ORF2 방출은 전형적으로 5 일 내지 8 일, 및/또는 세포 생존력이 10% 미만으로 감소될 때 수득된다.

[0166] 회수 공정은 바람직하게는 분리 단계를 통해 매질 중에 발현된 PCV2 분지형 ORF2 폴리펩타이드로부터 세포 잔해의 분리로 시작된다. 바람직한 분리 단계에는 여과, 최대 약 20,000 x g 속도에서의 원심분리, 연속류 원심분리, 이온 교환 또는 겔 여과를 이용하는 크로마토그래피 분리, 및 종래의 면역친화도 방법이 포함된다. 이들 방법은 당해분야의 숙련자에게 공지되어 있다(예를 들면, [Harris and Angel(eds.), Protein purification methods--a practical approach, IRL press Oxford 1995]). 바람직한 여과 방법에는 중공 섬유 여과를 포함하는 종말 미세여과 및 접선류(또는 크로스 플로우) 여과가 포함된다. 이들 중, 종말 미세여과가 바람직하다. 종말 미세여과를 위해 바람직한 기공 크기는 약 0.30 내지 1.35 μm , 더 바람직하게는 약 0.35 내지 1.25 μm , 더욱더 바람직하게는 약 0.40 내지 1.10 μm , 가장 바람직하게는 약 0.45 내지 1.0 μm 이다.

[0167] 면역원성 또는 면역학적 조성물, 예컨대 백신에서 사용될 제조합 PCV2 분지형 ORF2 폴리펩타이드의 회수를 위해, 바이러스 벡터를 불활성화하기 위한 불활성화 단계의 편입이 바람직하다. 바람직하게는, 상기 불활성화는 여과 단계 직전 또는 직후에 수행되고, 여과 단계 후 불활성화를 위해 바람직한 시간이다. 임의의 종래 불활성화 방법이 본 발명을 위해 이용될 수 있다. 따라서, 불활성화는 화학적 및/또는 물리적 처리에 의해 수행할 수 있다. 바람직한 형태에서, 수확 유체의 부피를 결정하고, 온도를 약 32 내지 42°C, 더 바람직하게는 약 34 내지 40°C, 가장 바람직하게는 약 35 내지 39°C로 유도한다. 바람직한 불활성화 방법에는 바람직하게는 약 1 내지 약 20 mM, 바람직하게는 약 2 내지 약 10 mM, 더욱더 바람직하게는 약 2 내지 약 8 mM, 더욱더 바람직하게는 약 3 내지 약 7 mM, 가장 바람직하게는 약 5 mM 농도로의 고리화된 2원 에틸렌아민(BEI)의 첨가가 포함된다. 예를 들면, 불활성화에는 유체에 약 5 mM BEI의 최종 농도를 제공하도록 0.3 N NaOH 중 0.2 M 2원 에틸렌아민(BEI)으로 고리화된, 바람직하게는 약 0.4 M의 2-브로모에틸렌아민 하이드로브로마이드 용액의 첨가가 포함된다. 이어서, 바람직하게는 유체를 72 내지 96 시간 동안 계속해서 교반하고, 불활성화된 수확 유체는 -40°C 이하 또는 약 1 내지 7°C에서 냉동 보관할 수 있다. 불활성화가 완료된 후, 바람직하게는 1.0M의 나트륨 티오설페이트 용액을 첨가하여 임의의 잔여 BEI를 중화한다. 바람직하게는, 나트륨 티오설페이트는 불활성화를 위해 전에 첨가된 BEI와 동등량으로 첨가된다. 예를 들면, BEI가 최종 농도 5 mM로 첨가된 경우, 임의의 잔여 BEI를 중화하기 위해 1.0 M 나트륨 티오설페이트 용액을 최종 최소 농도 5 mM을 제공하도록 첨가한다.

[0168] 본 발명의 추가 측면은 PCV2 분지형 ORF2 단백질, 및 불활성화된 바이러스 벡터를 포함하는 조성물의 제조 방법에 관한 것이다. 상기 방법에는 하기 단계가 포함된다: i) 전달 벡터 내로의 증폭된 PCV2 분지형 ORF2 유전자의 클로닝; ii) 제조합 PCV2 분지형 ORF2 유전자 함유 전달 벡터의 일부의 바이러스 내로의 형질감염; iii) 형질감염된 바이러스 벡터를 이용한 배지 중 세포의 감염; iv) 형질감염된 바이러스 벡터가 PCV2 분지형 ORF2 유전자로부터 PCV2 분지형 ORF2 제조합 단백질을 발현하도록 유도; v) 세포를 상청액으로부터 분리; vi) 상청액으로부터 발현된 PCV2 분지형 ORF2 단백질의 회수; 및 vii) 제조합 바이러스 벡터의 불활성화. 바람직하게는, 제조합 바이러스 벡터는 배컬로바이러스-함유 ORF2 DNA 코딩 서열이고, 세포는 Sf+ 세포이다. 바람직한 분리 단계는 상술된 것들이고, 여과 단계가 가장 바람직하다. 바람직한 불활성화 단계는 상술된 것들이다. 바람직하게는, 불활성화를 약 35 내지 39°C에서 2 내지 8 mM BEI의 존재 하에, 더욱더 바람직하게는 약 5 mM BEI의 존재 하에 수행한다. 바람직하게는, 불활성화를 적어도 24 시간 동안, 더욱더 바람직하게는 24 내지 72 시간 동안 수행한다.

[0169] 추가 측면에 따르면, 상술된 바와 같이 PCV2 분지형 ORF2 단백질, 및 불활성화된 바이러스 벡터를 포함하는 조성물의 제조 방법에는 또한 단계 vii) 후 중화 단계가 포함된다. 이러한 단계 viii)은 용액 내 불활성화제를 중화하는 동등량의 약제의 첨가를 포함한다. 바람직하게는, 불활성화제가 BEI인 경우, 나트륨 티오설페이트의 동등량으로의 첨가가 바람직하다. 따라서, 추가 측면에 따르면, 단계 viii)은 불활성화제가 BEI인 경우, 약 1 내지 약 20 mM, 바람직하게는 약 2 내지 약 10 mM, 더욱더 바람직하게는 약 2 내지 약 8 mM, 더욱더 바람직하게는 약 3 내지 약 7 mM, 가장 바람직하게는 약 5 mM의 최종 농도로의 나트륨 티오설페이트 용액의 첨가를 포함한다.

[0170] 본 발명의 또 하나의 측면에서, PCV2 분지형 균주에 대한 면역 반응을 유발하기 위한 조성물, 바람직하게는 항원성 조성물, 예컨대 백신의 제조 방법이 제공된다. 일반적으로, 상기 방법에는 바이러스 내로의 작제물의 형질감염 단계가 포함되고, 상기 작제물은 하기를 포함한다: i) PCV2 분지형 균주의 ORF2로부터의 제조합 DNA, ii) 성장 배지 중 세포의 형질감염된 바이러스를 이용한 감염, iii) 바이러스가 PCV2 분지형 ORF2로부터 제조합 단백질을 발현하도록 유도, iv) 상청액으로부터 발현된 ORF2 단백질을 회수, v) 및 회수된 단백질을 적합한 아쥬반트 및/또는 다른 약학적으로 허용가능한 담체와 조합하여 조성물을 제조.

[0171] 하기 실시예는 본 발명에 따른 바람직한 물질 및 절차를 나타낸다. 그러나 이들 실시예는 예시로서만 제공되고, 여기서의 어떤 것도 본 발명의 전반적인 범위에 대한 제한으로 간주되어서는 안 됨이 이해되어야 한다.

[0172] **실시예 1: 키메라성 돼지 쉼코바이러스(cPCV)1-2 생산 방법**

[0173] 비병원성 돼지 쉼코바이러스 1형(PCV1)의 게놈 골격 내로 병원성 돼지 쉼코바이러스 2b형 분지형 균주("PCV2B-DIV-MUT"로 명명됨)의 면역원성 캡시드 유전자의 클로닝에 의해 cPCV1-2를 구축한다. 키메라성 DNA 클론의 구축 절차는, 예를 들면 미국 특허 번호 7,279,166(본원에 그 전체가 참조로 편입됨)에 기재된다. 키메라성 바이러스의 감염성 스톱을 사용하여 0.05% 락트알부민 가수분해물(LAH), 30 $\mu\text{g/mL}$ 겐타마이신 설페이트, 및 5% 우태 혈청으로 보강된 최소 필수 배지(MEM) 중에 성장시킨 돼지 신장(PK)-15 세포를 감염시킨다. 수득한 cPCV1-2 감염 PK-15 세포를 2 내지 3% 우태 혈청을 제외하고 동일한 성장 배지를 이용해서 4회 더 연속 계대하여 추가 증식시킨다. 제5 계대를 냉동하고, 해동하고, 여과하여, 수득한 용해물을 사용해서 프리-마스터 씨드 및 후속 마스터 씨드를 제조한다.

[0174] 바이러스 씨드를 생산하기 위해 사용되는 배지는 바이러스 스톱의 생산에서 사용된 것과 동일하다. 성장 배지에 있어서, MEM, OptiMEM 또는 동등물이 성장을 위해 PK-15 세포주의 증식에 사용될 수 있는 기본 배지이다. 성장 배지에는 10% 이하의 소 혈청, 0.5% 이하의 락트알부민 가수분해물, 0.5% 이하의 소 혈청 알부민, 및 30 $\mu\text{g/mL}$ 이하의 겐타마이신이 보장될 수 있다. 바이러스 증식 배지에 있어서, MEM, Optimem 또는 동등물을 사용한다. 바이러스 증식 배지에는 0.5% 이하의 락트알부민 가수분해물, 2% 이하의 소 혈청, 0.5% 이하의 소 혈청 알부민, 및 30 $\mu\text{g/mL}$ 이하의 겐타마이신이 보장될 수 있다. 5 g/L 이하의 글루코스 및 5 mmol/L 이하의 L-글루타민을 세포를 유지하기 위해 요구되는 바와 같이 성장 배지 및/또는 바이러스 증식 배지에 첨가할 수 있다.

[0175] cPCV1-2 마스터 씨드 바이러스를 PK-15 세포의 세포 현탁액에 첨가하고, 3 시간 이하 동안 흡착시킨다. 씨드 바이러스를 성장 기본 배지 중에 희석하여 0.1 내지 0.2의 감염 다중도(MOI)를 제공한다.

[0176] 처음에 세포 과중 시 또는 세포가 약 20% 내지 50% 밀집도에 도달하면, PK-15 세포 배양에 작업 씨드 바이러스를 접종한다. 상기 초기 계대를 항원 스톱 생산을 위한 "1-단계 감염 방법"으로 부를 수도 있고, 또는 추가로 연속 계대를 위해 사용할 수도 있다. 연속 계대를 위해, cPCV1-2 감염 PK-15 세포를 바이러스 증식을 위해 1:5 내지 20의 비로 계대 분할에 의해 7 이하의 계대까지 추가 증식시킨다. 이전 계대로부터의 감염된 세포 현탁액을 함유하는 배양 배지가 다음 계대를 위한 씨드 물질로 작용할 수 있다. cPCV1-2 감염 세포를 세포가 90% 이상의 밀집도에 도달하면, $36 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 각각의 계대를 위해 3 내지 14 일 동안 인큐베이션한다. cPCV1-2 바이러스는 바이러스 복제 동안 관찰가능한 세포병리적 변화를 유도한다. 수확 시, 세포가 둥글어지고 상당한 부유 잔해가 관찰된다. 배양에서는 또한 박테리아 또는 진균 오염의 시각적 증거가 관찰된다. cPCV 항원을 위한 수확 간 인큐베이션 시간이 아래 표 1에 제공된다:

[0177] [표 1]

[0178] **cPCV 항원 수확을 위한 최소 및 최대 시간**

방법	최소 / 최대 시간	온도 범위
1-단계 감염	5 내지 16 일	$36 \pm 2^\circ\text{C}$
연속 계대(MSV + 1에서 MSV + 4까지)	16 내지 36 일	$36 \pm 2^\circ\text{C}$

[0179]

[0180] cPCV1-2 배양액을 멸균 용기 내로 수확하고, 공지된 방법을 이용해서 마이코플라스마 오염에 대해 샘플링한다. 롤러 병, 생물반응기 및 관류 용기로부터 다회 수확을 수행할 수 있다.

[0181] 수확된 cPCV1-2 바이러스의 불활성화 전에, 하나 이상의 항원 로트를 한외여과에 의해 농축(예를 들면, 최대 60X)할 수 있다. 농축물을 평형 염 용액으로 세정하여 혈청 단백질을 감소시킬 수 있다.

[0182] 이제 cPCV1-2 바이러스의 불활성화, 약독화 또는 해독 방법이 기재될 것이다. cPCV 항원 농축 후, β -프로피오락톤(BPL)을 풀링된 cPCV1-2 바이러스 물질에 첨가하여 근사 농도 0.2% v/v를 수득한다. 이어서 풀링된 바이러스 유체를 15 분 이상 동안 진탕한 다음 불활성화 벌크 항원 유체를 제2 멸균 용기로 옮긴다. 옮긴 항원 유체를

계속 진탕하면서 24 시간 이상 동안 2 내지 7℃에서 유지한다. 24 시간 이상 후, 0.2% v/v BPL의 제2 첨가물을 폴딩된 현탁액에 첨가한다. 이후 내용물을 진탕하고, 제3 용기로 옮기고, 계속 진탕하면서 84 시간 이상의 추가 시간 동안 2 내지 7℃에서 유지한다. 일반적으로, 전체 불활성화 시간은 108 시간 이상 120 시간 이하이다. 불활성화 방법이 아래 표 2에 요약된다.

[표 2]

불활성화 방법

불활성화제	최종 농도	온도 범위	시간(hour) (최소/최대)
β-프로피오락톤(BPL)	0.4% v/v(2 x 0.2% v/v 첨가)	2 - 7℃(진탕하며)	108-120

최종 농도 0.1 M 이하의 나트륨 디옥살레이트 용액의 첨가에 의해 불활성화를 종료한다. 불활성화된 항원 스톱의 pH는 NaOH 또는 HCl을 이용해서 약 6.8로 조정한다. 불활성화 후 대표 샘플을 폴로부터 취해서 불활성화 완료에 대해 시험한다. 불활성화된 cPCV1-2 항원 생성물을 역가 ELISA를 통해 측정되는 1.0 RP 초과 목표에 부합하도록 표준화한다. 일 구현예에서, 불활성화된 cPCV1-2b 바이러스를 적합한 아쥬반트 및/또는 다른 약학적으로 허용가능한 담체와 조합하여 최종 조성물을 제조한다.

실시예 2: 재조합 PCV2b 분지형 캡시드 단백질의 제조 방법

서브유닛 백신의 생산은 2상 방법: 첫 번째로, 배큘로바이러스 발현 시스템에서 ORF2 서브유닛 항원 생산 및 두 번째로, 최종 생성물의 제형화/제조 결과이다. 초기 단계(재조합 배큘로바이러스 구축 및 ORF2 항원의 생산)를 위해, 사용된 기본 기술 방법이 이제 기재될 것이다. 배큘로바이러스 발현 시스템이 PCV2b 분지형 균주로부터 ORF2 유전자의 발현을 위해 사용된다. PCV2 ORF2 유전자를 함유하는 재조합 배큘로바이러스를 하기와 같이 산출한다: 바이러스 DNA를 본원에서 "PCV2B-DIV-MUT"로 확인된 PCV2b 분지형 균주로 감염된 PK-15 세포로부터 단리한다. 상기 PCV2b 분지형 균주로부터의 ORF2 유전자를 5' 코작 서열(ccgccatg) 및 3' EcoRI 부위(gaatc)를 함유하도록 PCR 증폭하고, pGEM-T-Easy 벡터(Promega, Madison, Wis.) 내로 클로닝한다. 이어서, 절제하고, 전달 벡터 pVL1392(BD Biosciences Pharmingen, San Diego, Calif.) 내로 서브클로닝한다. 그 뒤, PCV2b 분지형 ORF2 유전자를 함유하는 pVL1392 플라스미드를 BaculoGold®(BD Biosciences Pharmingen) 배큘로바이러스 DNA와 함께 스포도프테라 프루지페르다(Sf+) 곤충 세포(Protein Sciences, Meriden, Conn.) 내로 공-형질감염하여 PCV2b 분지형 ORF2 유전자를 함유하는 재조합 배큘로바이러스를 산출한다. 상기 PCV2b 분지형 ORF2 유전자를 함유하는 재조합 배큘로바이러스를 플라크-정제하고 마스터 씨드 바이러스(MSV)를 SF+ 세포주 상에서 증식시켜, 분주하고, -70℃에서 보관한다. MSV는 배큘로바이러스-특이적 프라이머를 이용한 PCR-RFLP에 의해 PCV2 ORF2 배큘로바이러스로서 양성으로 확인된다. MSV 또는 작업 씨드 바이러스를 산출하도록 PCV2 ORF2 배큘로바이러스로 감염된 곤충 세포는 PCV2 ORF2 항원을 발현한다. PCV2B-DIV-MUT의 ORF2 유전자의 발현을 토끼에서 PCV2B-DIV-MUT에 대해 생성된 과면역 혈청을 이용해서 면역분석에 의해 또는 간접적인 형광성 항체 분석에서 단클론성 항체를 이용해서 확인한다. 대안적으로, PCV2B-DIV-MUT의 ORF2 유전자 발현을 PCV2b 분지형 균주와 교차 반응하는 고전적 PCV2a 또는 PCV2b에 대해 생성된 항체를 이용하여 면역분석에 의해 확인한다. 추가로, PCV2b 분지형 ORF2 배큘로바이러스의 동일성을 N-말단 아미노산 서열분석에 의해 확인한다. 또한 PCV2b 분지형 ORF2 배큘로바이러스 MSV를 9 C.F.R. 113.27(c), 113.28, 및 113.55에 따라 순도에 대해 시험한다.

PCV2 ORF2 DNA 서열을 함유하는 재조합 바이러스 벡터는 감수성 세포의 감염을 위해 사용될 때, 약 0.03 내지 1.5, 더 바람직하게는 약 0.05 내지 1.3, 더욱더 바람직하게는 약 0.09 내지 1.1, 가장 바람직하게는 약 0.1 내지 1.0의 바람직한 감염 다중도(MOI)를 갖는다. 바람직하게는, 본원에서 기재된 방법은 약 0.03 내지 1.5, 더 바람직하게는 약 0.05 내지 1.3, 더욱더 바람직하게는 약 0.09 내지 1.1, 가장 바람직하게는 약 0.1 내지 1.0의 MOI(감염 다중도)를 갖고, PCV2 ORF2 DNA를 함유하고 PCV2 ORF 단백질을 발현하는 재조합 바이러스 벡터를 이용한 0.35 내지 1.9×10^6 세포/mL, 더욱더 바람직하게는 약 0.4 내지 1.8×10^6 세포/mL, 더욱더 바람직하게는 약 0.45 내지 1.7×10^6 세포/mL, 가장 바람직하게는 약 0.5 내지 1.5×10^6 세포/mL의 감염을 포함한다.

이어서, 감염된 세포를 최대 10 일, 더 바람직하게는 약 2 일 내지 약 10 일, 더욱더 바람직하게는 약 4 일 내지 약 9 일, 가장 바람직하게는 약 5 일 내지 약 8 일의 기간에 걸쳐 인큐베이션한다. 바람직한 인큐베이션 조건에는 약 22 내지 32℃, 더 바람직하게는 약 24 내지 30℃, 더욱더 바람직하게는 약 25 내지 29℃, 더욱더 바람직하게는 약 26 내지 28℃, 가장 바람직하게는 약 27℃의 온도가 포함된다. 바람직하게는, 접종 후 특징적인

배칼로바이러스-유도된 변화에 대해 Sf+ 세포가 관찰된다. 그와 같은 관찰에는 감염-후 기간 동안 세포 밀도 추세 및 생존력 감소의 모니터링이 포함될 수 있다. 피크 바이러스 역가는 전형적으로 감염 후 3 내지 5 일 관찰되고, 세포로부터 상청액 내로의 피크 ORF2 방출은 전형적으로 5 내지 8 일 및/또는 세포 생존력이 10% 미만으로 감소하는 경우 수득된다.

[0191] 일 구현예에서, 1000 mL 스피너 플라스크에 300 mL의 Excell 420 배지 중 약 1.0×10^6 Sf+ 세포/mL를 씨드 접종한다. 이어서 플라스크를 27°C에서 인큐베이션하고 100 rpm에서 진탕한다. 이 후, 플라스크에 인큐베이션 24 시간 후 0.1 MOI로 PCV2b 분지형 ORF2/Bac(PCV2b 분지형 ORF2 유전자를 함유하는 재조합 배칼로바이러스) 바이러스 씨드를 접종한다.

[0192] 그 뒤, 플라스크를 총 6 일 동안 27°C에서 인큐베이션한다. 인큐베이션 후, 플라스크 내용물을 원심분리하고, 수득한 상청액을 수확하고, 0.45 내지 1.0 μm 기공 크기의 막을 통해 마이크로여과한 다음 불활성화한다. 상청액을 $37 \pm 2^\circ\text{C}$ 온도로 가져가고 상청액에 10 mM 2원 에틸렌이민(BEI)을 첨가하여 불활성화한다. 이어서, 상청액을 48 시간 동안 계속해서 교반한다. 최종 최소 농도 5 mM을 제공하는 1.0 M 나트륨 티오설페이트 용액을 첨가하여 임의의 잔여 BEI를 중화한다. 그 뒤, 중화된 상청액 중 ORF2의 양을 ELISA 분석 절차, 예컨대 미국 특허 번호 7,700,285(Eichmeyer 등)의 실시예 1에 기재된 것을 이용해서 정량한다. 사용된 검출 항체는 PCV2b 분지형 ORF2 캡시드 단백질에 대한 단클론성 항체이다.

[0193] 본 발명은 재조합 PCV2b 분지형 ORF2의 소규모 생산으로부터 재조합 PCV2b 분지형 ORF2의 대규모 생산으로 수준을 높일 수 있다.

[0194] 백신 생산의 제2 단계는 최종 생성물의 제형화/제조이다. 블렌딩 전략은 하기에 기반한다: a) 용량 별 고정된 항원 함량, 및 b) 하나 이상의 아쥬반트의 고정된 양. 일 구현예에서, 최종 생성물의 약학적 형태는 수중유 에멀전과 동등하다. 최종 백신을 제조하기 위해, 균질한 에멀전이 수득될 때까지 아쥬반트를 항원성 분획에 첨가하고 교반한다. 만족스러운 균질성 증거가 제공된다. 백신 배치가 청구된 효능을 야기할 것임을 확실히 하기 위해, 그 상대 역가를 검증된 생체내 분석에 의해 결정한다. 수행된 분석에 기반하여, 역가 시험으로 정상보다 덜 강력한 배치를 검출할 수 있다.

[0195] 실시예 3: 불활성화된 PCV2b 분지형 전체 바이러스의 제조 방법

[0196] PCV2b 분지형 바이러스: PCV2B-DIV-MUT의 감염성 스톡을 사용하여 0.05% 락트알부민 가수분해물(LAH), 30 μg /mL 겐타마이신 설페이트 및 5% 우태 혈청으로 보강된 최소 필수 배지(MEM) 중에 성장시킨 돼지 신장(PK)-15 세포를 감염시킨다. 수득한 PCV2B-DIV-MUT 감염 PK-15 세포를 0.5 내지 3% 우태 혈청을 제외하고 동일한 성장 배지를 이용해서 4회 더 연속 계대하여 추가 증식시킨다. 제5 계대를 냉동하고, 해동하고, 여과하여, 수득한 용해물을 사용해서 프리-마스터 씨드 및 후속 마스터 씨드를 제조한다.

[0197] 바이러스 씨드를 생산하기 위해 사용되는 배지는 바이러스 스톡의 생산에서 사용된 것과 동일하다. 성장 배지에 있어서, MEM, OptiMEM 또는 동등물이 성장을 위해 PK-15 세포주의 파종에 사용될 수 있는 기본 배지이다. 성장 배지에는 10% 이하의 소 혈청, 0.5% 이하의 락트알부민 가수분해물, 0.5% 이하의 소 혈청 알부민, 및 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이하의 겐타마이신이 보강될 수 있다. 바이러스 증식 배지에 있어서, MEM, OptiMEM 또는 동등물을 사용한다. 바이러스 증식 배지에는 0.5% 이하의 락트알부민 가수분해물, 2% 이하의 소 혈청, 0.5% 이하의 소 혈청 알부민, 및 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이하의 겐타마이신이 보강될 수 있다. 5 g/L 이하의 글루코스 및 5 mmol/L 이하의 L-글루타민을 세포를 유지하기 위해 요구되는 바와 같이 성장 배지 및/또는 바이러스 증식 배지에 첨가할 수 있다.

[0198] PCV2B-DIV-MUT 마스터 씨드 바이러스를 PK-15 세포의 세포 현탁액에 첨가하고, 3 시간 이하 동안 흡착시킨다. 씨드 바이러스를 성장 기본 배지 중에 희석하여 0.1 내지 0.2의 감염 다중도(MOI)를 제공한다.

[0199] 처음에 세포 파종 시 또는 세포가 약 20% 내지 50% 밀집도에 도달하면, PK-15 세포 배양에 작업 씨드 바이러스를 접종한다. 상기 초기 계대를 항원 스톡 생산을 위한 "1-단계 감염 방법"으로 부를 수도 있거나, 추가로 연속 계대를 위해 사용할 수도 있다. 연속 계대를 위해, 감염된 PCV2B-DIV-MUT PK-15 세포를 바이러스 증식을 위해 1:5 내지 20의 비로 계대 분할에 의해 7 이하의 계대까지 추가 증식시킨다. 이전 계대로부터의 감염된 세포 현탁액을 함유하는 배양 배지가 다음 계대를 위한 씨드 물질로 작용할 수 있다. 세포가 90% 이상의 밀집도에 도달하면, PCV2B-DIV-MUT 감염 세포를 $36 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 각각의 계대를 위해 3 내지 14일 동안 인큐베이션한다. PCV2B-DIV-MUT 바이러스는 바이러스 복제 동안 관찰가능한 세포병리적 변화를 유도할 수 있다. 수확 시, 세포가 둥글어지고 상당한 부유 잔해가 관찰된다. 배양에서는 또한 박테리아 또는 진균 오염의 시각적 증거가 관찰된다.

PCV2B-DIV-MUT 항원을 위한 수확 간 인큐베이션 시간은 상기 표 1에 제공된 것들과 동일하다.

[0200] PCV2B-DIV-MUT 배양액을 멸균 용기 내로 수확하고, 공지된 방법을 이용해서 마이코플라스마 오염에 대해 샘플링한다. 롤러 병, 생물반응기 및 관류 용기로부터 다회 수확을 수행할 수 있다.

[0201] 수확된 PCV2B-DIV-MUT 바이러스의 불활성화 전에, 하나 이상의 항원 로트를 한외여과에 의해 농축(예를 들면, 최대 60X)할 수 있다. 농축물을 평형 염 용액으로 세정하여 혈청 단백질을 감소시킬 수 있다.

[0202] PCV2B-DIV-MUT 바이러스의 불활성화, 약독화 또는 해독 방법은 상기 실시예 1 및 표 2에 기재된 바와 동일하다. 최종 농도 0.1 M 이하의 나트륨 티오설페이트 용액의 첨가에 의해 불활성화를 종료한다. 불활성화된 항원 스톱의 pH는 NaOH 또는 HCl을 이용해서 약 6.8로 조정한다. 불활성화 후 대표 샘플을 폴로부터 취해서 불활성화 완료에 대해 시험한다. 불활성화된 PCV2B-DIV-MUT 항원 생성물을 역가 ELISA를 통해 측정되는 1.0 RP 초과 목표에 부합하도록 표준화한다. 일 구현예에서, 불활성화된 PCV2B-DIV-MUT 바이러스를 적합한 아쥬반트 및/또는 다른 약학적으로 허용가능한 담체와 조합하여 최종 조성물을 제조한다.

[0203] 실시예 4: 원리 연구의 PCV2b 증명

[0204] 본 연구의 목표는 동종성 및 이종성 보호에 대해 PCV2b 분지형 후보 백신을 평가하는 것이었다. 연구 설계는 표 3에 개괄된다. T04, T08 및 T12에 대한 IVP는 10% SP-오일이 아쥬반트로 포함된 사멸된 PCV2b-분지형 바이러스로 구성되었다. T02, T06 및 T10에 대한 IVP는 10% SP-오일이 아쥬반트로 포함된 사멸된 키메라성 PCV1:2a 바이러스로 구성되었다. T03, T07 및 T11에 대한 IVP는 10% SP-오일이 아쥬반트로 포함된 사멸된 키메라성 PCV1:2b 바이러스로 구성되었다.

[0205] [표 3]

[0206] 원리 연구 설계의 증명

그룹	N	수의학적 연구 제품(IVP)	예방접종	유발접종			검시
				일	균주	용량, 경로	
T01	10	위약	0 일째 (약3 주령) 2 mL IM 좌측 목	21 일 (약6 주령)	PCV2b	1 mL/ IM 2 mL/ IN	검시 (약9 주령) 및 조직 수집
T02	10	키메라성 PCV1:PCV2a					
T03	10	키메라성 PCV1:PCV2b					
T04	10	사멸된 PCV2b- 분지형					
T05	10	위약			PCV2a		
T06	10	키메라성 PCV1:PCV2a					
T07	10	키메라성 PCV1:PCV2b					
T08	10	사멸된 PCV2b- 분지형					
T09	10	위약			PCV2b- 분지형		
T10	10	키메라성 PCV1:PCV2a					
T11	10	키메라성 PCV1:PCV2b					
T12	10	사멸된 PCV2b- 분지형					

[0207]

[0208] 돼지는 예방접종 0 일째에 3 내지 4 주령이었다. 단일 용량의 배정된 백신 2 mL를 우측 목 내로 근육내로(IM) 투여하였다. 1" 또는 3/4" 바늘을 갖는 단일 3 mL 멸균 주사기를 각각의 돼지에 대해 사용하였다. 예방접종 세부사항을 기록하였다. 각각의 예방접종 후 비제한적으로 무기력, 호흡 곤란, 구토, 및 불균형을 포함하는 비정

상적 임상 징후에 대해 돼지를 1 시간 이내($\pm$ 30 분) 관찰하였다. 임의의 관찰된 임상 징후를 일반 건강 양식에 문서로 기록하였다. 전반적으로 불량한 상태 및 건강 쇠퇴의 징후를 나타낸 2 마리 돼지에 대해서는 수의사에게 후속 조치하도록 통지하였다. 이들 동물은 인도적으로 안락사시켰다.

- [0209] 유발접종은 돼지가 약 6 내지 7 주령이 되는 21 일에 수행하였다. 각각의 돼지에 4.8 내지 5.8 log₁₀ TCID₅₀/mL로 사전 희석된 병독성 PCV2b 균주 배양물 총 3 mL를 1 mL씩은 각각의 콧구멍에 비강내로(IN) 투여하고 1 mL는 근육내로(IM) 투여하였다. 유발접종 후 보유한 분취량의 유발접종 바이러스를 적정하여 실제 유발접종 용량을 확인하였다.
- [0210] 개별 혈액 샘플(5 내지 10 mL)을 -1 일(예방접종 전) 및 7, 14, 20/21, 28, 35 및 42 일에 혈청 분리기 튜브(SST)에 수집하였다. 샘플을 분주하고 -65℃ 이하에서 보관하여, 이후 ELISA에 의해 PCV2 항체 역가, 그리고 qPCR에 의해 PCV2 바이러스혈증에 대해 시험하였다.
- [0211] 유발접종 전(20/21 일) 및 유발접종 후 매주 각각의 돼지로부터 개별 대변 면봉 샘플을 채취하였다. 개별 멸균 폴리에스테르 면봉을 대변 면봉 수집을 위해 사용하고 3 mL 멸균 PBS 매질을 함유하는 튜브에 넣었다. 폐기 전에 면봉을 매질 중에 5 초 동안 휘저었다. 샘플을 분주하고 -65℃ 이하에서 보관하였다. 대변 면봉 샘플을 표준 정량 PCR 절차에 의해 바이러스 박리(shedding)에 대해 시험하였다.
- [0212] 검시 동안, 기관기관지, 장간막 및 표층 서혜 림프절, 및 편도 조직 섹션을 또한 각각의 돼지에 대해 2개씩 수집하고, 개별적으로 확인하고, 10% 완충 포르말린 중에 고정하였다. 한 세트는 보관한 반면, 다른 세트는 림프모양 고갈(PCVAD), 및 조직구성 대체에 대한 표준 조직병리 검사를 위해 제출하였다. 결론을 예(+) 또는 아니오(-)로 기록하였다. 하나 이상의 조직이 "+"로 스코어링된 경우, 돼지가 림프모양 고갈 또는 조직구성 대체를 갖는 것으로 간주하였다. 또한, 조직을 IHC에 의해 PCV2 항원에 대해서도 시험하였다. 결과를 0(염색 없음) 및 1 내지 3(상당한 염색 수준)으로 기록하였다. 스코어 0은 PCV2 IHC(-)로, 그리고 스코어 1 이상은 PCV2 IHC(+)로 간주하였다. 하나 이상의 조직이 IHC(+)인 경우, 돼지를 IHC(+)로 간주하였다.
- [0213] 1차 결과는 위약과 비교된 경우 후보 백신의 동종성 및 이종성 보호였다. 1차 변수는 바이러스혈증이었고, 2차 변수는 대변 박리 및 조직병리적 병변이었다.
- [0214] 표 4 및 5에 명시된 바와 같이, 결과는 돼지가 유발접종 전에 PCV2 바이러스혈증 및 대변 박리에 대해 음성으로 유지되었음을 시사하였다. 그러나 연구에 걸쳐, PCV2 바이러스혈증(표 4) 및 PCV2 대변 박리(표 5)에 대한 정량적 PCR에 의해 평가된 바와 같이, 모든 치료군의 모든 돼지는 일부 시점에서 PCV2에 대해 양성되었다.
- [0215] [표 4]

[0216] PCV2 바이러스혈증

치료	유발접종	시점(기하 LS 평균 DNA 카피)						
		유발접종-전				유발접종-후		
		-2 일	7 일	14 일	20 일	28 일	35 일	42 일
T01	PCV2b	0	0	0	0	30421	280798	5184
T02	PCV2b	0	0	0	0	1866	22	2
T03	PCV2b	0	0	0	0	3870	238	10
T04	PCV2b	0	0	0	0	615	66	6
T05	PCV2a	0	0	0	0	10927	22982	1906
T06	PCV2a	0	0	0	0	43	2	2
T07	PCV2a	0	0	0	0	25991	211465	189
T08	PCV2a	0	0	0	0	309	20	6
T09	PCV2b-분지형	0	0	0	0	413	384933	50683
T10	PCV2b-분지형	0	0	0	0	7	314	65
T11	PCV2b-분지형	0	0	0	0	406	427073	40711
T12	PCV2b-분지형	0	0	0	0	189	3315	9

[0217]

[0218] [표 5]

[0219] PCV2 대변 박리

치료	유발접종	시점(기하 LS 평균 DNA 카피)			
		유발접종-전	유발접종-후		
		20 일	28 일	35 일	42 일
T01	PCV2b	0	257	24822	106798
T02	PCV2b	0	7	7	0
T03	PCV2b	0	450	140	111
T04	PCV2b	0	43	288	16
T05	PCV2a	0	184	4130	23485
T06	PCV2a	0	0	16	2
T07	PCV2a	0	866	10072	6477
T08	PCV2a	0	387	73	20
T09	PCV2b-분지형	0	1007	199324	89204
T10	PCV2b-분지형	0	881	1880	65
T11	PCV2b-분지형	0	58519	480005	219127
T12	PCV2b-분지형	0	65	541	541

[0220]

[0221] PCV2 ELISA에 의해 측정된 바와 같이, 유발접종-전 역가는 모든 치료군의 최소 제곱(least square, LS) 평균 역가가 PCV2 항체 음성이었음을 시사하였다(표 6). PCV2 ELISA 항체 역가 > 0.5는 PCV2 항체 양성으로 간주된다.

[0222] [표 6]

[0223] **PCV2 ELISA**

치료	유발접종	-2 일	7 일	14 일	20 일	28 일	35 일	42 일
T01	PCV2b	0.1673	0.2741	0.1245	0.0241	0.0223	0.0995	0.3663
T02	PCV2b	0.1828	0.2934	0.1640	0.0644	0.3926	0.6212	0.5712
T03	PCV2b	0.1628	0.2783	0.1700	0.0183	0.0434	0.1833	0.2481
T04	PCV2b	0.1673	0.2593	0.1088	0.0278	0.1635	0.3956	0.3491
T05	PCV2a	0.2316	0.4322	0.2580	0.0320	0.0256	0.2396	0.3511
T06	PCV2a	0.1970	0.3726	0.2357	0.0887	0.4316	0.5458	0.4569
T07	PCV2a	0.2582	0.3787	0.2079	0.0399	0.0914	0.3066	0.4831
T08	PCV2a	0.1940	0.3437	0.2012	0.0357	0.2637	0.4717	0.4526
T09	PCV2b-분지형	0.1334	0.2283	0.1603	0.0070	0.0102	0.0989	0.2374
T10	PCV2b-분지형	0.1593	0.2071	0.1400	0.0518	0.4015	0.6827	0.6433
T11	PCV2b-분지형	0.1752	0.2484	0.1340	0.0252	0.0807	0.2255	0.3105
T12	PCV2b-분지형	0.1652	0.3035	0.1669	0.0270	0.2632	0.4868	0.4604

[0224]

[0225] 실험적인 PCV2b 분지형 백신 치료(T04, T08, 및 T12)는 수치적으로 PCV2 바이러스혈증(표 4) 및 대변 박리(표 5)를 감소시켰다. 이는 또한 면역조직화학(IHC) 스코어(표 7), 및 림프모양 고갈 스코어(표 8)에 의해 실증된 바와 같이, 위약과 비교된 경우 대부분의 시점에서 조직병리적 병변의 감소로 이어졌다. 유발접종 후, PCV2 ELISA 항체 역가에서 중간 정도의 이차면역 반응이 모든 유발접종군에서 관찰되어(표 6), 잠재적으로 백신 항원 용량에 추가 최적화가 필요함을 제시하였다. 본 연구에서는 통계적 비교를 수행하지 않았으나, PCV2b 분지형 백신 치료가 PCV2a, PCV2b 및 PCV2b-분지형 유발접종 군주에 대해 보호를 제공하였음은 분명하다.

[0226] PCV2 백신 효능의 평가에서, 바이러스혈증 및 림프모양 고갈은 여러 연구자들에 의해 측정해야 하는 주요 파라미터인 것으로 간주된다. 본 연구에서는, PCV2b 분지형 백신이 PCV2a 또는 PCV2b 백신보다 PCV2b 분지형 유발접종에 대해 수치적으로 더 우수하게 작용했음을 지지하는 것이 중요하다.

[0227] [표 7]

[0228] 면역조직화학(IHC) 스코어

치료	유발접종	비정상 이력?				총 관찰
		아니오		예		
		#	%	#	%	#
T01	PCV2b	2	22.2	7	77.8	9
T02	PCV2b	6	66.7	3	33.3	9
T03	PCV2b	4	50.0	4	50.0	8
T04	PCV2b	8	80.0	2	20.0	10
T05	PCV2a	3	30.0	7	70.0	10
T06	PCV2a	6	60.0	4	40.0	10
T07	PCV2a	4	44.4	5	55.6	9
T08	PCV2a	7	70.0	3	30.0	10
T09	PCV2b-분지형	4	40.0	6	60.0	10
T10	PCV2b-분지형	9	100.0	0	0.0	9
T11	PCV2b-분지형	2	22.2	7	77.8	9
T12	PCV2b-분지형	7	77.8	2	22.2	9

[0229]

[0230] [표 8]

[0231] 림프모양 고갈 스코어

치료	유발접종	비정상 이력?				총 관찰
		아니오		예		
		#	%	#	%	#
T01	PCV2b	3	33.3	6	66.7	9
T02	PCV2b	7	77.82	2	22.2	9
T03	PCV2b	7	87.5	1	12.5	8
T04	PCV2b	8	80.0	2	20.0	10
T05	PCV2a	4	40.0	6	60.0	10
T06	PCV2a	10	100.0	0	0	10
T07	PCV2a	6	66.7	3	33.3	9
T08	PCV2a	7	70.0	3	30.0	9
T09	PCV2b-분지형	5	50.0	5	50.0	10
T10	PCV2b-분지형	7	77.8	2	22.2	9
T11	PCV2b-분지형	5	55.6	4	44.4	9
T12	PCV2b-분지형	8	88.9	1	11.1	9

[0232]

[0233] 실시예 5: PCV2b 유발접종 모델 최적화 연구

[0234] 본 연구의 목표는 PCV2b 유발접종 물질 적정, 및 투여 경로를 평가하는 것이었다. 또한, 새로운 PCV2b 분지형 유발접종 제제의 예비 평가를 현재 검증된 PCV2a 및 PCV2b 유발접종 모델과 함께 수행하였다. 연구 설계의 개요를 표 9에 나타낸다.

[0235] [표 9]

[0236] **PCV2b 유발접종 모델 최적화 연구 설계**

그룹	N	유발접종			검시
		균주	적정	용량, 경로	
T01	12	PCV2b	4.7 log/3 mL	1 mL/ IM 2 mL/ IN	검시 (약9 주령) 및 조직 수집
T02	12		5.4 log/3 mL	1 mL/ IM 2 mL/ IN	
T03	12		6.1 log/3 mL	1 mL/ IM 2 mL/ IN	
T04	12		5.4 log/3 mL	3 mL/ IN	
T05	12	PCV2a	4.45 log/3 mL	1 mL/ IM 2 mL/ IN	
T06	12		5.15 log/3 mL	1 mL/ IM 2 mL/ IN	
T07	12		5.85 log/3 mL	1 mL/ IM 2 mL/ IN	
T08	12		5.15 log/3 mL	3 mL/ IN	
T09	12	PCV2b-분지형	4.38 log/3 mL	1 mL/ IM 2 mL/ IN	
T10	12		5.08 log/3 mL	1 mL/ IM 2 mL/ IN	
T11	12		5.78 log/3 mL	1 mL/ IM 2 mL/ IN	
T12	12		5.08 log/3 mL	3 mL/ IN	

[0237]

[0238] 0 일째에 PCV2에 대한 혈청 항체가 낮거나 음성이고 PCV2 바이러스혈증이 없는 약 6 주령의 잡종 돼지를 별도 대기 공간을 가진 BSL-2 시설의 배정된 우리/방에 배치하였다. 여기에는 3개 방 각각에 4개의 우리와 있었고, 1 우리 당 12 마리 돼지가 있었다. 연구에 걸쳐 돼지는 배정된 우리에서 유지되었다. 돼지는 연구에 걸쳐 물, 및 약물이 투여되지 않은 연령에 적절한 완전 배급에 자유롭게 접근하였다. 모든 돼지는 최소 3 일 동안 적응할 수 있도록 하였다.

[0239] 유발접종은 0 일째에, 돼지가 약 6 주령이 될 때 수행하였다. 각각의 돼지에 4.0 내지 6.0 +/- 0.5 log₁₀ TCID₅₀/mL로 사전 희석된 각각의 유발접종 바이러스 총 3 mL를 접종하고, 치료군에 따라 2 mL는 각각의 콧구멍에 비강내로(IN) 투여하고 1 mL는 근육내로(IM) 투여하거나, 3 mL를 IN 투여하였다. 보관한 분취량의 유발접종 바이러스를 유발접종 후 적정하여 실제 유발접종 용량을 확인하였다.

[0240] 개별 혈액 샘플(5 내지 10 mL)을 -21 일, -1 일(예방접종 전), 및 7, 14 및 21 일에 혈청 분리기 튜브(SST)에 수집하였다. 샘플을 분주하고 -65℃ 이하에서 보관하였다. -21, -1, 7, 14 및 21 일의 혈청을 ELISA에 의해 PCV2 항체 역가, 그리고 qPCR에 의해 PCV2 바이러스혈증에 대해 시험하였다.

[0241] 유발접종 전(-1 일) 및 유발접종 후 매주 각각의 돼지로부터 개별 대변 면봉 샘플을 채취하였다. 개별 멸균 폴리에스테르 면봉을 대변 면봉 수집을 위해 사용하고 3 mL 멸균 PBS 매질을 함유하는 튜브에 넣었다. 폐기 전에 면봉을 매질 중에 5 초 동안 휘저었다. 샘플을 분주하고 -65℃ 이하에서 보관하였다. 대변 면봉 샘플을 표준 정량 PCR 절차에 의해 바이러스 박리에 대해 시험하였다.

[0242] 검시 동안, 기관기관지, 장간막 및 표층 서혜 림프절, 및 편도 조직 섹션을 또한 각각의 돼지에 대해 2개씩 수집하고, 개별적으로 확인하고, 10% 완충 포르말린 중에 고정하였다. 한 세트를 림프모양 고갈(PCVAD), 및 조직구성 대체에 대한 표준 조직병리 검사를 위해 제출하였다. 결론을 예(+) 또는 아니오(-)로 기록하였다. 하나 이상의 조직이 "+"로 스코어된 경우, 돼지가 림프모양 고갈 또는 조직구성 대체를 갖는 것으로 간주하였다. 또한, 조직을 IHC에 의해 PCV2 항원에 대해서도 시험하였다. 결과를 0(염색 없음) 및 1 내지 3(상당한 염색 수준)으로 기록하였다. 스코어 0은 PCV2 IHC(-)로, 그리고 스코어 1 이상은 PCV2 IHC(+)로 간주하였다. 하나 이상

의 조직이 IHC(+)인 경우, 폐지를 IHC(+)로 간주하였다.

[0243] PCV 역학의 실제 복잡성 및 PCV2 qPCR의 민감성으로 인해, 일부 폐지가 유발접종 전에 바이러스혈증이 되는 것이 가능하다. 유발접종 전에 바이러스혈증을 시험하는 폐지는 연구에서 제거될 수 있고, 임상 후원자의 재량에 기반하여 데이터 분석에서 제외될 수 있다.

[0244] 1차 결과는 PCV2a 및 PCV2b에 대해 검증된 모델에 대비하여 시험된 PCV2b 분지형 유발접종 단리체이다.

[0245] 결과

[0246] PCV2b 분지형 유발접종 단리체가 투여된 동물은 치료군에 걸쳐 유발접종 전부터 연구 말기까지 항체 역가 증가를 가졌다. 회석되지 않은 유발접종군에 이어 T12 군(1:5 회석됨, IN 투여됨)은 유발접종 후 14 일에 피크 바이러스혈증을 가졌고, 각각 4 백만 및 1 백만 DNA 카피/mL를 초과하였다. 회석되지 않은 유발접종 물질의 피크 PCV2 박리는 754,114 DNA 카피/mL이었다. 회석되지 않은 IM/IN 및 1:5 IN 단독에서는 조직병리적 비정상성 및 PCV2 군집화에 대해 양성인 가장 많은 수의 동물을 유도하였다.

[0247] 상기 PCV2b 유발접종 최적화 연구로부터 수집된 데이터(데이터는 도시되지 않음)에 기반하여, 유발접종 경로 및 용량을 비강내 3 mL로 변경하였다. 유발접종 경로 및 용량의 변경은 근육내 투여에 의해 야기되는 것으로 여겨진 이상 반응의 가능성을 감소시키고 전반적인 유발접종 섭취를 증가시키는 것으로 여겨진다.

[0248] 실시예 6: PCV2b 유발접종에 대한 2개 백신 후보의 평가

[0249] 본 연구의 목표는 각각 PCV2b 유발접종에 대해 저 및 고 항원 용량으로 제시되는 키메라성 PCV2b 백신 및 PCV2b 분지형 백신의 보호를 평가하기 위한 것이었다. 연구 설계는 표 10에서 개괄된다. 위약(T01)은 10% SP-오일이었다. IVP는 하기와 같았다: T02, 사멸된 PCV1:PCV2b 캡시드 키메라 저 용량(cPCV2b 저), 10% SP-오일을 아쥬반트로 포함; T03, 사멸된 PCV1:PCV2b 캡시드 키메라 고 용량(cPCV2b 고), 10% SP-오일을 아쥬반트로 포함; T04, 사멸된 PCV2b-분지형 백신 저 용량(PCV2b DIV 저), 10% SP-오일을 아쥬반트로 포함; T05, 사멸된 PCV2b-분지형 백신 고 용량(PCV2b DIV 고), 10% SP-오일을 아쥬반트로 포함. 백신을 20x 농축된 항원을 이용해서 생산한 다음 하기와 같이 백신을 제형화하였다: 0.69% 항원 투입 = 저 용량 또는 3.00% 항원 투입 = 고 용량.

[0250] [표 10]

[0251] 연구 설계

그룹	N	수의학적 연구 제품(IVP)	예방접종	유발접종			검시
				일수	균주	용량, 경로	
T01	12	위약	0 일째 (약3 주령) 2 mL IM 우측 목	21 일 (약6 주령)	PCV2b	3 mL IN	42 일 (약9 주령) 및 조직 수집
T02	12	사멸된, 아쥬반트 포함 PCV1:PCV2b 키메라 (저 용량)					
T03	12	사멸된, 아쥬반트 포함 PCV1:PCV2b 키메라 (고용량)					
T04	12	사멸된, 아쥬반트 포함 PCV2b-분지형 (저 용량)					
T05	12	사멸된, 아쥬반트 포함 PCV2b-분지형 (고용량)					

[0252]

[0253] 폐지는 예방접종을 위해 0 일째에 약 3 주령(21 ± 7 일령)이었다. 치료 투여기로 우측 목 내로 단일 용량의 예정된 백신 2 mL를 근육내로(IM) 투여하였다. 1" 또는 3/4" 바늘을 갖는 단일 3 mL 멸균 주사기를 각 폐지에 대해 사용하였다. 예방접종 세부사항을 기록하였다. 비제한적으로 무기력, 호흡 곤란, 구토 및 불균형을 포함하는

비정상적 임상 징후에 대해 돼지를 각각의 예방접종 후 1 시간(± 30 분) 내에 관찰하였다. 임의의 관찰된 임상 징후를 일반 건강 양식 상에 문서로 기록하였다. 상술된 임의의 징후를 갖는 돼지(들)에 대해서는 수의사에게 후속 조치하도록 통지하였다.

[0254] 유발접종은 돼지가 약 6 주령이 되는 21 일째에 수행하였다. 각각의 돼지에 4.8 내지 5.8 log₁₀ TCID₅₀/mL로 사전 희석된 병독성 PCV2b 균주의 배양물 총 3 mL를 비강내로(IN) 접종하였다. 유발접종 후 보유한 분취량의 유발접종 바이러스를 적정하여 실제 유발접종 용량을 확인하였다.

[0255] 개별 혈액 샘플(5 내지 10 mL)을 -1 일(예방접종 전) 및 7, 14, 20/21, 28, 35 및 42 일에 혈청 분리기 튜브(SST)에 수집하였다. 샘플을 분주하고 -65℃ 이하에서 보관하였다. 이들을 이후 ELISA에 의해 PCV2 항체 역가, 그리고 qPCR에 의해 PCV2 바이러스혈증에 대해 시험하였다.

[0256] 유발접종 전(20/21 일) 및 유발접종 후 매주 각각의 돼지로부터 개별 대변 면봉 샘플을 채취하였다. 개별 멸균 폴리에스테르 면봉을 대변 면봉 수집을 위해 사용하고 3 mL 멸균 PBS 매질을 함유하는 튜브에 넣었다. 폐기 전에 면봉을 매질 중에 5 초 동안 휘저었다. 샘플을 분주하고 -65℃ 이하에서 보관하였다. 대변 면봉 샘플을 표준정량 PCR 절차에 의해 바이러스 박리에 대해 시험하였다.

[0257] 검시 동안, 기관기관지, 장간막 및 표층 서혜 림프절 및 편도 조직 섹션을 또한 각각의 돼지에 대해 2개씩 수집하고, 개별적으로 확인하고, 10% 완충 포르말린 중에 고정하였다. 한 세트는 보관한 반면, 다른 세트는 림프모양 고갈(PCVAD), 및 조직구성 대체에 대한 표준 조직병리 검사를 위해 제출하였다. 결론을 예(+) 또는 아니오(-)로 기록하였다. 하나 이상의 조직이 "+"로 스코어링된 경우, 돼지가 림프모양 고갈 또는 조직구성 대체를 갖는 것으로 간주하였다. 또한, 조직을 IHC에 의해 PCV2 항원에 대해서도 시험하였다. 결과를 0(염색 없음) 및 1 내지 3(상당한 염색 수준)으로 기록하였다. 스코어 0은 PCV2 IHC(-)로, 그리고 스코어 1 이상은 PCV2 IHC(+)로 간주하였다. 하나 이상의 조직이 IHC(+)인 경우, 돼지를 IHC(+)로 간주하였다.

[0258] 1차 결과는 위약과 비교된 경우, PCV2b 유발접종에 대한 4개의 후보 백신 중 하나의 보호였다. 1차 변수는 바이러스혈증이었고, 2차 변수는 대변 박리 및 조직병리적 병변이었다.

[0259] 결과

[0260] PCV2 바이러스혈증

[0261] 혈청을 매주 수집하고, 정량적 PCR에 의해 PCV2 바이러스혈증에 대해 분석하였다. 각각의 연구일 별 기하 최소제곱 평균을 도 2에 나타낸다. 모든 돼지는 아래 표 11에 나타난 바와 같이, 유발접종 전에 PCV2 바이러스혈증에 대해 음성으로 유지되었다.

[0262] [표 11]

[0263] 연구일 별 qPCR로 시험된 PCV2 바이러스혈증(DNA 카피)

치료	시리즈	시점(기하 LS 평균 DNA 카피)						
		유발접종-전				유발접종-후		
		-1 일	7 일	14 일	20 일	28 일	35 일	44 일
T01	위약	0	0	0	0	30	132010.6	24113.9
T02	cPCV2b 저	0	0	0	0	3.8	0	0
T03	cPCV2b 고	0	0	0	0	1.2	4.5	0
T04	PCV2b DIV 저	0	0	0	0	29.9	12.1	1.4
T05	PCV2b DIV 고	0	0	0	0	1.2	0	0

[0264]

[0265] 치료 및 유발접종 별 PCV2 바이러스혈증(DNA 카피)을 아래 표 12에 기재한다. 모든 치료군은 35 및 44 일에 유발접종 후 T01 군으로부터 유의미하게 상이하였다($P < 0.0001$).

[0266] 연구 과정에 걸쳐 양성 이력이 있는 동물의 퍼센트를 아래에 열거한다(표 12). 위약군은 예방접종군에 비해 양성 이력이 있는 동물의 수가 유의미하게 더 높았다($P < 0.0124$).

[0267] [표 12]

[0268] qPCR 정성적 혈청 바이러스혈증 - 양성 이력 퍼센트

시리즈	양성 이력?				총 관찰	P-값
	양성		음성			
	#	%	#	%	수	
위약	11	100.0	0	0	11	
cPCV2b 저	2	16.7	10	83.3	12	0.0001
cPCV2b 고	2	16.7	10	83.3	12	0.0001
PCV2b DIV 저	5	45.5	6	54.5	11	0.0124
PCV2b DIV 고	1	8.3	11	91.7	12	0.0001

[0269]

[0270] PCV2 대변 박리

[0271] 연구일 별 대변 박리 기하 최소 제곱 평균을 도 3에 나타낸다. 치료 및 유발접종 별 PCV2 대변 박리(DNA 카피)를 아래 표 13에 기재한다. 모든 치료군은 35 및 44 일에 유발접종 후 T01 군으로부터 유의미하게 상이하였다($P < 0.0001$).

[0272] [표 13]

[0273] qPCR로 시험된 PCV2 대변 박리(DNA 카피)

치료	시리즈	시점(기하 LS 평균 DNA 카피)			
		유발접종 전		유발접종 후	
		20 일	28 일	35 일	44 일
T01	위약	0	29.9	65713.8	19996.2
T02	cPCV2b 저	0	3.8	3.8	0
T03	cPCV2b 고	0	1.2	1.3	0
T04	PCV2b DIV 저	0	29.9	12.1	1.4
T05	PCV2b DIV 고	0	1.2	9.6	0

[0274]

[0275] 연구 과정에 걸쳐 박리에 대해 양성 이력이 있는 동물의 퍼센트를 아래에 열거한다(표 14). 위약군은 예방접종 군에 비해 박리에 대해 양성 이력이 있는 동물의 수가 유의미하게 더 높았다($P < 0.0124$).

[0276] [표 14]

[0277] qPCR 정성적 대변 박리 - 양성 이력 퍼센트

시리즈	양성 이력 ?				총 관찰	P-값
	양성		음성			
	#	%	#	%	수	
위약	11	100.0	0	0	11	
cPCV2b 저	3	25.0	9	75.0	12	0.0003
cPCV2b 고	1	8.3	11	91.7	12	≤ 0.0001
PCV2b DIV 저	5	45.5	6	54.5	11	0.0124
PCV2b DIV 고	4	33.3	8	66.7	12	0.0013

[0278]

[0279] 혈청 항체 반응

[0280] 연구일 별 각 치료의 PCV2 항체 역가 평균을 도 4에 나타낸다. 모든 돼지는 유발접종 전에 PCV2 혈청 음성이었

다. 위약군의 돼지는 유발접종 전에 혈청 음성으로 유지되었다.

[0281] PCV2 ELISA 항체 역가를 아래 표 15에 요약한다. 0.5 초과와 모든 역가를 PCV2 항체 양성으로 간주한다. 모든 백신군의 돼지는 위약과 비교된 경우 예방접종 후 28 내지 44 일에 PCV2 항체 역가의 유의미한 증가를 나타내어 ($P \leq 0.0895$), 예방접종 후 PCV2에 대한 활성 면역 반응을 시사하였다. 또한, T03 및 T05도 예방접종 후 20 일에 유의미하게 더 높은 역가를 가졌다(각각 $P \leq 0.0684$ 및 $P \leq 0.0738$).

[0282] [표 15]

[0283] 연구일 별 PCV2 ELISA S/P LS 평균 역가

치료	-1 일	7 일	14 일	20 일	28 일
위약	0.215	0.172	0.092	0.066	0.046
cPCV2b 저	0.203	0.168	0.119	0.113	0.266*
cPCV2b 고	0.195	0.156	0.118	0.138*	0.214*
PCV2b DIV 저	0.193	0.176	0.090	0.086	0.172*
PCV2b DIV 고	0.233	0.191	0.125	0.137*	0.157*
치료	35 일	44 일			
위약	0.225	0.526			
cPCV2b 저	0.715*	0.807*			
cPCV2b 고	0.667*	0.706*			
PCV2b DIV 저	0.563*	0.685*			
PCV2b DIV 고	0.702*	0.783*			

[0284]

[0285] 조직병리: 림프모양 고갈(LD) 및 림프모양 조직에서의 바이러스 감염(IHC)

[0286] PCV2 퍼센트 비정상 조직병리 스코어(데이터는 도시되지 않음)는 림프모양 병변 및 PCV2 항원의 존재를 고려하는 경우, 위약군 및 예방접종군 간에 유의미한 차이를 나타내지 않았다.

[0287] 상기 연구로부터의 데이터는 연구 상의 모든 돼지가 하기에 의해 입증된 바와 같이 21 일째의 유발접종까지 PCV2 감염이 없는 채 유지되었음을 명시하였다: 1) 예방접종 시부터 유발접종 시까지 매주 간격으로 수집된 혈청 중 검출가능한 PCV2 DNA의 부재, 및 2) 유발접종 전 PCV2에 대한 임의의 의도되지 않은 노출이 없는 T01 군 사이에서 혈청학적 증거의 부재. 모든 백신은 예방접종된 동물이 유발접종 후 바이러스혈증이 되는 것을 유의미하게 보호하였다. 또한, 모든 백신은 예방접종된 동물에서 유발접종 후 PCV2의 대변 박리를 유의미하게 감소시켰다. 모든 백신군에서의 돼지는 위약과 비교된 경우, 예방접종 후 28 내지 44 일에 PCV2 항체 역가의 유의미한 증가($P \leq 0.0895$)를 나타내어, 예방접종 후 PCV2에 대한 활성 면역 반응을 시사하였다. 모든 예방접종군 대 대조군에서 군집화의 수치적 감소(IHC)가 있었으나, 통계적으로 유의미하지는 않았다. 군 간 유의차의 부재는 대조군에서 나타난 약한 유발접종 섭취에 기인할 수 있었다.

[0288] 실시예 7: PCV2b-분지형 유발접종에 대한 두 백신 후보의 평가

[0289] 본 연구의 목표는 각각 PCV2b 분지형 유발접종에 대해 저 및 고 항원 용량으로 제시되는 키메라성 PCV2b 백신 및 PCV2b 분지형 백신뿐만 아니라 배칼로바이러스에서 발현된 PCV2a 캡시드의 보호를 평가하기 위한 것이었다. 연구 설계는 표 16에서 개괄된다. 위약(T01)은 10% SP-오일이었다. IVP는 하기와 같았다: T02, 사멸된 PCV1:PCV2b 캡시드 키메라 저 용량(cPCV2b 저), 10% SP-오일을 아쥬반트로 포함; T03, 사멸된 PCV1:PCV2b 캡시드 키메라 고 용량(cPCV2b 고), 10% SP-오일을 아쥬반트로 포함; T04, 사멸된 PCV2b-분지형 백신 저 용량(PCV2b DIV 저), 10% SP-오일을 아쥬반트로 포함; T05, 사멸된 PCV2b-분지형 백신 고 용량(PCV2b DIV 고), 10% SP-오일을 아쥬반트로 포함; T06, 수계 아쥬반트 중 PCV2a 캡시드를 발현하는 사멸된 배칼로바이러스(대조 생성물). T02 내지 T05 백신을 20x 농축된 항원을 이용해서 생산한 다음 하기와 같이 백신을 제형화하였다: 0.69% 항원 투입 = 저 용량 또는 3.00% 항원 투입 = 고 용량.

[0290] [표 16]

[0291] 연구 설계

그룹	N	수의학적 연구 제품(IVP)	예방접종	유발접종			검시
				일	균주	용량, 경로*	
T01	12	위약	0 일째 (약3 주령) 2 mL IM 우측 목	21 일 (약6 주령)	PCV2b- 분지형	3 mL IN	42 일 (약9 주령) 및 조직 수집
T02	12	사멸된, 아쥬반트 포함 PCV1:PCV2b 키메라 (저 용량)					
T03	12	사멸된, 아쥬반트 포함 PCV1:PCV2b 키메라 (고용량)					
T04	12	사멸된, 아쥬반트 포함 PCV2b-분지형 (저 용량)					
T05	12	사멸된, 아쥬반트 포함 PCV2b-분지형 (고용량)					
T06	12	사멸된, PCV2a 캡시드를 발현하는 배콜로바이러스	1 mL IM 우측 목				

[0292]

[0293]

돼지는 예방접종을 위해 0 일째에 약 3 주령(21 ± 8 일령)이었다. 치료 투여기로 우측 목 내로 단일 용량의 예정된 백신 2 mL(T01 내지 T05) 또는 1 mL(T06)를 근육내로(IM) 투여하였다. 1" 또는 3/4" 바늘을 갖는 단일 3 mL 멸균 주사기를 각 돼지에 대해 사용하였다. 예방접종 세부사항을 기록하였다. 비제한적으로 무기력, 호흡 곤란, 구토 및 불균형을 포함하는 비정상적 임상 징후에 대해 돼지를 각각의 예방접종 후 1 시간(± 30 분) 내에 관찰하였다. 임의의 관찰된 임상 징후를 일반 건강 양식 상에 문서로 기록하였다. 상술된 임의의 징후를 갖는 돼지(들)에 대해서는 수의사에게 후속 조치하도록 통지하였다.

[0294]

유발접종은 돼지가 약 6 주령이 되는 21 일째에 수행하였다. 각각의 돼지에 4.8 내지 5.8 log₁₀ TCID₅₀/mL로 사전 희석된 병독성 PCV2b 분지형 균주 배양물 총 3 mL를 비강내로(IN) 접종하였다. 유발접종 후 보유했던 분취량의 유발접종 바이러스를 적정하여 실제 유발접종 용량을 확인하였다.

[0295]

개별 혈액 샘플(5 내지 10 mL)을 -1 일(예방접종 전) 및 7, 14, 20/21, 28, 35 및 42 일에 혈청 분리기 튜브(SST)에 수집하였다. 샘플을 분주하고 -65°C 이하에서 보관하였다. 이들을 이후 ELISA에 의해 PCV2 항체 역가, 그리고 qPCR에 의해 PCV2 바이러스혈증에 대해 시험하였다.

[0296]

유발접종 전(20/21 일) 및 유발접종 후 매주 각각의 돼지로부터 개별 대변 면봉 샘플을 채취하였다. 개별 멸균 폴리에스테르 면봉을 대변 면봉 수집을 위해 사용하고 3 mL 멸균 PBS 매질을 함유하는 튜브에 넣었다. 폐기 전에 면봉을 매질 중에 5 초 동안 휘저었다. 샘플을 분주하고 -65°C 이하에서 보관하였다. 대변 면봉 샘플을 표준 정량 PCR 절차에 의해 바이러스 박리에 대해 시험하였다.

[0297]

검시 동안, 기관기관지, 장간막 및 표층 서혜 림프절, 및 편도 조직 섹션을 또한 각각의 돼지에 대해 2개씩 수집하고, 개별적으로 확인하고, 10% 완충 포르말린 중에 고정하였다. 한 세트는 보관한 반면, 다른 세트는 림프모양 고갈(PCVAD), 및 조직구성 대체에 대한 표준 조직병리 검사를 위해 제출하였다. 결론을 예(+) 또는 아니오(-)로 기록하였다. 하나 이상의 조직이 "+"로 스코어링된 경우, 돼지가 림프모양 고갈 또는 조직구성 대체를 갖는 것으로 간주하였다. 또한, 조직을 IHC에 의해 PCV2 항원에 대해서도 시험하였다. 결과를 0(염색 없음) 및 1 내지 3(상당한 염색 수준)으로 기록하였다. 스코어 0은 PCV2 IHC(-)로, 그리고 스코어 1 이상은 PCV2 IHC(+)로 간주하였다. 하나 이상의 조직이 IHC(+)인 경우, 돼지를 IHC(+)로 간주하였다.

[0298]

1차 결과는 위약과 비교된 경우, PCV2b 분지형 유발접종에 대한 4개의 후보 백신 및 배콜로바이러스 백신 중 하나의 보호였다. 1차 변수는 바이러스혈증이었고, 2차 변수는 대변 박리 및 조직병리적 병변이었다.

[0299]

PCV2 바이러스혈증

[0300]

혈청을 매주 수집하고, 정량적 PCR에 의해 PCV2 바이러스혈증에 대해 분석하였다. 각각의 연구일 별 기하 최소 제곱 평균을 도 5에 나타낸다. T04 및 T05 군 둘 다에서 한 마리씩의 동물을 제외한 모든 돼지는 아래 표 17에 나타낸 바와 같이, 유발접종 전에 PCV2 바이러스혈증에 대해 음성으로 유지되었다.

[0301] [표 17]

[0302] 연구일 별 qPCR로 시험된 PCV2 바이러스혈증(DNA 카피)

치료	시리즈	시점(LS 평균 DNA 카피)						
		유발접종-전				유발접종-후		
		-1 일	7 일	14 일	20 일	28 일	35 일	44 일
T01	위약	0	0	0	0	12.2	91196.2	22165.7
T02	cPCV2b 저	0	0	0	0	3.8	68	4.9
T03	cPCV2b 고	0	0	0	0	0.0	1.2	0.0
T04	PCV2b DIV 저	0	0	0	1.2	1.5	3.8	0.0
T05	PCV2b DIV 고	0	0	0	1.2	0.0	3.8	0.0
T06	PCV2a 캡시드를 발현하는 배큘로바이러스	0	0	0	0.0	1.2	86.0	3.8

[0303]

[0304] 연구 과정에 걸쳐 양성 이력이 있는 동물의 퍼센트를 아래에 열거한다(표 18). 위약군은 예방접종군에 비해 양성 이력이 있는 동물의 퍼센트가 유의미하게 더 높았다($P \leq 0.0046$).

[0305] [표 18]

[0306] qPCR 정성적 혈청 바이러스혈증 - 양성 이력 퍼센트

치료	시리즈	양성 이력?				총 관찰	P-값
		양성		음성			
		#	%	#	%	수	
T01	위약	12	100.0	0	0	12	
T02	cPCV2b 저	5	41.7	7	58.3	12	0.0046
T03	cPCV2b 고	1	8.3	11	91.7	12	0.0001
T04	PCV2b DIV 저	2	16.7	10	83.3	12	0.0001
T05	PCV2b DIV 고	2	16.7	10	83.3	12	0.0001
T06	PCV2a 캡시드를 발현하는 배큘로바이러스	5	41.7	7	58.3	12	0.0046

[0307]

[0308] PCV2 대변 박리

[0309] 연구일 별 대변 박리 기하 최소 제곱 평균을 도 6에 나타낸다. 치료 및 유발접종 별 PCV2 대변 박리(DNA 카피)를 아래 표 19에 기재한다. T04 군에서의 한 마리 동물에서 유발접종 전날에 박리가 있었다. 모든 백신군은 유발접종 후 35 및 44 일에 위약군에 비해 박리되는 최소 제곱 평균 PCV2 DNA 카피수가 유의미하게 더 낮았다($P \leq 0.0001$). 또한, T03, T05 및 T06 군은 연구 28 일에 최소 제곱 평균 DNA 카피가 유의미하게 더 낮은 박리를 갖는 것으로 주지되었다($P \leq 0.0830$).

[0310] [표 19]

[0311] qPCR로 시험된 PCV2 대변 박리(DNA 카피)

치료	시리즈	시점(기하 LS 평균 DNA 카피)			
		유발접종 전		유발접종 후	
		20 일	28 일	35 일	44 일
T01	위약	0	22.3	24228.5	10281.5
T02	cPCV2b 저	0	111.3	36.2	5.1
T03	cPCV2b 고	0	1.2	0.0	0.0
T04	PCV2b DIV 저	1.2	1.7	1.2	5.0
T05	PCV2b DIV 고	0	0.0	0.0	0.0
T06	PCV2a 캡시드를 발현하는 배콜로바이러스	0	0.0	3.8	0.0

[0312]

[0313] 연구 과정에 걸쳐 박리에 대해 양성 이력이 있는 동물의 퍼센트를 아래에 열거한다(표 20). 유발접종 후, 위약 군과 비교된 경우 T03 내지 T06 군은 박리된 PCR로 검출가능한 PCV2 DNA를 갖는 돼지 퍼센트가 유의미하게 감소되었다($P \leq 0.0028$).

[0314] [표 20]

[0315] qPCR 양성적 대변 박리 - 양성 이력 퍼센트

	양성 이력?				총 관찰	P-값
	양성		음성			
	#	%	#	%	수	
위약	11	91.7	1	8.3	12	
cPCV2b 저	8	66.7	4	33.3	12	0.3168
cPCV2b 고	1	8.3	11	91.7	12	0.0001
PCV2b DIV 저	3	25.0	9	75.0	12	0.0028
PCV2b DIV 고	0	0	12	100.0	12	0.0001
PCV2a 캡시드를 발현하는 배콜로바이러스	2	16.7	10	83.3	12	0.0006

[0316]

[0317] 혈청 항체 반응

[0318] PCV2 항체 역가에 관해, 결과는 PCV2b 분지형 백신 치료(T04; T05)가 ELISA로 평가된 바와 같이, 연구 21 일째에 유발접종 전 다른 치료에 비해 더 강한 혈청학적 반응을 가졌음을 시사하였다(표 21; 도 7). 그러나, 유발접종 후, PCV2b 분지형 치료는 다른 치료만큼 강력하게 반응하지 않았다(도 7). 하나의 가능한 결론은 동물이 이미 특이적인 강한 항-PCV2b 분지형 항체 반응을 가졌고, 유발접종 바이러스를 매우 빠르게 중화하고 제거할 수 있었다는 것이다. 이는 이중성 백신에서와 비교된 경우 감소된 유발접종 후 항체 반응 반영되었다. 혈청학이 효능과 동일하지 않지만, 유효한 백신을 수여받은 돼지에서의 항체 역가 감소는 보호를 시사하는 것으로 나타났다(Thacker 등, 2013, Proc AASV, 217).

[0319] [표 21]

[0320] PCV2 ELISA

치료	연구일						
	-1	7	14	20	28	35	43
T01	0.2094	0.1427	0.0937	0.0824	0.0539	0.0877	0.3064
T02	0.1943	0.1249	0.1133	0.0981	0.1328	0.7637*	0.7935*
T03	0.2102	0.1377	0.1458	0.1671*	0.2362*	0.8084*	0.7973*
T04	0.1856	0.1399	0.1467	0.1560	0.2388*	0.4836*	0.6209*
T05	0.2064	0.1274	0.0772	0.1362	0.2902*	0.5438*	0.5749*
T06	0.1814	0.1283	0.0999	0.1089	0.1627	0.8350*	0.8902*

*P-값<0.10 대 T01

[0321]

[0322] 조직병리: 림프모양 고갈(LD) 및 림프모양 조직에서의 바이러스 감염(IHC)

[0323] 검시 시, 위약군과 비교된 경우, 모든 백신군은 현미경적 림프모양 병변(LD) 및 PCV2 항원 군집화(IHC)를 갖는 동물의 퍼센트가 유의미하게 더 적었다($P \leq 0.0995$).

[0324] PCV2 IHC 데이터를 아래 표 22에 요약한다.

[0325] [표 22]

[0326] PCV2 IHC 스코어: 림프모양 또는 편도 조직에 비정상 이력이 있는 경우

치료	시리즈	비정상 이력?				총 관찰
		아니오		예		
		#	%	#	%	수
T01	위약	4	33.3	8	66.7	12
T02	cPCV2b 저	9	75	3	25	12
T03	cPCV2b 고	10	83.3	2	16.7	12
T04	PCV2b DIV 저	11	91.7	1	8.3	12
T05	PCV2b DIV 고	12	100	0	0	12
T06	PCV2a 캡시드를 발현하는 배칼로바이러스	12	100	0	0	12

[0327]

[0328] PCV2 림프모양 고갈(LD) 데이터를 아래 표 23에 요약한다.

[0329] [표 23]

[0330] PCV2 림프모양 고갈 스코어: 림프모양 또는 편도 조직에 비정상 이력이 있는 경우

시리즈	비정상 이력?				총 관찰
	아니오		예		
	#	%	#	%	수
위약	4	33.3	8	66.7	12
cPCV2b 저	9	75	3	25	12
cPCV2b 고	12	100	0	0	12
PCV2b DIV 저	10	83.3	2	16.7	12
PCV2b DIV 고	11	91.7	1	8.3	12
PCV2a 캡시드를 발현하는 배칼로바이러스	12	100	0	0	12

[0331]

[0332] 본 연구로부터의 데이터는 모든 치료군의 최소 제공 평균 PCV2 역가가 예방접종 전 혈청 음성이었음을 시사하였다. 위약군의 돼지는 유발접종 전에 혈청 음성으로 유지되었다. T04 및 T05 군 둘 다에서 한 마리의 돼지가 유발접종 전날에 바이러스혈증이였다. T04 군에서의 동물은 또한 박리를 나타냈으나, 10% 미만의 동물이 유발접종 전에 바이러스혈증이 되었고, 연구는 유효한 것으로 간주되었다. 유발접종 후, 위약군과 비교된 경우, 모든 예

방접종군은 바이러스혈증 돼지 폐센트에서 유의미한 감소가 있었다. 유발접종 후, 위약군과 비교된 경우, T03 내지 T06 군은 PCR로 검출가능한 PCV2 DNA를 박리하는 돼지 폐센트에서 유의미한 감소가 있었다. 검시 시, 위약군과 비교된 경우, 모든 백신군은 현미경적 림프모양 병변(LD) 및 PCV2 항원 군집화를 갖는 동물의 백분율이 유의미하게 더 적었다. 본 연구는 cPCV1-2b, PCV2b 분지형 및 PCV2a 캡시드 백신을 발현하는 배칼로바이러스가 PCV2b 분지형 군주 유발접종에 대해 교차 보호함을 나타내었다.

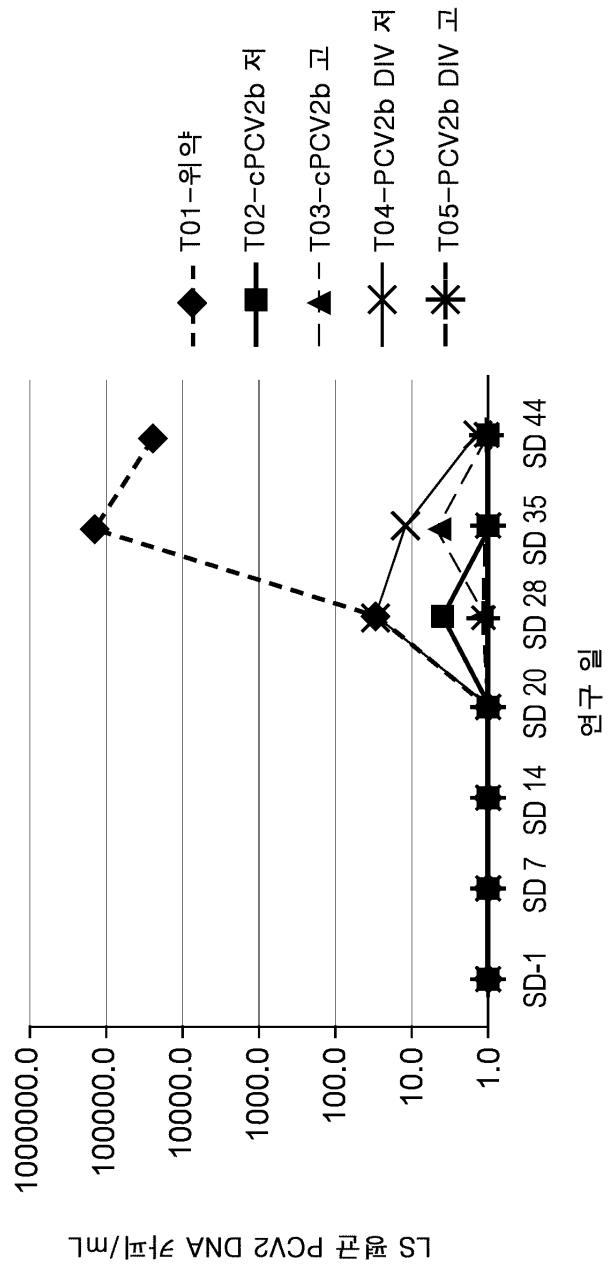
상기 실시예는 단지 예시로서 제공되고, 여기서의 어느 것도 본 발명의 전반적인 범위에 대한 제한으로 간주되어서는 안 됨이 이해되어야 한다.

도면

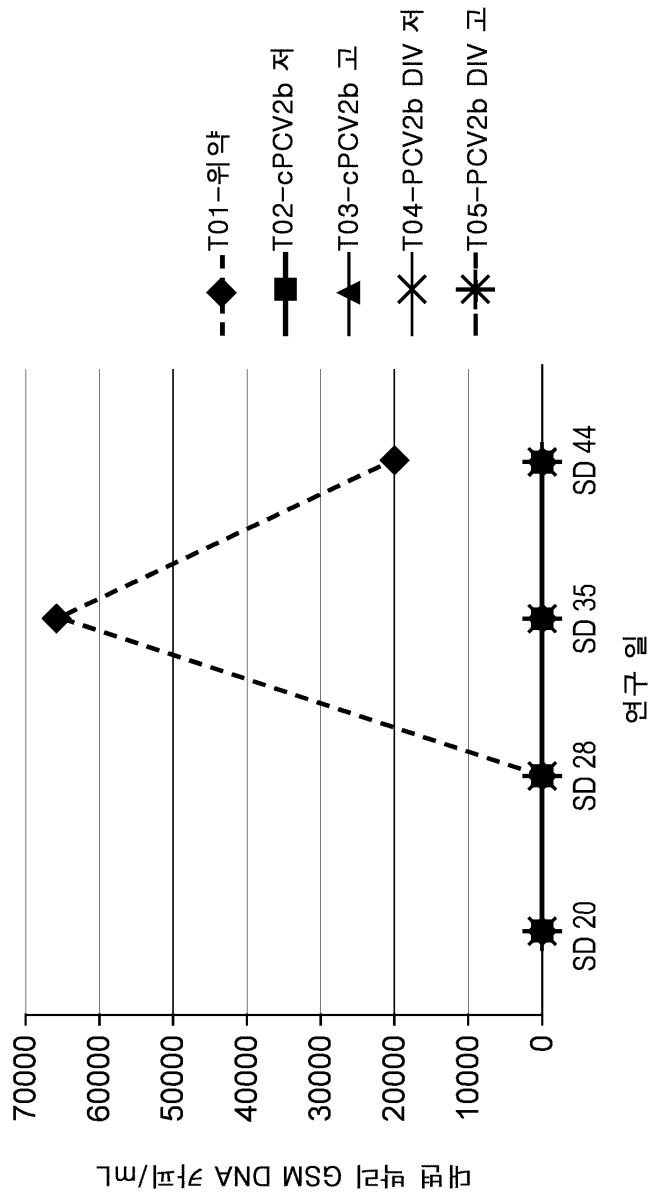
도면1

대부분	MTVPRRRRRRRPRSHLGGILLRRRPMVLVHPRHRYWRKNGIFNRLSFTFGYTVXXTTVRTPSWAVDMMRFNINDFL	10	20	30	40	50	60	70	80
PCV 2A (ISU-40895).pro									
PCV 2B (NMB). pro									
PCV 2B-DIV-MUT.pro									
대부분	PPGGGNPXSVPFYYIRKVKVEFWPCSPITQGDGSGSTAVILDDNFVKATALTVDPPVYVNSRRHTITQPFVHSRY	90	100	110	120	130	140	150	160
PCV 2A (ISU-40895).pro									
PCV 2B (NMB). pro									
PCV 2B-DIV-MUT.pro									
대부분	FTEKPVLDSTIDYFQPNKRNLWLRLOTXGNVDHVGLGTAFENSIIYDQDYNIRVTWYVQFREFNLKDPPLNP-	170	180	190	200	210	220	230	
PCV 2A (ISU-40895).pro									
PCV 2B (NMB). pro									
PCV 2B-DIV-MUT.pro									

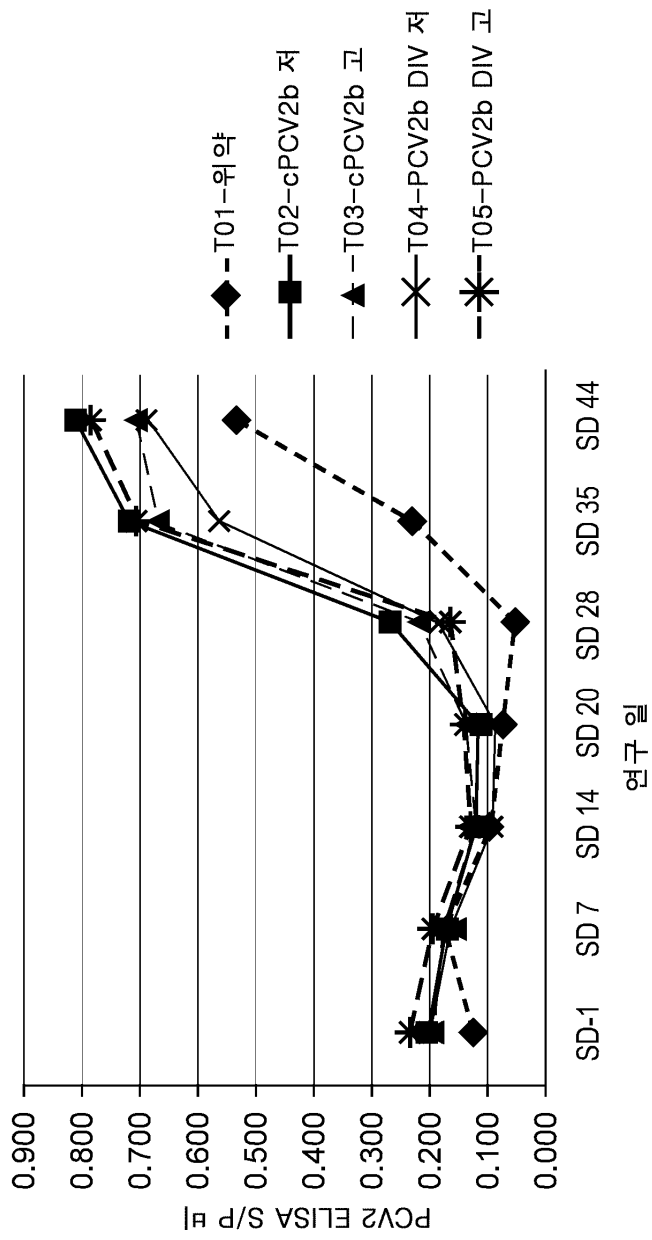
도면2



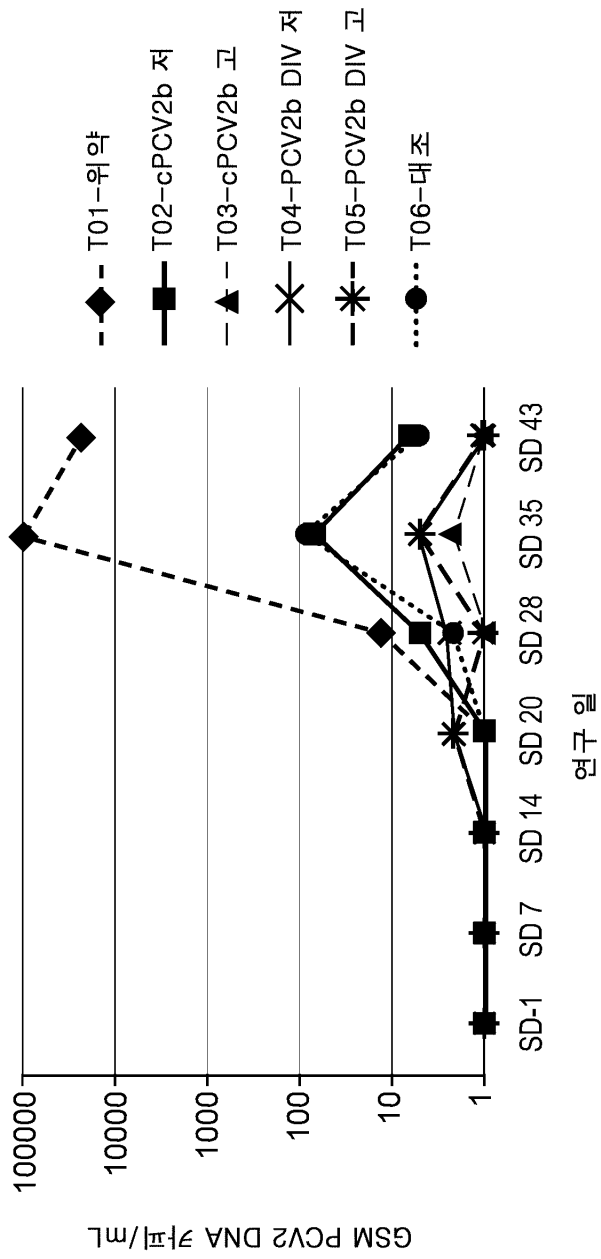
도면3



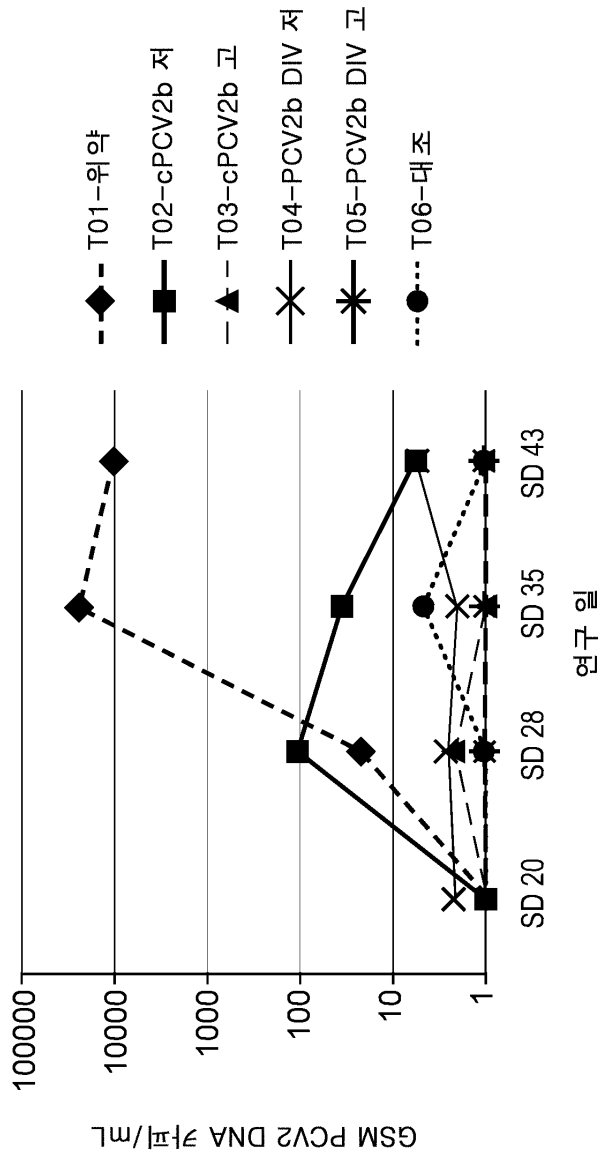
도면4



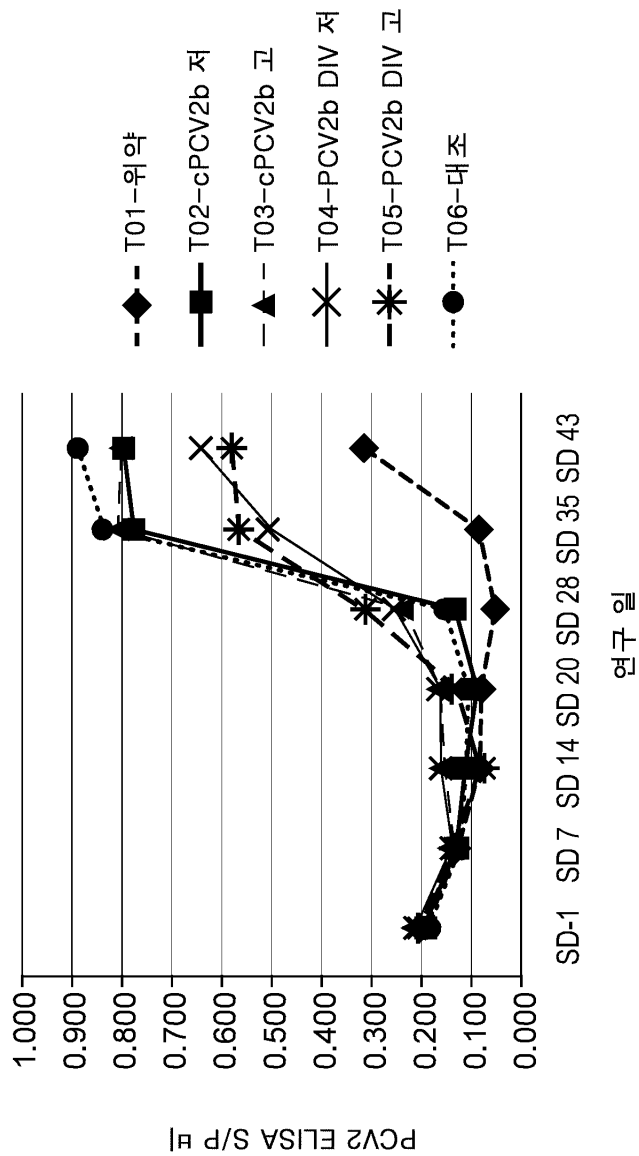
도면5



도면6



도면7



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> ZOETIS SERVICES LLC
- <120> PCV2B DIVERGENT VACCINE COMPOSITION AND METHODS OF USE
- <130> ZP000029A
- <140> PCT/US2014/057190
- <141> 2014-09-24
- <150> US 61/882,289
- <151> 2013-09-25
- <160> 66
- <170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 234

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 1

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr

145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn

180 185 190

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

195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe

210 215 220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro Lys

225 230

<210> 2

<211> 705

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 2

atgacgtatc cwaggaggcg ttccgcaga cgaagacacc gccccgcag ccatcttggc 60

cagatcctcc gccgccgcc ctggctcgtc ccccccgcc accgttacg ctggagaagg 120

aaaaatggca tcttcaacac ccgctctcc cgcaccatcg gttatactgt caagaaaacc 180

acagtcagaa cgcctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatatata tgattttctt 240

ccccaggag ggggtcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataaggaag 300

gttaagggtt aattctggcc ctgctccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360

actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc 420

tatgtaaact actcctccg ccataccata acccagcct tctctacca ctcccggtac 480

tttaccgga aacctgtct tgataggaca atcgattact tccaaccaa taacaaaaga 540

aatcaactct ggctgagact acaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600

gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa 660

ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaacccta agtga 705

<210> 3

<211> 234

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 3

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Tyr Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45
 Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Ala Thr Thr Val Arg Thr
 50 55 60
 Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu
 65 70 75 80
 Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr
 85 90 95
 Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr
 100 105 110

 Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn
 115 120 125
 Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr
 130 135 140
 Ser Ser Arg His Thr Ile Pro Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr
 145 150 155 160
 Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro
 165 170 175

 Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn
 180 185 190
 Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Ile Tyr Asp
 195 200 205
 Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe
 210 215 220
 Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro Lys
 225 230
 <210> 4
 <211> 705
 <212>
 DNA
 <213> Porcine circovirus
 <400> 4
 atgacgtatc caaggaggcg ttaccgaaga cgaaggcacc gccccgcag ccattcttggc

60

cagatcctcc gccgccgccc ctggctcgtc caccgccgcc accgttacg ctggagaagg 120
 aaaaatggca tcttcaacac cgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caaagctacc 180
 acagtaagaa caccctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaattattaa tgattttctt 240
 ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgcccttg aatactacag aataaggaag 300
 gttaagggtt aattctggcc ctgctcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360
 actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc 420

tatgtaaact actcctcccg ccataccata cccagccct tctcctacca ctcccgtat 480
 ttcaccccca aacctgtctt tgataggaca atcgattact tccaacccaa taacaaaaga 540
 aatcaactct ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600
 gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa 660
 ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaacccta agtga 705

<210> 5

<211> 234

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 5

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Tyr Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

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

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Pro Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr

145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn

180 185 190

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

195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe

210 215 220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro Lys

225 230

<210> 6

<211> 705

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 6

atgacgtatc caaggaggcg ttaccgaaga cgaagacacc gccccgcag ccattcttggc 60

cagatcctcc gccgcgccc ctggctcgtc cccccgcc accgttacg ctggagaagg 120

aaaaatggca tcttcaacac cgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caaagctacc 180

acagtaagaa cgcctcctg gaattgtggac atgatgagat ttaatatata tgattttctt 240

ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgcccttg aatactacag aataaggaag 300

gttaagggtg aattctggcc ctgctcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360

actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc 420

tatgtaaact actcctcccg ccataccata cccagccct tctcctacca ctcccgtat 480

ttcaccccca aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacccaa taacaaaaga 540

aatcaactct ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600

gcgttcgaaa acagtataca cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa 660

ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaacccta agtga 705

<210> 7

<211> 234

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 7

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Tyr Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

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

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Pro Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr

145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn

180 185 190

Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Lys Tyr Asp

195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe

210

215

220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro Lys

225

230

<210> 8

<211> 705

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 8

atgacgtatc caaggaggcg ttaccgaaga cgaagacacc gccccgcag ccatcttggc 60
cagatcctcc gccgcgccc ctggctcgtc ccccccgcc accgttaccg ctggagaagg 120
aaaaatggca tcttcaacac cgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caaagctacc 180
acagtcagaa cgcctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatatata tgattttctt 240
ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataaggaag 300

gttaagggtg aattctggcc ctgctcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360
actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgcctaac ctatgacccc 420
tatgtaaact actcctcccg ccataccata cccagccct tctctacca ctcccgtat 480
ttcaccccca aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaaccaa taacaaaaga 540
aatcaactct ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg actcggcact 600
gccttcgaaa acagtaaata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa 660
ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaacccta agtga 705

<210> 9

<211> 234

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 9

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Pro Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr

145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn

180 185 190

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

195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe

210 215 220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro Lys

225 230

<210> 10

<211> 705

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 10

atgacgtatc caaggaggcg tttccgcaga cgaagacacc gccccgcag ccattctggc 60

cagatcctcc gccgcgcgcc ctggctcgtc caccgccgcc accgttacg ctggagaagg 120

aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caagaaaacc 180
acagtcagaa cgcctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatattaa tgattttctt 240
ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataaggaag 300
gttaaggttg aattctggcc ctgctcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360
actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc 420
tatgtaaact actcctcccg ccataccata cccagccct tctcctacca ctcccgtac 480

tttacccega aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacccaa taacaaaaga 540
aatcaactct ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600
gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa 660
ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaacccta agtga 705

<210> 11

<211> 234

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 11

Met Thr Tyr Pro Met Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130	135	140	
Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr			
145	150	155	160
Phe Ala Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro			
	165	170	175
Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn			
	180	185	190
Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Ile Tyr Asp			
195	200	205	
Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe			
210	215	220	
Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro Lys			
225	230		
<210> 12			
<211> 705			
<212> DNA			
<213> Porcine circovirus			
<400> 12			
atgacgtatc ctatgaggcg ttccgcaga cgaagacacc gccccgcag ccattcttggc	60		
cagatcctcc gccgcgccc ctggctcgtc ccccccgcc accgttacg ctggagaagg	120		
aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caagaaaacc	180		
acagtcagaa cgccctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatatata tgattttctt	240		
ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataaggaag	300		
gttaagggtg aattctggcc ctgctccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc	360		
actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc	420		
tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagcct tctctacca ctcccgtac	480		
tttgccega aacctgtct ttagaggaca atcgattact tccaaccaa taacaaaaga	540		
aatcaactct ggetgagact acaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact	600		
gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa	660		
ttcagagaat ttaattctaa agacccccca cttaacccta agtga	705		
<210> 13			

<211> 233

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 13

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Cys Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr

145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn

180 185 190

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

195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe

210 215 220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro

225

230

<210> 14

<211> 702

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 14

atgacgtatc caaggaggcg ttccgcaga cgaagacacc gccccgcag ccatcttggc 60
cagatcctcc gctgccgccc ctggctcgtc ccccccgcc accgttacg ctggagaagg 120
aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcaccatag gttatactgt caagaaaacc 180
acagtcagaa cgcctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatatata tgattttctt 240
ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataaggaag 300
gttaagggtg aattctggcc ctgctccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360

actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc 420
tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagcct tctctacca ctcccgtac 480
tttacccega aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaaccaa taacaaaaga 540
aatcaactct ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600
gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa 660
ttcagagaat ttaattctaa agacccccca cttaaccctt aa 702

<210> 15

<211> 233

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 15

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Cys Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50

55

60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr

145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn

180 185 190

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

195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe

210 215 220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro

225 230

<210> 16

<211> 702

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 16

atgacgtatc caaggaggcg ttccgcaga cgaagacacc gccccgcag ccatcttggc 60

cagatcctcc gctgccgcc ctggctctc caccgccgcc accgttacg ctggagaagg 120

aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcacatag gttatactgt caagaaaacc 180

acagtcagaa cgccctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatattaa tgattttctt 240
 cccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataaggaag 300
 gttaaggttg aattctggcc ctgctcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360
 actgctgtta ttttagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc 420
 tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagccct tctcctacca ctcccgtac 480
 ttaccccgga aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacccaa taacaaaaga 540

aatcaactct ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600
 gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa 660
 ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaaccctt aa 702

<210> 17

<211> 233

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 17

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Cys Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Met Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Thr Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr
145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro
165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn
180 185 190

Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Ile Tyr Asp
195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe
210 215 220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro
225 230

<210> 18

<211> 702

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 18

atgacgtatc caaggaggcg ttccgcaga cgaagacacc gccccgcag ccatcttggc 60
cagatcctcc gctgccgccc ctggctctgc ccccccgcc accgttaccg ctggagaagg 120
aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcacatgg gttatactgt caagaaaacc 180
acagtcagaa cgccctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatattaa tgattttctt 240
ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataaggaag 300

gttaaggttg aattctggcc ctgctcccca accaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360
actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc 420
tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagccct tctcctacca ctcccgttac 480
tttacccega aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacccaa taacaaaaga 540
aatcaactct ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600
gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa 660
ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaaccctt aa 702

<210> 19

<211> 234

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 19

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Tyr Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

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

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Pro Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr

145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn

180 185 190

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

195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe

210 215 220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro Lys

225	230	
<210>	20	
<211>	705	
<212>	DNA	
<213>	Porcine circovirus	
<400>	20	
atgacgtatc caaggaggcg ttaccgcaga cgaagacacc gccccgcgag ccattcttggc		60

cagatcctcc gccgcgcgcc ctggctcgtc cacccecgcc accgttaccg ctggagaagg	120
aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caaggctacc	180
acagtcagaa cgccctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatattaa tgattttctt	240
ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataaggaag	300
gttaaggttg aattctggcc ctgctccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc	360
actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgcctaac ctatgacccc	420
tatgtaaact actcctcccg ccataccata cccagccct tctctacca ctcccggtac	480

tttacccega aacctgtct tgataggaca atcgattact tccaacccaa taacaaaaga	540
aatcaactct ggctgagact acaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact	600
gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataaccat gtatgtacaa	660
ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaacccta agtga	705

<210>	21
<211>	234
<212>	PRT
<213>	Porcine circovirus
<400>	21

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

gttaaggttg aattctggcc ctgctcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360
actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc 420
tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagccct tctcctacca ctcccgttac 480
tttacccega aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacccaa taacaaaaga 540
aatcaactct ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600

gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa 660
ttcagagaat ttaatcttaa agaccacca cttaacccta agtga 705

<210> 23

<211> 234

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 23

Met Thr Tyr Ser Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr

145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165	170	175
Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Ser Ala Asn		
180	185	190
Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Lys Tyr Asp		
195	200	205
Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe		
210	215	220
Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro Lys		
225	230	

<210> 24

<211> 705

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 24

atgacgtatt ccaggaggcg ttccgcaga agaagacacc gccccgcag ccattcttggc	60
cagatcctcc gccgcgccc ctggctcgtc cacccecgcc accgttacg ctggagaagg	120
aaaaatggca tcttcaaac ccgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt gaagaaaacc	180
acagtcagaa cgcctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatattaa tgattttctt	240
ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgcccttg aatactacag aataaggaag	300
gttaaggttg aattctggcc ctgctccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc	360

actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc	420
tatgtaaact actcctcccg ccataccata accagccct tctctacca ctcccgtac	480
tttacccega aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaaccaa taacaaaaga	540
aatcaactct ggetgagact acaaacctct gcaaatgtag accacgtagg cctcggcact	600
gcgttcgaaa acagtaaata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa	660
ttcagagaat ttaattctaa agacccccca cttaacccta aatga	705

<210> 25

<211> 234

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 25

Met Thr Phe Pro Arg Arg Arg Tyr Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr

145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn

180 185 190

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

195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe

210 215 220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro Lys

225 230

<210> 26

<211> 705

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 26

atgacgtttc caaggaggcg ttaccgaaga agaagacacc gccccgcag ccatcttggc 60

cagatcctcc gccgccgcc ctggctcgtc cacccccgcc accgttacgc ctggagaagg 120

aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caagaaaacc 180

acagtcagaa cgccctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatattaa tgattttctt 240

ccccaggag ggggctcaa cccctcact gtgcccttg aatactacag aataaggaag 300

gttaaggttg aattctggcc ctgtcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360

actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctacgacccc 420

tatgtaaact actctcccg ccataccata acccagecct tctctacca ctcccgtac 480

tttaccgccga aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacccaa taacaaaaga 540

aatcaactgt ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600

gcgttcga aa acagtata cgaccaggac tacaatatcc gtataaccat gtatgtacaa 660

ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaaccta aatga 705

<210> 27

<211> 234

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 27

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Tyr Arg Lys Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85

90

95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100

105

110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115

120

125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130

135

140

Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr

145

150

155

160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165

170

175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn

180

185

190

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

195

200

205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe

210

215

220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro Lys

225

230

<210> 28

<211> 705

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 28

atgacgtatc caaggaggcg ttaccggaaa agaagacacc gcecccgag ccatcttggc 60

cagatctcc gccgcgccc ctggctcgtc caccgcc accgttaccg ctggagaagg 120

aaaaatggca tcttcaacac cgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caagaaaacc 180

acagtcagaa cgcctctcg gaatgtggac atgatgagat ttaatattaa tgattttctt 240

ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgcccttg aatactacag aataaggaag 300

gttaaggttg aattctggcc ctgctcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360

actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgcctaac ctatgacccc 420

tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagccct tctcctacca ctcccggtag 480
 ttacccega aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacccaa taacaaaaga 540
 aatcaactgt ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600
 gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa 660
 ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaacccta agtga 705

<210> 29

<211> 234

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 29

Met Thr Tyr Ser Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr

145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn

180 185 190
Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Ile Tyr Asp

195 200 205
Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe

210 215 220
Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro Lys

225 230

<210> 30

<211> 705

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 30

atgacgtatt caaggaggcg ttccgcaga agaagacacc gccccgcag ccatcttggc 60

cagatcctcc gccgccgccc ctggctcgtc ccccccgcc accgttaccg ctggagaagg 120

aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caagaaaacc 180

acagtcagaa cgcctctctg gaatgtggac atgatgagat ttaattattaa tgattttctt 240

ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataaggaag 300

gttaaggttg aattctggcc ctgctcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360

actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc 420

tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagccct tctctacca ctcccgtac 480

tttacccega aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacceaa taacaaaaga 540

aatcaactgt ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600

gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataaccat gtatgtacaa 660

ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaacccta agtga 705

<210> 31

<211> 234

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 31

Met Thr Tyr Ser Met Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

 Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro
 20 25 30
 Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg
 35 40 45
 Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr
 50 55 60
 Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu
 65 70 75 80

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

 Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr
 145 150 155 160
 Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro
 165 170 175
 Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn
 180 185 190
 Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Ile Tyr Asp
 195 200 205

 Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe
 210 215 220
 Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro Lys
 225 230
 <210> 32
 <211> 705

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 32

atgacgtatt caatgaggcg tttccgcaga cgaagacacc gccccgcag ccatcttggc 60

cagatcctcc gccgccgcc ctggctcgtc cacccccgcc accgttaccg ctggagaagg 120

aaaaatggca tcttcaacac cgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caagaaaacc 180

acagtcagaa cgccctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatattaa tgattttctt 240

ccccaggag ggggctcaa cccctcact gtgcccttg aatactacag aataaggaag 300

gttaaggttg aattctggcc ctgtcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360

actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc 420

tatgtaaact actctcccg ccataccata acccagecct tctctacca ctcccgtac 480

tttacccega aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacccaa taacaaaaga 540

aatcaactct ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600

gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataaccat gtatgtacaa 660

ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaacccta agtga 705

<210> 33

<211> 234

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 33

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110
Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn
115 120 125
Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr
130 135 140
Ser Ser Arg His Thr Ile Pro Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr
145 150 155 160
Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165 170 175
Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn
180 185 190
Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Ile Tyr Asp
195 200 205
Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe
210 215 220
Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro Lys
225 230

<210> 34

<211> 702

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 34

atgacgtatc caaggaggcg ttccgcaga cgaagacacc gccccgcag ccatcttggc 60
cagatcctcc gccgcgccc ctggetcgtc cacccecgcc accgttacg ctggagaagg 120
aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caagaaaacc 180
acagtcagaa cgcctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatattaa tgattttctt 240
ccccaggag ggggctcaaa cccctcaact gtgcccttg aatactacag aataaggaag 300
gttaagggtg aattctggcc ctgctcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360

actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc 420
tatgtaaact actcctcccg ccataccata cccagccct tctctacca ctcccgtat 480

ttcaccccca aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacccaa taacaaaaga 540
aatcaactct ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600
gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa 660
ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaacccta ag 702

<210> 35

<211> 233

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 35

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Tyr Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr

145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn

180 185 190

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

195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Val Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe

210 215 220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro

225 230

<210> 36

<211> 702

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 36

atgacgtatc caaggaggcg ttaccggaga agaagacacc gccccgcag ccattcttggc 60

cagatcctcc gccgcgcgcc ctggctcgtc ccccccgcc accgttacg ctggagaagg 120

aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caagaaaacc 180

acagtcagaa cgccctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatattaa tgattttctt 240

ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataaggaag 300

gttaaggttg aattctggcc ctgctcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360

actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc 420

tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagccct tctcctacca ctcccgttac 480

tttacccega aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacccaa taacaaaaga 540

aatcaactct ggetgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600

gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtgtaaccat gtatgtacaa 660

ttcagagaat ttaattctaa agacccccca cttaaccctt aa 702

<210> 37

<211> 234

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 37

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

<400> 38

atgacgtatc caaggaggcg ttccgcaga cgaagacacc gccccgcag ccatcttggc	60
cagatcctcc gccgccgcc ctggctcgtc ccccccgcc accgttaccg ctggagaagg	120
aaaaatggca tcttcaacac cgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caagaaaacc	180
acagtcagaa cgcctcctg gaatgtggac atggtgagat ttaatattaa tgattttctt	240
ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataaggaag	300
gttaaggttg aattctggcc ctgctcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc	360
actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc	420
tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagccct tctctacca ctcccggtac	480
tttacccca aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacccaa taacaaaaga	540
aatcaactct ggctgagact acaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact	600
gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacgat gtatgtacaa	660
ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaacccta agtga	705

<210> 39

<211> 234

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 39

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

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125
Phe Val Ala Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr
130 135 140
Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr
145 150 155 160
Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Gly Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro
165 170 175
Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn

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

225 230

<210> 40

<211> 705

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 40

atgacgtatc caaggaggcg ttccgcaga cgaagacacc gccccgcag ccatcttggc 60

cagatcctcc gccgcgccc ctggctcgtc caccgccgc accgttaccg ctggagaagg 120

aaaaatggca tcttcaacac cgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caagaaaacc 180

acagtcagaa cgcctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaattattaa tgattttctt 240

ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgcccttg aatactacag aataaggaag 300

gttaaggttg aattctggcc ctgctccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360

actgctgtta ttctagatga taactttgta gcaaaggcca atgcctaac ctatgacccc 420

tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagcct tctctacca ctcccgtac 480

tttacccega aacctgtcct tgatgggaca atcgattact tccaaccaa taacaaaaga 540

aatcaactct ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600

gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gatatgtacaa 660
 ttcagagaat ttaaccttaa agacccccca cttaacccta agtga 705

<210> 41
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> Porcine circovirus
 <400> 41

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg
 1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro
 20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg
 35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr
 50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu
 65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr
 85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr
 100 105 110

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

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr
 130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr
 145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro
 165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn
 180 185 190

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

195	200	205	
Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe			
210	215	220	
Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Lys Pro			
225	230		
<210>	42		
<211>	718		
<212>	DNA		
<213>	Porcine circovirus		
<400>	42		
atgacgtatc caaggaggcg ttctcgcaga cgaagacacc gccccgcgag ccattcttggc			60
cagatcctcc gccgcgcccc ctggctcgtc caccctcgcc accgttaccg ctggagaagg			120
aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caaaaaaacc			180
acagtcagaa cgccctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatatata tgattttctt			240
ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataagaaag			300
gttaaggttg aattctggcc ctgctcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc			360
actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgcctaac ctatgacccc			420
tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagcct tctctacca ctcccggtac			480
tttacccega aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacaaa taacaaaaga			540
aatcaactct ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact			600
gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa			660
ttcagagaat ttaattctaa agacccccca cttaaaccct aaatgaataa taaaaacc			718
<210>	43		
<211>	233		
<212>	PRT		
<213>	Porcine circovirus		
<400>	43		
Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg			
1	5	10	15
Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro			
20	25	30	

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr

145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn

180 185 190

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

195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe

210 215 220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Lys Pro

225 230

<210> 44

<211> 699

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 44

atgacgtatc caaggaggcg ttccgcaga cgaagacacc gccccgcag ccattctggc 60
cagatcctcc gccgcgccc ctggctcgtc caccgccgc accgttaccg ctggagaagg 120
aaaaatggca tttcaacac ccgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caaaaaaacc 180
acagtcagaa cgccctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatatata tgattttctt 240
ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataagaaag 300
gttaagggtg aattctggcc ctgctcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360

actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc 420
tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagccct tctcctacca ctcccgtac 480
tttaccgga aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacaaa taacaaaaga 540
aatcaactct ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600
gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa 660
ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaaacc 699

<210> 45

<211> 233

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 45

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115	120	125
Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr		
130	135	140
Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr		
145	150	155
Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro		
165	170	175
Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn		
180	185	190
Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Ile Tyr Asp		
195	200	205
Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe		
210	215	220
Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Lys Pro		
225	230	
<210> 46		
<211> 699		
<212> DNA		
<213> Porcine circovirus		
<400> 46		
atgacgtatc caaggaggcg ttccgcaga cgaagacacc gccccgcag ccatcttggc	60	
cagatcctcc gccgccgcc ctggctcgtc cccccgcc accgttacg ctggagaagg	120	
aaaaatggca tctcaacac ccgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caaaaaaacc	180	
acagtcagaa cgccctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatattaa tgattttctt	240	
ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgcccttg aatactacag aataagaaag	300	
gttaaggttg aattctggcc ctgctccca atcaccagg gtgacaggg agtgggctcc	360	
actgtgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc	420	
tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagccct tctctacca ctcccgtac	480	
tttacccca aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacaaa taacaaaaga	540	
aatcaactct ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact	600	
gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa	660	

ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaaacc

699

<210> 47

<211> 233

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 47

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr

145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn

180 185 190

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

195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe

210

215

220

Asn Leu Lys Gly Pro Pro Leu Lys Pro

225

230

<210> 48

<211> 699

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 48

atgacgtatc caaggaggcg ttccgcaga cgaagacacc gccccgcag ccatcttggc 60
cagatcctcc gccgccgcc ctggctcgtc ccccccgcc accgttacg ctggagaagg 120
aaaaatggca tcttcaacac ccgctctcc cgcaccatcg gttatactgt caaaaaaacc 180
acagtcagaa cgcctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatattaa tgattttctt 240
ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgcccttg aatactacag aataagaaag 300

gtaagggtg aattctggcc ctgctccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360
actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc 420
tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagccct tctcctacca ctcccggtac 480
tttacccega aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacaaa taacaaaaga 540
aatcaactct ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600
gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa 660
ttcagagaat ttaatcttaa gggccccca cttaaacc 699

<210> 49

<211> 233

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 49

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1

5

10

15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20

25

30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35

40

45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr

145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn

180 185 190

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

195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe

210 215 220

Asn Leu Lys Gly Pro Pro Leu Lys Pro

225 230

<210> 50

<211> 699

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 50

atgacgtatc caaggaggcg tttccgcaga cgaagacacc gccccgcag ccattcttggc 60

cagatcctcc gccgcgcgcc ctggctcgtc caccgccgcc accgttacgc ctggagaagg 120

aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caaaaaaacc 180
acagtacagaa cgccctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatatata tgattttctt 240
ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataagaaag 300
gttaagggtt aattctggcc ctgctcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360
actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc 420
tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagccct tctcctacca ctcccgtac 480

tttacccega aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacaaa taacaaaaga 540
aatcaactct ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600
gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa 660
ttcagagaat ttaatcttaa gggcccccca cttaaacc 699

<210> 51

<211> 233

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 51

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130	135	140	
Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr			
145	150	155	160
Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro			
	165	170	175
Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn			
	180	185	190
Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Ile Tyr Asp			
	195	200	205
Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe			
	210	215	220
Asn Leu Lys Gly Pro Pro Leu Lys Pro			
225	230		
<210>	52		
<211>	699		
<212>	DNA		
<213>	Porcine circovirus		
<400>	52		
atgacgtatc caaggaggcg tttccgcaga cgaagacacc gccccgcag ccattcttggc		60	
cagatcctcc gccgcgcgcc ctggctcgtc ccccccgcc accgttacg ctggagaagg		120	
aaaaatggca tctttaacac cgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caaaaaaacc		180	
acagtcagaa cgccctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatatata tgattttctt		240	
ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataagaaag		300	
gttaagggtg aattctggcc ctgctccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc		360	
actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc		420	
tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagcct tctctacca ctcccgtac		480	
tttacccega aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacaaa taacaaaaga		540	
aatcaactct ggctgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact		600	
gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa		660	
ttcagagaat ttaattctaa gggcccccca cttaaacc		699	
<210>	53		

<211> 233

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 53

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr

145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Arg Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn

180 185 190

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

195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe

210 215 220

Asn Leu Lys Gly Pro Pro Leu Lys Pro

225

230

<210> 54

<211> 699

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 54

atgacgtatc caaggaggcg ttccgcaga cgaagacacc gccccgcag ccatcttggc 60
cagatcctcc gccgcgccc ctggctcgtc ccccccgcc accgttacg ctggagaagg 120
aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caaaaaaacc 180
acagtcagaa cgcctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatatata tgattttctt 240
ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataagaaag 300
gttaagggtg aattctggcc ctgctccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360

actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc 420
tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagcct tctctacca ctcccgtac 480
tttacccega aacctgtcct tgataggaca atcgattact tccaacaaa taacaaaaga 540
aatcaactct ggctgagact acaactact ggaatgtag accatgtagg cctcggcact 600
gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa 660
ttcagagaat ttaattctaa gggccccca cttaaacc 699

<210> 55

<211> 234

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 55

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Phe Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Ile Gly Tyr Thr Val Lys Lys Thr Thr Val Arg Thr

50	55	60	
Pro Ser Trp Asn Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu			
65	70	75	80
Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr			
	85	90	95
Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr			
	100	105	110
Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn			
	115	120	125
Phe Val Thr Lys Ala Asn Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr			
	130	135	140
Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr			
	145	150	155
160			
Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Gly Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro			
	165	170	175
Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn			
	180	185	190
Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Ile Tyr Asp			
	195	200	205
Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Ile Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe			
	210	215	220
Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro Lys			
225	230		
<210>	56		
<211>	705		
<212>	DNA		
<213>	Porcine circovirus		
<400>	56		
atgacgtatc caaggaggcg ttccgcaga cgaagacacc gccccgcag ccatcttggc		60	
cagatcctcc gccgccgcc ctggctcgtc caccgccgc accgttacg ctggagaagg		120	
aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcaccatcg gttatactgt caagaaaacc		180	

acagtcagaa cgccctcctg gaatgtggac atgatgagat ttaatatata tgattttctt 240
 cccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataaggaag 300
 gtaaggttg aattctggcc ctgctcccca atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360
 actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca atgccctaac ctatgacccc 420
 tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagccct tctcctacca ctcccgtac 480
 tttaaccga aacctgtcct tgatgggaca atcgattact tccaaccaa taacaaaaga 540

aatcaactct ggctgagact acaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggcact 600
 gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtataacat gtatgtacaa 660
 ttcagagaat ttaacttta agacccccca cttaaccta agtga 705

<210> 57
 <211> 1767
 <212> DNA
 <213> Porcine circovirus
 <400> 57

aaatttctga caaacgttac aggggtgctgc tctgcaacgg tcaccagact cccgtctcc 60
 aacaaggtag tcacagcagt agacaggta ctgcgttgct cttgagatct aggagctcca 120
 cactcgataa gtaagttgcc ttctttactg cagtattctt tattctgctg gtctgttct 180

ttcgctttct cgatgtggca gcgggcacca aaataccact tcactttatt aaaagtttgc 240
 ttcttcacaa aattagcgaa cccctgtagg tgggtgttc ggcttctc attaccctcc 300
 tcgccaacaa taaaataatc aaataggag attgggagct cccgtatttt ctgctgctcg 360
 tcttcggaag gattatttag agtgaacacc cacttttat gtggttggg tccgttctt 420
 ccattcttct tactgggcat gttgctgctg aggtgctgcc gagtgctgc cgtgccgaa 480
 gtgcgtggt aatacttaca gcgcacttct ttcgtttca gctatgacgt atccaaggag 540
 gcgtttccgc agacgaagac accgccccg cagccatctt ggccagatcc tccgccgcg 600

cccttggtc gtccacccc gccaccgtta ccgctggaga aggaaaaatg gcatttcaa 660
 caccgcctc tccgcacca tcggtatata tgtaagaaa accacagtca gaacgcctc 720
 ctggaatgtg gacatgatga gatttaatat taatgatttt ctccccag gaggggctc 780
 aaacccctc actgtgccct ttgaatacta cagaataagg aaggttaagg ttgaattctg 840
 gccctgctc ccaatcacc agggtagacag gggagtggg tccactgctg ttattctaga 900
 tgataacttt gtaacaaagg ccaatgccct aacctatgac ccctatgaa actactctc 960
 ccgccatacc ataaccagc ctttctcta cactcccg tactttacc cgaaacctgt 1020

ccttgatggg acaatcgatt acttccaacc caataacaaa agaatcaac tctggctgag 1080
 actacaaact actggaaatg tagaccatgt aggcctcggc actgcgttcg aaaacagtat 1140
 atacgaccag gactacaata tccgtataac catgtatgta caattcagag aatttaatct 1200
 taaagacccc ccacttaacc ctaagtgaat aataaaaacc attacgaagt gataaaaaag 1260
 actcagtaat ttatttcata tggaaattca gggcatgggg gggaaagggt gacgaactgg 1320
 ccccttctct ccgtggattg ttctgtagca ttcttccaaa ataccaagga agtaatcctc 1380
 cgatagagag ctctacagc taggacagca gttgaggagt accattccaa cggggctctga 1440

ttgctggtaa tcagaatact gggggccaaa aaaggtagag ttccaccttt agtctctaca 1500
 gtcaatggat atcgatcaca cagtctcagt agatcatccc acggcagcca accataaaag 1560
 tcatcaataa caaccacttc ttcacatgg taaccatccc accacttggt tcgagggtgt 1620
 ttccagtatg tggtttcggg gtctgcaaaa ttagcagccc atttgctttt accacaccca 1680
 ggtggcccca caatgacgtg tacattgggtc ttccaatcac gcttctgcat tttccgctc 1740
 actttcaaaa gttcagccag cccgcgg 1767

<210> 58

<211> 233

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 58

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Tyr Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg

1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro

20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg

35 40 45

Leu Ser Arg Thr Phe Gly Tyr Thr Val Lys Ala Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60

Pro Ser Trp Ala Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asp Asp Val Val

65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Thr Asn Lys Ile Ser Ile Pro Phe Glu Tyr Tyr

85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr

100 105 110

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

Phe Val Thr Lys Ala Thr Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr
130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Pro Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr
145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Ser Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro
165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Met Arg Leu Gln Thr Ser Arg Asn
180 185 190

Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Ile Tyr Asp
195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Val Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe
210 215 220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Lys Pro
225 230

<210> 59

<211> 702

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 59

atgacgtatc caaggaggcg ttaccgcaga agaagacacc gccccgcag ccatcttggc 60

cagatcctcc gccgccgccc ctggctcgtc cccccgcc accgtaccg ttggagaagg 120

aaaaatggca tcttcaacac cgcctctcc cgcaccttcg gatatactgt caaggtacc 180

acagtcagaa cgcctcctg ggcgtggac atgatgagat ttaattattga cgactttgtt 240

ccccgggag gggggaccaa caaatctct atacccttg aatactacag aataagaaag 300

gttaaggttg aattctggcc ctgctcccc atcaccagg gtgataggg agtgggctcc 360

actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca cagcctaac ctatgaccca 420

tatgtaaact actcctccg ccatacaat cccaaccct tctctacca ctcccgttac 480

ttcacacca aacctgttct tgactccacc attgattact tccaacaaa taacaaaagg 540

aatcagcttt ggatgaggct acaaacctct agaaatgtgg accacgtagg cctcggcact 600

gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtgtaacat gtatgtacaa 660
 ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaaaccct aa 702

<210> 60
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> Porcine circovirus
 <400> 60

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Tyr Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg
 1 5 10 15
 Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Leu His Pro
 20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg
 35 40 45
 Leu Ser Arg Thr Phe Gly Tyr Thr Val Lys Arg Thr Thr Val Thr Thr
 50 55 60
 Pro Ser Trp Ala Val Asp Met Met Arg Phe Lys Ile Asp Asp Phe Val
 65 70 75 80
 Pro Pro Gly Gly Gly Thr Asn Lys Ile Ser Ile Pro Phe Glu Tyr Tyr
 85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr
 100 105 110
 Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn
 115 120 125
 Phe Val Thr Lys Ala Thr Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr
 130 135 140
 Ser Ser Arg His Thr Ile Pro Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr
 145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Ser Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro
 165 170 175
 Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Ser Gly Asn
 180 185 190
 Val Asp His Val Gly Leu Gly Ile Ala Phe Glu Asn Ser Lys Tyr Asp

195 200 205
Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Val Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe
210 215 220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Lys Pro
225 230

<210> 61
<211> 702
<212> DNA
<213> Porcine circovirus
<400> 61

atgacgtatc caaggaggcg ttaccgcaga agaagacacc gccccgcag ccatcttggc 60
cagatcctcc gccgcgccc ctggctcctc ccccccgcc accgtaccg ttggagaagg 120
aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcaccttcg gatatactgt caagcgtacc 180
acagtcacaa cgccctcctg ggcggtggac atgatgagat ttaaaattga cgactttgtt 240
ccccgggag gggggaccaa caaaatctct ataccctttg aatactacag aataagaaag 300

gttaaggttg aattctggcc ctgctcccc atcaccagg gtgataggg agtgggctcc 360
actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca cagccctaac ctatgaccea 420
tatgtaaact actcctcccg ccatacaatc cccaaccct tctctacca ctcccgttac 480
ttcacacca aacctgttct tgactccact attgattact tccaacaaa taacaaaagg 540
aatcagcttt ggctgaggct acaaacctct ggaaatgtgg accacgtagg cctcggcatt 600
gcgttcgaaa acagtaaata cgaccaggac tacaatatcc gtgtaaccat gtatgtacaa 660
ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaaaccct aa 702

<210> 62
<211> 233
<212> PRT
<213> Porcine circovirus
<400> 62

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

35 40 45
Leu Ser Arg Thr Phe Gly Tyr Thr Ile Lys Arg Thr Thr Val Arg Thr

50 55 60
Pro Ser Trp Ala Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu
65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Arg Ser Val Pro Phe Glu Tyr Tyr
85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr
100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Ser Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn

115 120 125
Phe Val Thr Lys Ala Thr Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr

130 135 140
Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr

145 150 155 160
Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Ser Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro

165 170 175
Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Ala Gly Asn

180 185 190
Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Ile Tyr Asp

195 200 205
Gln Glu Tyr Asn Ile Arg Val Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe

210 215 220
Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro

225 230

<210> 63

<211> 702

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 63

atgacgtatc caaggaggcg ttaccggaga agaagacacc gccccgcag ccattcttggc 60

cagatcctcc gccgcgccc ctggctcgtc caccgccgcc accgttacg ctggagaagg 120
 aaaaatggca ttttcaaac ccgcctatcc cgcaccttcg gataactat caagcgaacc 180
 acagtcagaa cgcctcctg ggcggtggac atgatgagat tcaatattaa tgactttctt 240
 cccccaggag ggggctcaaa ccccgctct gtgcccttg aatactacag aataagaaag 300
 gttaagggtg aattctggcc ctgctccccg atcaccagg gtgacagggg agtgggctcc 360
 agtgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca cagccctcac ctatgacccc 420
 tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagccct tctcctacca ctcccgtac 480

tttaccceca aacctgtcct agattccact attgattact tccaacaaa caacaaaaga 540
 aaccagctgt ggctgagact acaaactgct ggaaatgtag accacgtagg cctcggcact 600
 gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggaa tacaatatcc gtgtaaccat gtatgtacaa 660
 ttcagagaat ttaattctaa agacccccca cttaaccctt aa 702

<210> 64

<211> 234

<212> PRT

<213> Porcine circovirus

<400> 64

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Tyr Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg
 1 5 10 15

Ser His Leu Gly His Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro
 20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Ala Arg
 35 40 45

Leu Ser Arg Ser Phe Val Tyr Thr Val Asn Ala Ser Gln Val Ser Pro
 50 55 60

Pro Ser Trp Ala Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn Gln Phe Leu
 65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Leu Thr Val Pro Phe Glu Tyr Tyr
 85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Phe Ala Arg Ser Pro Ile Thr
 100 105 110

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

Phe Val Thr Lys Ala Thr Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr
130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr
145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Ser Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro
165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Met Arg Leu Gln Thr Thr Gly Asn
180 185 190

Val Asp His Val Gly Leu Gly His Ala Phe Gln Asn Ser Thr Asn Ala
195 200 205

Gln Ala Tyr Asn Val Arg Val Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe
210 215 220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro Lys
225 230

<210> 65

<211> 705

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 65

atgacgtatc caaggaggcg ttaccggaga agaagacacc gccccgcag ccattcttggc 60
catatcctcc gccgcgccc ctggctcgtc caccgccgcc accgctaccg ttggagaagg 120
aaaaatggaa tcttcaatgc ccgcctctcc cgtcctttg tttataccgt taatgcctca 180

caggctcac caccctcttg ggcggtggac atgatgagat ttaatatata ccaatttctt 240
ccccaggag ggggctcaaa cccctcact gtgccctttg aatactacag aataagaaag 300
gttaaagtgg aattctttgc aagatcccc atcacccaag gtgacagggg agtgggctcc 360
actgctgtta ttctaaatga taactttgta acaaaggcca cagccctaac ctatgacccc 420
tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccaacct tctctacca ctcccgtac 480
tttaccceca aacctgtcct tgattccact attgattact tccaacaaa taacaaaaga 540
aatcagctgt ggatgagact acaaactact ggaaatgtag accatgtagg cctcggacac 600

gcctttcaaa acagtacaaa tgcccaggcc tacaatgtcc gtgtaacat gtatgtacaa 660
ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaacccta agtga 705

<210> 66

<211> 1767

<212> DNA

<213> Porcine circovirus

<400> 66

gtctttttta tcacttcgta atggttttta ttattcactt agggttaagt ggggggtctt	60
taagattaaa ttctctgaat tgtacataca tggttatacg gatattgtag tcctggtcgt	120
atatactgtt ttcgaacgca gtgccgaggc ctacatggtc tacatttcca gtagtttgta	180
gtctcagcca gagtigattt cttttgttat tgggttgga gtaatcgatt gtcctatcaa	240
ggacaggttt cggggtaaag taccgggagt gtaggagaa gggctgggtt atggtatggc	300
gggaggagta gtttacatag gggtcataag ttagggcatt ggcctttgtt acaaagttaa	360
catctagaat aacagcagtg gagccacac cctgtcacc ctgggtgatt ggggagcagg	420
gccagaattc aaccttaacc ttccttattc ttagtattc aaagggcaca gtgagggggt	480
ttgagcccc tctggggga agaaaatcat taatattaaa tctcatcatg tccacattcc	540
aggagggcgt tctgactgtg gttttcttga cagtataacc gatggtgcgg gagaggcggg	600
tgttgaagat gccatttttc cttctccagc ggtaacgggt gcgggggtgg acgagccagg	660
ggcggcggcg gaggatctgg ccaagatggc tgcgggggcg gtgtcttcgt ctgcgaaac	720
gcctccttgg atacgtcatc gctgaaaacg aaagaagtgc gctgtaagta ttaccagcgc	780
acttcggcag cggcagcacc tcggcagcac ctgagcagca acatgccag caagaagagt	840
ggaagaagcg gacccaacc acataaaagg tgggtgttca cgctgaataa tccttccgaa	900
gacgagcgca agaaaatag ggagctccca atctccctat ttgattatit tattgttggc	960
gaggaaggta atgaggaggg ccgaacaccg cacctacagg ggttcgctaa ttttgtgaag	1020
aagcaaaact ttaataaagt gaagtgggtat ttggtgccc gctgccacat cgagaaagcg	1080
aaaggaacag atcagcagaa taaagaatat tgcagtaaag aaggcaactt actgatagaa	1140
tgtggagctc ctagatctca aggacaacgg agtgacctct ctactgctgt gagtaccttg	1200
ttggagagcg ggagtctggt gaccgttgca gagcagcacc ctgtaacgtt tgtcagaaat	1260
ttccgcgggc tggctgaact tttgaaagt agcgggaaaa tgcagaagcg tgattggaag	1320
acgaatgtac acgtcattgt ggggccacct ggggtgtggc aaagcaaatg ggctgctaat	1380
tttgagacc cggaaccac atactggaaa ccacctagaa acaagtgggt ggatggttac	1440
catggtgaag aagtggttgt tattgatgac ttttatggct ggctgccgtg ggatgatcta	1500
ctgagactct gtgatcgata tcctttgact gttgagacta aaggltgaac tgtacctttt	1560

ttggcccgca gtattctgat taccagcaat cagaccccggt tggaatggta ctctcaact	1620
gctgtcccag ctgtagaagc tctctatcgg aggattactt ccttgggtatt ttggaagaat	1680
gctacagaac aatccacgga ggaagggggc cagttcgtca ccctttcccc cccatgcct	1740
gaatttccat atgaaataaa ttactga	1767