



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **124140** (13) **C2**  
(51) МПК

**A61K 39/12** (2006.01)

**A61P 31/12** (2006.01)

**C12N 7/01** (2006.01)

**C12N 7/04** (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО  
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ"

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

(21) Номер заявки: **а 2017 10277**

(22) Дата подання  
заявки: **31.08.2016**

(24) Дата, з якої є  
чинними права  
інтелектуальної  
власності: **29.07.2021**

(31) Номер  
попередньої  
заявки  
відповідно до  
Паризької  
конвенції: **62/212,124**

(32) Дата подання  
попередньої  
заявки  
відповідно до  
Паризької  
конвенції: **31.08.2015**

(33) Код держави-  
учасниці  
Паризької  
конвенції, до  
якої подано  
попередню  
заявку: **US**

(41) Публікація **27.08.2018, Бюл.№**  
відомостей про **16**  
заявку:

(46) Публікація **28.07.2021, Бюл.№**  
відомостей про **30**  
державну  
реєстрацію:

(86) Номер та дата  
подання **PCT/US2016/049709,**  
міжнародної **31.08.2016**  
заявки, поданої  
відповідно до  
Договору РСТ

(72) Винахідник(и):

**Вікторія Джозеф Гілберт (US),  
Паттерсон Еббі Рай (US),  
Вайсек Келлі Енн (US),  
Айсер Арун В. (US),  
Гоббс Леа Енн (US),  
Арруда Бейлі Лорен (US),  
Арруда Пауло Енріке Еліас (US),  
Магштадт Дрю Роберт (US),  
Шварц Кент Джей (US)**

(73) Володілець (володільці):

**БЬОРІНГЕР ІНГЕЛЬХАЙМ ВЕТМЕДИКА ГМБХ,  
Boehringer Ingelheim GmbH, Corporate Patents, Binger Strasse  
173, 55216 Ingelheim am Rhein, Germany (DE),  
АЙОВА СТЕЙТ ЮНІВЕРСІТІ РІСЕРЧ ФАУНДЕЙШН, ІНК.,  
1805 Collaboration Place, Suite 2100, Ames, Iowa 50010, United  
States of America (US)**

(74) Представник:

**Шпакович Тетяна Іванівна, реєстр. №240**

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:

Blomstrom Anne-Lie et al, Astrovirus as a possible cause of congenital tremor type All in piglets? / Anne-Lie Blomström, Cecilia Ley and Magdalena Jacobson // Acta Veterinaria Scandinavica, Biomed Central LTD. - LO. - 2014. - vol. 56. - no. 1. - P.1-6  
Hause Ben. M. et al, Discovery of a novel putative atypical porcine pestivirus in pigs in the USA / Ben. M. Hause , Emily A. Collin, Lalitha Peddireddi, Fangfeng Yuan, Zhenhai Chen, Richard A. Hesse, Phillip C. Gauger, Travis Clement, Ying Fang and Gary Anderson // Journal of general virology. - GB. - 2015. - vol. 96. - no. 10. - P. 2994 - 2998  
DATABASE EBI [online] 07 August 2015 (2015-08-07), "SubName: Full= Porcine pestivirus 1 strain 000515 polyprotein mRNA, complete cds, retrieved from EBI accession no. EBI: KR011347 Database accession no. KR011347  
Pogranichniy Roman, Search for etiology of porcine reproductive and neurologic syndrome: identification and characterization of a novel swine pestivirus // Retrospective theses and dissertations. 2005. P. 1 - 161. [Інтернет-публікація] URL: <http://lib.dr.iastate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=2330&context=rtd> (Знайдено 15.11.2016)

UA 124140 C2

**(54) ПЕСТИВІРУСНА ВАКЦИНА ПРОТИ ВРОДЖЕНОГО ТРЕМОРУ ПОРОСЯТ**

(57) Реферат:

Винахід стосується вакцини для захисту поросяти проти хвороб, пов'язаних із пестивірусом. Вакцина включає пестивірусний антиген і, необов'язково, ад'ювант. Також винахід належить до способу захисту поросят проти хвороб, пов'язаних із пестивірусом, в тому числі тремору, який включає введення заявленої вакцини.



ФІГ. 1

Споріднена заявка

Дана заявка заявляє пріоритет заявки США № 62/212,124, поданої 31 серпня 2015 року, що включена у цей опис шляхом посилання у повному обсязі.

Рівень техніки

5 А. Галузь техніки

Даний винахід стосується пестивірусної вакцини, яка здатна зменшувати клінічні прояви вродженого тремору (ВТ), або *myoclonia congenita*. Цей стан неформально відомий як трясіння поросят, дрижання поросят або тремтіння поросят.

10 *Pestivirus* - це рід вірусів з родини *Flaviviridae*. Віруси роду *Pestivirus* вражають ссавців, включаючи членів родини *Suidae* (яка включає різні види свиней).

ВТ - це спорадична хвороба новонароджених поросят. Зазвичай у приплоді вражається більш ніж одне поросля. Якщо тремор занадто сильний, через що поросята не можуть знайти сосок і ссати, то летальність може бути високою. Летальність у враженому приплоді або при спалаху в стаді може зрости порівняно з нормою на 3-10 %. Стан слабшає в міру зростання вражених поросят.

15 ВТ поділяють на п'ять типів. Типи AI, AIII, AIV та AV пов'язані зі впливом вірусу класичної чуми свиней, генетичними рисами або впливом трихлорфону. Так як ці причини відомі і тому їх уникають, то припускають, що найчастіше зустрічається тип AII. Вважають, що тип AII асоційований із вірусною інфекцією. Вірус, що є причиною типу 2, широко розповсюджений у більшості, якщо не у всіх популяціях свиней, але в більшості стад хвороба не проявляється, імовірно, тому, що у стаді свиноматок закріплено імунітет. Однак у стадах молодих свинок можуть відбуватися сильні спалахи, що охоплюють до 80 % всіх виводків першого опоросу. Для кожного нового стада молодих свинок це ризик, який не піддається кількісному вираженню.

20 Первинною причиною вродженого тремтіння поросят є гіпомієлінізація або демієлінізація головного та спинного мозку. Специфічного лікування цього стану не існує. Тим не менш, примусове ссання і забезпечення умов середовища, що запобігають переохолодженню та наляганню, дозволяють більшій кількості поросят з часом видужати, хоча їх маса при відлученні може бути менша на 1 кг або більше.

В. Опис пов'язаного рівня техніки

30 Тоді як раніше повідомлялося про те, що інфекція свинячим цирковірусом типу 1 і типу 2 (див. Burnborg та ін., "Association of myocarditis with high viral load of porcine circovirus type 2 in several tissues in cases of fetal death and high mortality in piglets. A case study." *J Vet Diagn Invest.* 19(4):368-375, 2007), або астровірусом (див. Blomstrom та ін., "Astrovirus as a possible cause of congenital tremor type AII in piglets?" *Acta Vet Scand.* 56(1):82, 2014), були причиною ВТ, на сьогодні доведено, що це не так (див. На та ін., "Lack of evidence of porcine circovirus type 1 and type 2 infection in piglets with congenital tremors in Korea", *Vet Rec.* (2005) 156:383-384; Kennedy та ін., "Absence of evidence of porcine circovirus infection in piglets with congenital tremors" *J Vet Diagn Invest.* 2003 Mar; 15(2):151-156). Таким чином, чіткого патогенного джерела ВТ типу AII у поросят немає, і як наслідок, немає і ефективного лікування цього стану.

40 КОРОТКИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

Рішення вищеописаної технічної проблеми досягають, як описано в описі та варіантах виконання, охарактеризованих формулою. Таким чином, винахід у різних його аспектах реалізують згідно формули.

45 Даний винахід забезпечує імуногенні композиції, вакцини та пов'язані способи, які долають недоліки рівня техніки. Композиції та способи забезпечують лікування вроджених треморів у поросят.

В одному з аспектів надані композиції можуть містити інактивованій пестивірус, що включає послідовність нуклеїнової кислоти, яка принаймні приблизно на 95 % ідентична SEQ ID NO:1, напр., принаймні приблизно на 96 %, 97 %, 98 %, або принаймні приблизно на 99 %, напр., на 100 % ідентична. В іншому аспекті даний винахід забезпечує композиції, які містять інактивованій пестивірус, що включає послідовність нуклеїнової кислоти, яка принаймні приблизно на 95 % ідентична SEQ ID NO:2, напр., принаймні приблизно на 96 %, 97 %, 98 %, або принаймні приблизно на 99 %, напр., на 100 % ідентична.

55 У деяких варіантах виконання заявлених композицій пестивірус є хімічно інактивованим пестивірусом, напр., пестивірусом, інактивованим обробкою інактивуєчим агентом, таким як бінарний етиленімін, етиленімін, ацетилетиленімін, бета-етиленімін, бета-пропіолактон, глутаральдегід, озон і/або формальдегід.

60 У деяких варіантах виконання пестивірус є фізично інактивованим пестивірусом, напр., пестивірусом, інактивованим обробкою УФ-випромінюванням, рентгенівським випромінюванням, гамма-випромінюванням, заморожуванням-відтаванням і/або нагріванням.

В іншому аспекті надані тут композиції можуть містити атенуйований пестивірус, що включає послідовність нуклеїнової кислоти, яка принаймні приблизно на 95 % ідентична SEQ ID NO:1, напр., принаймні приблизно на 96 %, 97 %, 98 %, або принаймні приблизно на 99 %, напр., на 100 % ідентична. В іншому аспекті композиції можуть містити атенуйований пестивірус, що

5 включає послідовність нуклеїнової кислоти, яка принаймні приблизно на 95 % ідентична SEQ ID NO:2, напр., принаймні приблизно на 96 %, 97 %, 98 %, або принаймні приблизно на 99 %, напр., на 100 % ідентична.

У деяких варіантах виконання описаний тут пестивірус може перебувати у ліофільно висушеній формі. В одному із варіантів виконання композиція містить принаймні приблизно 10<sup>4</sup> вірусних частинок, напр., принаймні приблизно 10<sup>4</sup>, 10<sup>5</sup>, 10<sup>6</sup>, 10<sup>7</sup>, 10<sup>8</sup>, 10<sup>9</sup> або принаймні

10 приблизно 10<sup>10</sup> вірусних частинок.

У деяких варіантах виконання описані тут композиції можуть включати фармацевтично прийнятний носій і/або допоміжну речовину, напр., ад'ювант, напр., ад'ювант на основі емульсії "олія у воді".

15 У деяких варіантах виконання композиція може включати суміш інактивованих і атенуйованих пестивірусів, описаних тут. Даний винахід також описує композиції, які включають суміш інактивованих пестивірусів, атенуйованих пестивірусів та векторів, описаних тут.

У ще іншому аспекті даний винахід забезпечує композиції, що включають вектор, напр., бакуловірусний вектор експресії або вектор з аденовірусу собак, який включає принаймні одну послідовність нуклеїнової кислоти, яка принаймні приблизно на 95 % (напр., принаймні

20 приблизно на 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) ідентична SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 або 21, напр., принаймні одну послідовність нуклеїнової кислоти, яка на 100 % ідентична SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 або 21. В іншому аспекті даний винахід описує композиції, що містять вектор, який включає принаймні одну послідовність, яка кодує амінокислотну

25 послідовність, що принаймні приблизно на 95 % (напр., принаймні приблизно на 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) ідентична SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 або 22, напр., принаймні одну послідовність, яка кодує амінокислотну послідовність, що принаймні приблизно на 100 % ідентична SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 або 22. У деяких варіантах виконання композиції можуть включати суміш вищеописаних векторів.

30 Також забезпечено способи захисту поросяти від захворювання, пов'язаного із пестивірусом, напр., вроджених треморів. Способи можуть включати введення вагітній свиноматці чи свинці, або свиноматці чи свинці до злучки, або новонародженому поросяті будь-якої з описаних тут композицій у кількості, достатній для захисту поросяти.

У деяких варіантах виконання способи включають введення композиції свиноматці або

35 свинці внутрішньом'язово, підшкірно, внутрішньовенно, перорально, внутрішньоартеріально, інтраназально (напр., з або без інгаляції), інтракардіально, інтраспінально, інтраоракально, інтраперитонеально, внутрішньошлуночково, сублінгвально, трансдермально і/або шляхом інгаляції. В одному із варіантів виконання введення є першим введенням, і способи включають друге введення через період від одного до трьох тижнів після першого введення.

40 У деяких варіантах виконання даний винахід забезпечує будь-яку із описаних тут композицій, напр., композицій, що включають інактивований пестивірус, атенуйований пестивірус і/або вектори, для застосування як лікарського засобу або для застосування у виробництві лікарського засобу. У деяких варіантах виконання описані тут композиції призначені для захисту поросяти від захворювання, пов'язаного із пестивірусом, напр., вроджених

45 треморів.

Даний винахід пов'язаний з інактивованими або модифікованими живими пестивірусними вакцинами, які філогенетично найближчі до пестивірусу китайського кажана. На ФІГ. 1 та ФІГ. 2 показане філогенетичне дерево пестивірусу згідно даного винаходу. Дерево, на якому поєднані сусіди за амінокислотами, побудоване на основі 212 амінокислот NS3, які перекривалися між частковим і повним секвенуванням геному пестивірусів. Рівень відмінності відповідає новому

50 виду пестивірусів. Серед ідентифікованих ізолятів пестивіруси на нуклеотидному рівні на 83-98 відсотків консервативні, як показано на ФІГ. 3.

Пестивіруси згідно даного винаходу можуть бути застосовані для виробництва подібних вакцин. Зокрема, винахід забезпечує вдосконалені пестивірусні ізоляти, які ідентифіковано

55 нижче, або будь-які нащадки чи потомки одного з вищевказаних ізолятів.

Пестивіруси згідно даного винаходу характеризуються тим, що вірус може бути атенуйований принаймні чотирикратним пасажуванням на клітинній культурі таким чином, що коли модифікований вірус вводять свині або іншому ссавцеві, схильному до ВТ, то він не викликає клінічних проявів захворювання ВТ, але здатен викликати імунну відповідь, що

60 імунізує ссавця проти патогенних форм пестивірусу.

Пестивірусні ізоляти згідно даного винаходу можна пасажувати *in vitro* в клітинній культурі більш ніж 10, більш бажано принаймні 20, ще більш бажано принаймні 30, іще більш бажано принаймні 40, навіть більш бажано принаймні 50, іще більш бажано принаймні 55, навіть більш бажано принаймні 60, іще більш бажано принаймні 70, навіть більш бажано принаймні 80, іще більш бажано принаймні 90, навіть більш бажано принаймні 95 і найбільш бажано принаймні 100 разів.

Передбачено, що вакцина може містити носій, придатний для внутрішньошкірного або внутрішньом'язового введення. У деяких варіантах виконання вакцина знаходиться у ліофільно висушеній формі. У конкретних варіантах виконання вакцина містить принаймні приблизно 10<sup>4</sup> вірусних частинок.

Даний винахід забезпечує імуногенні композиції, вакцини та пов'язані способи, які долають недоліки рівня техніки. Даний винахід стосується імуногенних композицій, які включають інактивованій або модифікований живий атенуйований пестивірус. Додаткові імуногенні композиції включають вакцину, яка складається з субгеномного антигену, рекомбінантно експресованого або доставленого як частина векторної платформи. Зокрема, заявкою забезпечено вакцину для захисту свиней і особливо поросят від хвороб, пов'язаних з ізолятами пестивірусу згідно даного винаходу.

Інший аспект винаходу стосується пестивірусу, який включає нуклеотидну послідовність, принаймні приблизно на 95 % ідентичну, напр., принаймні на 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну послідовності, викладеній у SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 або 21.

Інший аспект винаходу стосується пестивірусу, який включає амінокислотну послідовність, принаймні приблизно на 95 % ідентичну, напр., принаймні на 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну послідовності, викладеній у SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 або 22.

Інший аспект винаходу стосується способу виготовлення інактивованої або живої атенуйованої вакцини для боротьби з вродженими треморами, який включає змішування інактивованого або живого атенуйованого пестивірусу згідно наданого тут опису із фармацевтично прийнятним носієм.

Імуногенні композиції та вакцини згідно винаходу містять інактивовані або модифіковані живі пестивіруси і також можуть містити ад'ювант. Вакцина також може містити інші компоненти, такі як консервант(и), стабілізатор(и) і антигени проти інших свинячих патогенів.

Фахівцям у даній галузі зрозуміло, що використовувані тут композиції можуть включати відомі ін'єкційні, фізіологічно прийнятні стерильні розчини. Для виготовлення готового для використання розчину для парентеральної ін'єкції або інфузії доступні водні ізотонічні розчини, напр., сольові розчини або розчини плазмових білків. Крім цього, імуногенні та вакцинні композиції згідно даного винаходу можуть містити фармацевтично або ветеринарно прийнятні носії, розріджувачі, ізотонічні агенти, стабілізатори або ад'юванти.

Способи згідно винаходу також можуть включати змішування композиції згідно винаходу з ветеринарно прийнятним носієм, ад'ювантом або їх комбінацією. Фахівцям в даній галузі зрозуміло, що вибір носія, ад'юванта або їх комбінації визначається серед іншого шляхом доставки, особистою перевагою та видом тварин.

В іншому аспекті винаходу передбачено вакцину для захисту свиней від пестивірусної інфекції, яка містить інактивованій або живий атенуйований пестивірус згідно даного винаходу та фармацевтично прийнятний носій.

Така вакцина може, як додаткову перевагу, включати один або більше вірусів, які не є пестивірусами, або пестивірусів, які відрізняються від пестивірусів за даним винаходом, атенуйовані або інактивовані патогени або їх антигенний матеріал. Наприклад, патогени, які не є пестивірусами, можуть бути вибрані з вірусу псевдосказу, вірусу свинячого грипу, свинячого парвовірусу, вірусу інфекційного гастроентериту, *Escherichia coli*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Bordetella bronchiseptica*, *Salmonella choleraesuis*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis*, *Mycoplasma hyopneumoniae* свинячого цирковірусу, включаючи, але не обмежуючись ним, свинячий цирковірус типу 2 (PCV2), репродуктивно-респіраторний синдром свиней (PPCC) та *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Також розкриті способи лікування або профілактики інфекцій, викликаних пестивірусом. Спосіб включає введення ефективної кількості імуногенної композиції згідно даного винаходу тварині, а саме вагітній свиноматці або свинці, при цьому зазначене лікування або профілактика таким чином надаються поросяткам. Лікування або профілактика вибрані з групи, яка складається з послаблення проявів ВТ-інфекції, зменшення тяжкості або частоти клінічних проявів ВТ-інфекції, зниження летальності тварин від ВТ-інфекції, та їх комбінацій.

Тут і далі придатні суб'єкти та суб'єкти, що потребують введення композиції згідно винаходу, включають тварин, які потребують профілактики або лікування пов'язаної з вірусами,

мікробами, паразитами, протозоями, бактеріями або грибками інфекції, хвороби або стану. Тварини, у яких стимулюють імунну відповідь застосуванням композицій або способів згідно винаходу, включають домашню худобу, таку як свині, жуйні тварини, кози та вівці. Тварини, яким віддають перевагу, включають свиноподібних, мишевих, непарнокопитних, зайцеподібних та жуйних. Найбільшу перевагу віддають стимулюванню імунної відповіді у свиней, особливо у свиноматок, свинок та поросят.

Винахід забезпечує спосіб зменшення захворюваності на або тяжкості одного або більше клінічних проявів, пов'язаних з або викликаних пестивірусною інфекцією, який включає етап введення імуногенної композиції згідно наданого тут винаходу таким чином, що захворюваність на або тяжкість клінічного прояву пестивірусної інфекції зменшується принаймні на 10 %, більш бажано принаймні на 20 %, ще більш бажано принаймні на 30 %, ще більш бажано принаймні на 50 %, ще більш бажано принаймні на 70 %, найбільш бажано принаймні на 100 % порівняно з суб'єктом, що не отримував імуногенної композиції згідно даного опису. Вказані клінічні прояви включають тремтіння і дрижання усім тілом різного ступеня тяжкості. Поросята зазвичай народжуються з дрожжю, тремтінням і киванням, при цьому активна стимуляція часто погіршує дрож. Дрижання здебільшого припиняється, коли поросята сплять. Крім цього, можуть бути присутніми м'язові тремори під час ходіння поросят, нервові симптоми, втрата координації, "поза сидячої собаки" та підвищена летальність. У деяких випадках тремтіння стає очевидним лише у віці 24-48 годин. Вплив на поросля включає вплив на ссання, при цьому у важких випадках необхідне фізичне притримання поросяти на соску. Залежно від тяжкості спалаху рівні летальності можуть складати 15-20 % і до 30-40 % у більш тяжких спалахах. Інші виміри клінічної тяжкості включають зменшення середнього набору ваги за день і неврологічні ушкодження.

Шляхи введення, яким віддають перевагу, включають інтраназальний, пероральний, інтрадермальний та внутрішньом'язовий. Перевагу віддають внутрішньом'язовому або внутрішньовагінальному введенню, більш бажано однією дозою. Кваліфікованим професіоналам зрозуміло, що композиції згідно винаходу можуть бути введені множинними (напр., двома або більше) дозами, так само як і іншими або множинними шляхами введення. Наприклад, такі інші шляхи включають підшкірний, внутрішньошкірний, внутрішньовенний, внутрішньосудинний, внутрішньоартеріальний, інтраперитонеальний, інтратекальний, інтратрахеальний, внутрішньошкірний, інтракардіальний, інтралобулярний, інтрамедулярний або внутрішньолегеневий. Залежно від бажаної тривалості та ефективності лікування композиції згідно винаходу можуть вводити один або декілька разів, а також періодично, наприклад, щоденно протягом кількох днів, тижнів або місяців, і у різних дозах.

Також передбачено спосіб приготування живих атенуєваних пестивірусів на клітинах, що не належать ссавцям.

Нові вакцини за даним винаходом не обмежені жодним конкретним типом або способом приготування. Ці вакцини готують стандартними відомими в галузі методами. Найбільшу перевагу віддають доставці пестивірусної вакцини інокуляцією свинок або вагітних свиноматок проти вірулентного пестивірусу, де материнський імунітет передається поросяткам.

Інші цілі, ознаки та переваги даного винаходу будуть очевидні з нижчевикладеного детального опису. Тим не менше, слід розуміти, що детальний опис та конкретні приклади, позначаючи варіанти виконання винаходу, яким віддають перевагу, наведені лише як ілюстрації, оскільки фахівцям у даній галузі з цього детального опису будуть очевидні різні зміни та модифікації в рамках суті та обсягу винаходу.

#### ОПИС ФІГУР

Нижчеперелічені фігури є частиною даного опису та включені до нього з метою продемонструвати певні аспекти даного винаходу. Винахід можна зрозуміти краще з посиланням на одну або більше з цих фігур у комбінації з детальним описом конкретних варіантів виконання, наданим тут.

На ФІГ. 1 та 2 зображено філогенетичні дерева, що ідентифікують нові пестивіруси згідно винаходу.

ФІГ. 3 являє собою порівняння амінокислотної ідентичності (відсоткової ідентичності) пестивірусних послідовностей згідно винаходу.

На ФІГ. 4 показано цикл вірусемії у поросят, яких перевіряли у Прикладі 1.

На ФІГ. 5A і 5B показано філогенетичну спорідненість пестивірусів. Філогенетичні дерева з поєднанням сусідів згенеровані на основі 1000 бутстреп-вибірок (MEGA 6.0) для амінокислот пестивірусу NS3 (5A) і Npro (5B), вирівняних множинним вирівнюванням ClustalW. Номери доступу GenBank для кожного зразка вказані у назві. Кружечками позначені послідовності, описані в цьому дослідженні, а трикутником позначена послідовність вірусу, який

використовували для інокуляції.

ФІГ. 6 являє собою стовпчикову діаграму, яка відображає відсоток позитивних і середнє значення Cq у РЧ-кПЛР за типом зразка. Пестивірусна РНК виявлена РЧ-кПЛР, націленою на ген NS3. У поросят, інокульованих ФСБ, вірусної РНК виявлено не було.

5 ФІГ. 7 являє собою графік, який показує, що інактивований пестивірус індукував специфічну до пестивірусу серологічну відповідь у вакцинованих поросят.

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

Винахід забезпечує інактивовані пестивірусні, атенуйовані пестивірусні та субдиничні вакцини або імуногенні композиції, які можна вводити свиноматкам або свинкам для зменшення клінічних проявів вроджених треморів у їхніх поросят. Крім цього, описані способи введення, способи виготовлення вакцин, аналізи та інші аспекти винаходу.

10 Більш бажано пестивірус згідно винаходу є інактивованим пестивірусом і/або модифікованим живим пестивірусом і/або атенуйованим пестивірусом, що має послідовність нуклеїнової кислоти, принаймні приблизно на 95 % ідентичну SEQ ID NO:1, напр., принаймні  
 15 приблизно на 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну SEQ ID NO:1, або має амінокислотну послідовність, принаймні на 95 % ідентичну SEQ ID NO:2, напр., принаймні приблизно на 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну SEQ ID NO:2.

20 CATAATGCTTTAATTGGCCGCATTATGTGTGGGACATCCTAAATATTTATGAGCCCTGCGGTG  
 AGTGGGGGAAAGAGGTTAACCAGGCCTCTAGTACCACAGGCACCAATGGACAGGGCAACTCAAA  
 CCTGAGAGAGAGGTACCGAACTCTTAAGCCCCGAGTACGGGGCAGACGTCACCGAGTAGTACA  
 25 CCCAAAGACCACCACTTCTAGGTGTAGGGTCTACTGAGGCTCGGGTGGACGTGGGCGCGCCCA  
 AAGAGAAATCGGTGGTGGACCTGGGGGTCTGGGGCCACCATGCCCTTTACGGGGTAGACCTTA  
 CTGCTTGATAGAGTGCCGGCGGATGCCTCAGGTAAGAGTATAAAATCCGTTGTTCATTAACATGG  
 AAAACAGATTGCATATTACTTAAAAAAGAAAAACAAAGAAATGGGTGGACGGAAGTGGTGGTA  
 30 GGAGAAAGTCATACAAAAATAACCACGCTTTCTGGAAAGACCTATCGAGGCACCTGGGAAATGG  
 AGAAACGGCCAAATCCTTATGGAACCTATCTCCCCAGACCTAGTCCCCAACAGCTTACAGCCCTA  
 CACCCCAACCCAGTGGTGAATTGTAAGGTGGTTGAGTACAAGGAGATGGACCCCTAATTATGGTG  
 ATTGCCCAATACGAACGGGGTGTGTTGTTGACGAAAAGGGTAGAAGGCTGAGCAGCCCTCCATT  
 AGGCATTTGGAAGATAAGATTGGACTATAGTGAAGTGGTAAACATAAGCAGACCAACCCCGCTA  
 35 GTGGGAAAAACTCTTACCAAGTTGAGACCTGCAGTGGGGAGCTGGCTACAGTGACACTGGTACA  
 CAATAGGGTGCTCGTGGAAAGATTGCAGGGGGCTATACCAATGGAAACCAACTGTGAAGGAATT  
 GTGCTCTATGTGAAAACCTTGTCTGACTGGGCAGATCAGGTAGAAAAACAGGAGAAAGAAAGCC  
 CCCCCAACACAGCGGCCACCAAGGCGAGACCCACGAAAAGGGTTACAACCACAAGTCCCCCA  
 AAGAGACTGAGGTCACAGAAAAGAAGAGACAACCTAGTGTACCTTAGTATCGGGGGGGCAGAA  
 40 GGCCCAAGTCTACTACAAAGGCAGGACCAAAAAACAAAAAGACCCCGGATGGAGTCTATAGATAC  
 CCAGAGCTAAAGAAGGGGACGCTAGTAAAGTCAAGGATGCTGAAGAATTGGCATATAGCCT  
 TAGTGATGTACCTGATACATATCATAACTCCAGGCCTTGCCAAGGTCCAGTGGTTCTTAAAAGAT  
 GAAAACTCGACGGGGATCAACCAGATACTGTGGCAAAGACAGATCAACAGATCCTTACATGGAG  
 AATGGCCTAACAGATCTGCCACGGTATGCCCAATGAAACTATCACGGATGAGGAATTACGCAGT  
 45 CTGGGAATGGTAGATACAAGCCCTAGAACAAACTACACCTGTTGCCAGTTGCAATATCATGAGTG  
 GAAGAAACATGGTTGGTGCAACTATCCACAAAAACAGGCGTGGATCACGAGGATAACGGCCCTA  
 CAAGCTAACCTTACCGGGCCTTATGAGGGACCTGAGTGCGCCGTCATCTGCCGATTTAACGGCA  
 GCTACAACATCGTAAAACAGGCCAGAGATGAGGTGAGTCCACTGACAGGGTGAAGGAAGGGC  
 ATCCTTTTCTATTCTCTGGTGAAGATCCGACACCTCATGCCTAAGGCCCCCTTCCACTAGTTGG  
 50 GTAAGACCAGTGAATGGACGAGGCATCAATGGCCGATGGCTTTGCCCATGGGGTTGATAAGG  
 CGATAATACTAATCAGGAAGGGGGCATCAGGAATAATCAATTTCTAGACACTATTGGGAGGTGG  
 CTACCGGTAGCTGAAGCAACTATAGTACCATATTGTGATACTTACACTGTGACAGGGATGTATGT  
 CCATGTAAAGAATTGCCTCCCTAGAGGGTTACCTAAGCATTCAAAAATAATCTCCCCGACAATGAT  
 ATATCTGGGAGAAGGAGACCCGGCCATAATATCCAGCACTTATTTGGCTCAGGTATAGCAAAGT  
 55 GGGTCCCTAGTTCTACTCGGGATTCTGGGTGAGTGGTATGGAGAATTGGCTTCCACAATATACTTA  
 CТАCTAGAATACGGGTCTGAGTGGTTGGAACATGAAAGCCTGGTCACGGAAGGGTTGATTCCCTG  
 GCATTAATATTACAATAGAАCTCCCAGCTAGTCATACAGTGCCTGGTTGGGTGTGGGTCCGAGGC  
 CAGTGGGTATGCGTGAAGCCAGACTGGTGGCCTACACAGATTTGGATTGAAACCGTGGTGGCAG  
 AGACCTGGCATACTAAAAATATTGGCGTCAGCCCTGGTGAACATAGTTGCAGCGTTCGTAAAC  
 60 CTGGAATTGGTTTATCTGGTCATAATACTAGTCAAAATATCAAAAGGGAACCTGATAGGTGCCATA  
 TTATGGTGCTTGTACTGTСAGGCGCTGAAGGCTCGTGCTACAAAAGACAAGACTATTACAACAC  
 CCAACTAGTCGTCGAAGAAAAACAGGCGTAGAAAAACGATCTATAATGGGCAAGTGGACCGTG  
 ATAACCAGGGGAAGTCCGGGAGCCAAGATTAATGGAGCAATAAATATGGTATTGAATGATAGCCT  
 GTCAGAAACCTACTATAATAGGCTAAACACCAGCACTTGGGGGGCAGCAACCGGCAAGACAA  
 AGAGGGTGTGGTCAAACCCGTGCCCTATTGGCCTGGTGACAATGTTCTAGAAGAACAATACTACA

GCACAGGTTACTGGGTGAATGTAACAGGCGGTTGCCAGCTGAGAGAAGGCGTATGGCTATCAAG  
 AAAGGGTAACGTACAGTGTACGCGTAACGGCTCATCCTTGATGCTGCAATTGGCGATAAAAGAA  
 GAGAATGACACTATGGAAATACCATGTGACCCAGTGAAACTGAAAGTATGGGTCCAGTTGCACA  
 5 GGGCACTTGTGTGTACAGCTGGGCATTGCCCCAAGAGGGTGGTACTATAACAGGAAGGATGGT  
 TATTGGCTCCAGTACATAAAGAAAAACGACTACCAGTATTGGACAAAAATGCCTACTGCCTCGTC  
 CGCCGCAACCATGTACCGCCACTTGTCCCTTACTGGTGGCCTGCCTCATGGGCGGTAGGATA  
 TCGGTGTGGTTTGTGGCAATGCTCCTGTCTCTACAGGTGGAAGCTAGTGAAGTAGGCACTAAAC  
 AACTGGCTGTCACGCTAACCCGTGTGAAAAATGGACTGGACAGAACTACTTTTCTATATTGTCTTG  
 10 ATGCTAGCCGTTAAGGAAGAACTTATAAAAAAATTGTGACCGCTAGCCTTGTGGCCTTAAAAAAT  
 AGTCCAGTAGCCTTGAGTTTTCTTATTGTACTCAGACTTGTGGGGGCAGTGAAGCACTCCCAGT  
 AGGTTTATTATTAGAAAAAATGTGCATAGACCAACCGGAGTTTGGAACTCCTTTCTGATCTACCT  
 ATGGGACAACGGAAGTGGACTGTGTTAGTCACTTCTCCGCACTGAACCATGAAAAAATAA  
 AACTGGCAAGAAAACGTGTTGGCAACACATATAACAGCGCTCACATTGACTGGCTTGAGTGAT  
 TCAATCTTCTATATGATGCTTATAACAACAATTTGTTAATAAAGACATTCATATACTTGTGGGGG  
 15 CTAGTATGAATTGGGTGAGAGAGAAAAAAGAAATTGCTAGTGAAGAGGAGACTAATATACAAG  
 AAAGCCGTTACTTGCAGTCAGGATGAGAATGTATTGGAGAATAAATTCAACAAGATAACTGTAAC  
 GCGGATTTACCCCCATGCAAGCTTGAACCTTCTACAATTACTTAGGGCTTTTTTAGTCTCTTTGTGT  
 TTTTCTACTACAAACCTCTCCTGTATGCAGAGACTACCTTAACTGTAATAGTAATTGGCGTACAA  
 GAGTACAACGTAGCCATGGCCCGCGGGCGAAGTGTGGTCCACAGGCTACTAGCCATGGCCTAT  
 20 TACATACGCGCCGATACAGGGTGACATGTTCCAGCTCGCCACTATCCAGTGCCTGCTGTGCGA  
 GTCCGAGGAAAATTATGAAACACATGGTAGAGAATCCAACCTCTCAAGAAGCTCTGGCAAGCGA  
 AACAGAACTCTTCAACCAGGGTGTAGTCAATCCAAGATAGTGAATCCAAAGAAAATTGGGCTGG  
 AAGAATTACACAAGGGCATGTGTGGCCTCCCAACAGTAGTGCAAATTTGGTCATATATGCAAAG  
 AAGAATGACTCTCTTATTTTAGGAGAGCTGGGTACCCTCCCTGGGGATCTCACCAGTGATGGGT  
 25 GGGAAATTTTAGTCTGCGAGAATCCCAAAGATCACTAACGTCGAGTCTGCTAAGATGGACTTA  
 CTCTCCAAACTTATGACCTTTCTGGGGATTGAAAGCTCGAGGGTCCCAGGACCCCAGTCCACT  
 CAACAAGGAAATTATTGAAGATAGTAAGGGGCTTGGAAACAGGATGGGGGTACACTCACGCAGG  
 GGGGATAAGTAGCGCAAACACGTTACAGGTGAAAAGAACTTAATGACCCACATGGAGGGTAGG  
 AAGGGAAAATATATCCTACAATCTCAAGAACATGGTGTGACGAGGTAGAGTACGGAGTAAAAAC  
 30 TGATCAAAAAGCTCCCGACAATGCCTTATGCTACTGTTTTAACCCCTGAAGCTACAAACATAAAAGG  
 AGAGACGGGAGCCATGGTGTTCATGAAGAAGATAGGAAAAAAGTGGACTCTCGTAACATCAGAC  
 GGCAATAAAGCCTATTATAATGTAACAATTTGAAAGGGTGGTCTGGACTACCAATAATGCTGCA  
 CTCCACCGGGGCCATAGTGGGGAGGATTAATCAGCGTATTGAGATGAAAACGACCTGGTGGAG  
 GAACTTATTGACTCTAGAACTATTAGTAAGAGCAATGAGACAAACCTGGACCCTTATCAAGGA  
 35 ATTTGGCAGACATGCGGAGGGGGAGTTCCGCTCAATTACCCTTGGAACGGGAGCCGGGAAAAC  
 CACAGAAGTGCCTAGGCAATACCTCACACAGTAGGTGCCATAAATCCGTGCTGGTCTTAGTCC  
 CCTTAAAAGCACCTGCTGAAAGTGTGTTGCGCTTTATGAGGTCTAAATACCCTACCATCAACTTTT  
 CCTTAAAGAGTGGGGGAACGGAAGAGGGGAGATGTGAGCAGCGGCATCACCTACGCTACTTACG  
 GATTTTGTGCGCAGCTAAACCTAGTCCAACCTAAAGAATGGATATCCAGGTAATGGTTTTTTT  
 40 TTGATGAATATCACACAGCAACTCCAGAACAATAGCCATAATAAGCAAGATTCATGCACTGAAAG  
 TTAAGACCAGGATAGTGGCTATGTCAGCAACCCCCCGGGTACCGTGACGACTGAAGGCAGGAA  
 GTTTGACATTGAAGAGGTAGGGTGTGCTACCATAGAGAAAGGAGAGGAACCAAAAAGGGGGCG  
 CATAGCGGTGCTGCTGGTATGCAGGTCCCATTAGAAGACTTAAACAGGAAAGAACTGCCTGGTGTTC  
 GTGGCAACCAAGAAGCCGCGGAGACGGAGGCTAAAGAAGTGGCACCAGAGGAATTAACGCC  
 45 ACCTACTACTATTAGGTATAGACCCTAAGACTCTGGAACATGGGATGACCAATCAGCCATACTG  
 TATTGTAGCTACCAATGCCATTGAATCAGGTATAACCTGTCTGACTTGGATGTGGTCATAGACA  
 CCATGCAGAAGTACGAAAAAGTAGTGAATTTCTCGGCAAAGATGCCCTTGATTGTCACTTCATTA  
 GTAAAGAAAAAATCACCAGGGAAGAACAGGGCCAGAGGAAAGGTGAGTGGGCAGGCAAAAG  
 AAAGGAAAATACTACTACCCCTCGGGGGTGGTACCGAATGGGTCAAAGACCTAAGCTATTTAAT  
 50 CCTACAGGCCCAAGAATATGGTGTCTTGGAAACAAGTCAATATAACAGAGTACTTCATCATAATGAA  
 TGAGGACTGGGGTCTCTATGACGTAGATGAAGTAGAAGTGAGAATACTTGAGAGAATGAACAAG  
 GAAATCTTGCTACCACTAGGTATTGTGGAGAAGCAAATCTTGGAAAGAAGTACTCACCCGGAAAA  
 AGTGGCACTGTTGTATAACAAATTAGTGCAGAAAAATCCTATAGTATACCCTAGAGTACAGGAAG  
 GTGAGGTGAGCAAGGAATACAATACCTATAATCTGGCCGTATATGACAAGCTAAAAGATGTCAAC  
 55 CCACAAGCCATTTATGTTCTAGCAGAAGAGGAGAGGCCACAGAAATGATGGGTCTCGAGTTTG  
 AACAAGACCCATCTGACTTACAGGATTCGGTAGTTGAGCTTTGTGAAGATATCAAGAGGTATACA  
 AAACCTCTGGGATCACTGAGAAACTGCTAGTAGGTACGATGTTGGGGTATATTGGATACAAAGC  
 CTTAACCCAGAAACCGTGCCCTGGGTGAGCAAGAGTATTGTTATGAGTACCGGATCACCGG  
 GATACTTACGAAAACCTATTGCGACCTTTGGACGTGACGTCCAAAACCTCCGGTGAAGGAAAACA  
 60 CCCAGAGCAACTGGCAGACCATCAATTGAGGCAACTACTGGAGACTGGGAGAGACAAGGCAATT

GATTTTCCTAAAAGGAATCCGCGAGTTCACTAGTGGGGCCATAAACAGTCCAAAGGCACTAAGTAT  
 ATGGGAGAAAATATATCAGTATTTGAAGAAGCATCAGGGCGAGATCATCTCATCAGCAGCGTGG  
 GGCAGTGCACGGCCCTTACGACAGTATTAATCTAGACTAGGAGATGAGGTGCTACTGCAG  
 TAATAATCCTCAAGTATTTAGCATTGGTGAAAGAGAAGTGTCTGGGCTAACTAGGCAAGTTCTAA  
 5 TTGACATCATAGTATATTATATAGTTAACAAGCCCCGGTTCGAAGGAGACGACTACGCAAAGAGA  
 AAAGGAAGAAGGCTAGTCATCGAAGTCTGATGGGGGCACTGGCGACTTATGCGGTGTCCAATT  
 TTTGGGGTGTGTCCATTAATAAGATACTGCAACCAATTTCTGATTATCTACCCTATGCCACCGCCA  
 CTTTGGCTTTTCTTCGCCCAACCTTCATGGAATCAGCAGTGGTGGTTCGCTTCTCTATCTATAGA  
 10 GCTTTTCTCTCCATTAAGCATGCGGAAAACAGGAGTCTTGTACGCAGGTTCGCTTCTGCCGCCCT  
 CGAAGTCATGGGCCTGACCCAGTATCGGCTGGCCTAGGCGTCTTGTCTGGGGCTTGGGTTGTG  
 TGTGCTCCATATGAACATTGACAAGAATGAGGAGAAAAGGACACTTATACTGAAAATGTTTGTCAA  
 AAACCTTTATAGACCAGGCGGCCTAGACGAGTTGGATAAACTGGAGCCAGAAAAATAACCTCT  
 CATTGTTGAGGGTATCCAAACCTGCACAAACCCGATTAGAGCAATCATGATTTTTGTACAGGGTG  
 TACTACAAGGGAGAAAACCTTTCACAGAAGCTTTGTCTAAGATGGCCGGCAAGTCTCTCATTGTGAT  
 15 GGTTCATAGTCGAGTTCCTGGAATTGACAGGCCAAACCCAAGGAGGGTATATAGATCTTAGTGCTA  
 ATTTGCTGACCTTTCTCCTCGAGAACTAAAAAAATGACTAACCTCGCCATCGGGGAAGCTAGA  
 AAGGTCTTGCTCCCATCCATACTTGTACTGTGAAACCTGGCAGTCTGACGCCAGAATCAAGGC  
 CCCTGAATCCTACGACCAAGTGGTAGTGAATGCAAATGTGGCGCTTCAGCGAGGTATTCCTTC  
 CGCGATGGAGTTCATGAGATATTGGAAGAAAAAGGACTAATTGGTGAAGAATCTTCTTATG  
 20 GGGACCCAACTTCCACAATCCGGATCCAAAAAGGATGACATTCTATGAATACGGCCAAGCAAAA  
 AGTGTCTGTTATCATAATTGGTGAAGACATAACCTTCGGCAAATATGGCATATATATCAAATTTG  
 GCCATAGGCCTGATGGAGGGAGGTTAATAAGGGGTACCACCCACGCTACTATCAGTAGGGAGG  
 AATTGCTGGAAATCCTAACAGCCCCAAGCCAAGTGGCCATAGGCAAGGTCAAGCTAACCGATTA  
 CTGTAATCAAAAAGGAATAATAGACAGGAAATTGGCCGTAATTGAAGGTGACAAAATACATTTTTG  
 25 GAAAGCACACCGTGGATCCAAAATCACAGACCAACTCACTATTGAGAATCTGACAGATGATTTGG  
 GGTCAGAAATCAGGGACATCACATGGGAGCTGTACACAGGTGGAACGTGCACCGTAAAAGGGG  
 TGTCCCTTAGATCATGCGCACCAGGTTCATAGAATAAGGCTATGGTCTTGTGTGATTGCACTGAT  
 GTGCTTAGCCCTGTTACCTAATAAACGGCAGGAGACCATCCCATTTGACGTCGCGGAAGGTT  
 ATGAATGTCACCACCGGAAGCCCCGAGCGACGTATGAAGACCTAGAAATGGAGGAAATACTAAA  
 30 GAGACGAGTCCCTGTCTACGATCCTCTGTGTTTGTGTTGACTGATAGTAACTGCTACCTCCC  
 ACACCTACTACTTGGGAAGAAGATCAAGAGGACTTTGAGTACGCATTGAGATGCTGGGGCCTCGG  
 GGTTTATGTAGCAGACGGGCCTGTCACTTCCCCCGGACATAAGAATACACCATAGTTCCGGTAT  
 TACTACTGCTGACACCTGGAGTAACTCAGAGTTGCCCTTACAGTACATACGTTGTTACCCTCAT  
 CAGGCAGAGGTGGACATCTACATTAGGAGTCAGCTTTTGGAGGAGGAAGACAGTCTACGGAGG  
 35 TGGAAGGCTCCAGGAAGATGGTGTGTAAGGGATGGGCGATGCGGTAATAGAGGATGAGGATA  
 CATCGTCCACAACAGAATCAATACCCCACTAGAAGAGGAGGAAGGGGGCGAAGAGCCAATCAC  
 CTATGTGGTCATAAGGGGATTACAAGAAGAAAGATACGCCAGCCATCTTAACTAAATGACTGGA  
 TCAGTGAACATTTTCAGAGCCACACAGAGTCCAAATTATGCTAGATGGGACAGTGAGAGTCACA  
 AATAAAGAGGGCAAAGTGAACATTTGTTTGGGGTCTATAGAATAGAAAACCTCCCTGGAAGCAAT  
 40 GTTTAAAGAGACCATAGCTGACCTCCCCGTAGCTACCCAACCGCCCCAGGGGCCAGTCTATACG  
 GCTAAAGAGCTGGCCCAAGGGAACATCGCCCCGGTCCAACCTGCAGCGAATTATTACGGAATGA  
 TAGAGGGGAGAGGGCACCATGACGGCATTTCGAAGCCTTATCAGTCTTGCAGTACAAAAAGT  
 CTTAGCCAAGGACGTGAAGGTGAACACCCGCAGGGCGCAGGTTTTTTTTAAATAAAGTCAGGAGA  
 ATTGCTGAGGTGAGAGCGTCGGAACCTGACATTAATGCTTACCGATACTTGGCAAAGTAAATGG  
 45 GAGGAAATTGATTAGAGAGGAAACCAACATCCCCAACCAAGGTTGGCATCAATAATGACCTCAA  
 TAGGAATTAGACTAGAAAACTGCCAGTGGTTAGAGCAAACACTTCCGGCTCTAAGTTCAGACAG  
 TCAATCTTAGAAAAAATGGATAAGTATGAAAATGAACAAGTCCCAGGGTTACATGAAAAGATGTG  
 GGCAGCGTTCCTGGCAACTGCCAGGCAAGATTTAAGAAAATACCTATGAGGAAGTAACCTTATCTG  
 AATTAGAGGCCGGAATCAATCGGAAAGGAGCCCCAGGTTTCTTTGAAAAGAAAGCTCAATAGGA  
 50 GAAGTGTGGAAGAAAAAAGAAAAAATTGACGTCACAATCCAAGAGATTGAAAAGGCAACCACTT  
 ATACTATGAAACAGCCATGCCAAAAAATGAGAAAAGAGATGTGCTTGTGATTGGTTGTGAGAGG  
 ATTTCTGCACTTATAAGAAACCAGTGTGATACAGTACCCTGAGGCAGTACCCCGTTGGCCATC  
 ACCAAAAAATGTATAAGTGGGTGAAGCAAAAGCCTATAGTATTCCCGGTTATGAGGGAAAAAC  
 CCCGATCTTTGAAATATTTGAAAAAGTCAAGTGCAGATTGGGCTCAGTTCAAAAATCCGGTAGCCG  
 55 TCAGCTTCGACACCAGAGCCTGGGACACTCAAGTAACAAGAGAAGACCTCAGGCTGGTAGGGC  
 GGATACAGAAATACTATTACAAAAAATAATTGGAAGTTTATTGACAATTTGACAGCCATGATGG  
 AGGAAGTGCCTGTAATCACTGTAGAAGGAGATATGTTCTCAGAGTTGGACAGCAGCGGATCCGG  
 ACAGCTGTACTCAGCAGGCAATTCCATGCTAAATGTGCTGACTATGTTGGTAGCTTTCTCTG  
 AATCCACAATCTGCCCATAGCCGGTGCCTGGAAGGCCTGTGCGATCCACGTCTGTGGTGCAGCA  
 60 CGGTTTCTTAATCACAGAATCGGAATTAGGGAGGAAGTTTGTGAAAAGGTGTTCTCTGTTAG

CTGCATTTGGCAAACCCCAAAAAATTACAGAGGGGAGCGAGCCTAAAGGTAACCAGCAACTTTGAC  
 GGAATAGAGTTTTGTAGTCATACCCCTATCAGAGTCCAAACACCAAACATCAGGTGGATGCCAGC  
 GAGACCAACAGCAACAATCCTAGGCAAAATGAGTACCAGGCTGGGTGAGGGTGCCACCAGGTC  
 5 GGGAGAAGAATACGAAAAACAGGTGGCATTTCGCATATCTACTGATGTACCCCTGGAACCCGCTG  
 GTCAGGAGAATCAGCCTCCTATTGTTATCGACTACTGACCCAATGGGGAAAGAGGAAACCCCAT  
 GCTCCGATGAGGGGGTGAAGTATGTTGGGGACCCTATCGCTGCATACAGGGATGTATGGGGGC  
 ACAAATTAGAGGATGTAGGCCATGTTGATCAACCGCAGTTATCCCGGATGAAGTATAGCATGACT  
 TACTTAGGGATTTGGAACCAAAGACAAGTCAGCGGCTAGTCGAACAGTGTGTGCTGCTGGCCG  
 10 AGAAAAGCAATTGTGTGGTACGTGCTGACTCCCTGATAAAGAAAAAGGTCAAGATCACTTATGAC  
 CCGGGGATAGGAGTGGCTCAGGTCATTTCGTAGGTGGGAAGAGCTTGAGTGGACCAGAAGGAAA  
 CCTGAACCTACCAATGTAATTGTAGAAGATGATATCTTCCTAGTCCTGTGGAAGAGATTTTCAAAG  
 TACATTTTTTCAGAAAATGAAGTTCATGCAGAGAATGTTCCGCCCTTATTAAGTGGGGGGCACTCA  
 TTTAAATTATAACCAAGTACTGGTAAGTATAAGATTTGTGTAATAAAGTATATAACTGAAAGGGC  
 AAGTGGCCGTATAGGCTGGGGTATCGCCGCACCCCCCTTCACTAGGCGCCTCAACCCCAT  
 15 GTACCATGGGGTTGTTGTAATACTTGAATGAATGGAGTAATACGGGTAACAACTTATAGGCCA  
 GTATTGCCCATTTGCTTTATAGTGGTGACGACCTGTATAGGTCCGATCTGATATC (SEQ ID  
 NO:1)

MEKQIAYYLKKEKQRNGWTELVVGESHTKITLSTGKTYRGTWEMEKRPNPYGYLPRPSPQQLT  
 ALHPPVNVCKVVEYKEMDPNYGDCPNTNGVVFVDEKGRRLSSPPLGIWKIRLDYSDLVNISRPTPAS  
 20 GKNSYQVETCSGELATVTLVHNRVLVEDCRGLYQWKPNCEGIVLYVKTCSDWADQVEKQEKESPPK  
 PQRPPRRDPRKGLQPQVPKETEVTEKKRQPSVTLVSGGQKAQVIYKGRTKNKKTPDGVYRYPGAKE  
 GDVVKVRKMLKNWHIALVMYLIHIITPGLAKVQWFLKDNSTGINQILWQRQINRSLHGEWPNQICHG  
 MPNETITDEELRSLGMVDTSRPTNYTCCQLQYHEWKKHGWCNYPQKQAWITRITALQANLTGPYEG  
 25 PECAVICRFNGSYNIVKQARDEVSPLTGCKEGHPFLFSGERSDTSCLRPPSTSWVRPVKMDEASMA  
 DGFAGHVDKAIILIRKGASGIINFLDTIGRWLPVAEATIVPYCDTYTVTGMVYVHKNCLPRGLPKHSKIIS  
 PTMIYLGEGDPAHNIQHLFGSGIAKWVLLGILGEWYGELESTIYLLLEYGSEWLEHESLVTEGLIPGI  
 NITIELPASHTVPGWVWVAGQWVCVKPDWWPTQIWIETVVAETWHILKILASALVNIVAAFNLELVYL  
 VIILVKISKGNLIGAILWCLLLSGAEGSCYKRQDYNTQLVVEEKTGVEKRSIMGKWTVITREGREPL  
 30 MEQINMVLNDSLSEYCYNRLNTSTWGRQPARQRGCGQTVPYWPGDNVLEEQQYYSTGYWVNVTG  
 GCQLREGVWLSRKGNVQCQRNGSSLMLQLAIKEENDTMEIPCDPVETESMGPVAQGTGVYSWAF  
 PRGWYYNRKDGWLYQYIKNDYQYWTMPTASSAATMYRHLLPLLVAACLMGGRISVWFVAMLLSLQ  
 VEASEVGTKQLAVTLTLWKMDWTELLFYIVLMLAVKEELIKKIVTASLVALKNPVALSFLIVLRLVGG  
 EALPVGLLLEKMCIDQPEFGTFLIYLWLNWKTWLVVFSALNHEKTIKLARKLLATHITALTLGLSD  
 35 SIFYMMLITNLLIKTFIYLLGASMNWVEREKKLLVKRRLIYKAVTCSQDENVLENKFNKITVNAADFTP  
 CKLELLQLLRAFLVSLCFYSYKPLLYAETTLTVIVIGVQEVNVMARGRSVVHRLAMAYIYGRIQGD  
 MFQLATIQCLLSSPRKIMKHMVENPTLKKLWQGETELFNQGVQSQKIVNPKKIGLEELHKGMCGLPTV  
 VQNLVIYAKKNDLILGELGYPPGDLTSDGWEILGPGRIPKITNVESAKMDLLSKLMTFLGISSRVPRT  
 PVHSTRKLLKIVRGLTGWGYTHAGGISSAKHVTGKLNLMTHMEGRKGYILQSQEHGADEVEYGVK  
 TDQKAPDNALCYCFNPEATNIKGETGAMVFMKKIGKKWTLVTSNGNKAYYVNVNKLKGSGLPIMLHS  
 40 TGAIVGRIKSAYSDENDLVEELIDSRITISKSNETNLDHLIKELADMRRGEFRSITLGTGAGKTTELPRQY  
 LTTVGAHKSVLVPLKAPAESVCRFMRSKYPTINFLSLRVGERKEGDVSSGITYATYGFCCQLNLVQL  
 KEWISRYSMVFFDEYHTATPEQIAIISKIHALKVKTRIVAMSATPPGTVTTEGRKFDIEEVGVATIEKGE  
 PKRGRIAVAGMQVPLEDLTGKNCLVFVATKEAAETEAKELRTRGINATYYYSGIDPKTLEHGMTNQPY  
 CIVATNAIESGITCPDLVDVIDTMQYKVVNFSKAMPLIVTSLVKKKITREEQQRKGRVGRQKKGKY  
 45 YPSGVVPPNGSKDLSYLILQAQYEVLEQVNITEYFIIMNEDWGLYDVDEVEVRILERMNKEILLPLGIV  
 EKQILERSTHPEKVALLYNKLVQKNPIVYPRVQEGEVSKEYNTYNLAVYDKLKDVPNPQAIYVLAEEERA  
 TEMMGLEFEQDPSDLQDSVVQLCEDIKRYTKLSGITEKLLVGTVMVGYIGYKALTRNHVPWVSKEYCY  
 ELTDSPDTEYNSFAPLDVDVQNSGEGKHPEQLADHQLRQLLETGRDKAIDFLKGIREFTSGAINSPKA  
 LSIWEKIYQYLKHKHGEIISAAWGSATALHDSIKSRLGDEVATAVILKYLAFGEREGLSTRQVLIDIIV  
 50 YYIVNKPRFEGDDYAKRKGRRLVIEVLMGALATYAVSNFWGVSINKILQIPSDYLPYATATLAFLRPTF  
 MESAVVVASSIYRAFLSIKHAENRSLVTQVASAALEVMGLTPVSAGLGVLLGLGLCVLHMNIDKNEEK  
 RTLILKMFVKNFIDQAALDELKLEPEKIILSLLEGIQTCTNPIRAIMILYRVYKGETFTEALSKMAGKSLI  
 VMVIVEFLELTGQTQGGYIDLSANLLTFLEKLLKMTNLAIGEARKVLLPIPYLYCETWQSDARIKAPES  
 YDQVVVECKCGASARYSFRDGVHEILEEKRTNWCKNFFLWGNPFHNPDPKRMTFYEGYQAKKCPVI  
 55 IIGEDITFGKYGIYKFGHRPDGGRLIRGTTATHISREELLEILTAPSQVAIGVKVLTDYCNQKGIIDRKL  
 VLEGDKIHFVKAHRGSKITDQLTIENLTDLGEIRDITWELYTTGGTCTVKGVSRLRSCAPGHRTKAMV  
 LCDCTDVLSPCYLINGRRPSPFDVAEGYECHHRKPRATYEDLEMEEILKRRVPVYDPLCLFDTDSKLL  
 PPDTYYLEEDQEDFEYALRCWGLGVYVADGPVTSPPDIRIHHSSVLLLLTPGVNSELPLQYIRCYPHQ  
 AEVDIYRSQLEEDTATEVEGSQEDGDEGMDAVIEDETSSTTESIPLEEEEGGEEPITYVYVIRG  
 60 LQEERYASHLKLNDWISENISEPHRVQIMLDGTVRVTIKEGKVKHLFGVYRIENSLEAMFKETIADLPVA

TQPPQGPVYTAKELAQGNIPVQPAANYYGMIIEGRGDPMTAFEALSVLRSQKVLAKDVKVNTRRRAQ  
 VFLNKVRRIAEVRASELTKLCLPILGKVNGRKLIREETNIPNQRASIMTSIGIRLEKLPVVRANTSGSKF  
 RQSILEKMDKYENEQVPLHEKMWAAFLATARQDLRNTYEEVTYLELEAGINRKGAPGFFEKESIG  
 EVLEKKEKIDVTIQEIEKGNHLYYETAMPKNEKRDVLDWLSDFVTYKKPRVQYPEAVTRLAITKIMY  
 5 KWVKQKPIVIPGYEGKTPIFEIFEKVSADWAQFKNPVAVSFDTRAWDTQVTRDLRLVGRIQKYYYKK  
 KYWKFIDNLTAMMEEVPVITVEGDMFLRVGQRGSGQPDTSAGNSMLNVLTMLVAFSESTNLPAAAAW  
 KACRIHVCGDDGFLITESELGRKFAEKGVPLLAAFGKPKKITEGASLKVTSNFDGIEFCSHTPIRVQTP  
 NIRWMPARPTATILGKMSTRLGEGATRSGEYEKQVAFAYLLMYPWNPLVRRISLLLLSTTDPMGKEE  
 10 TPCSDEGVKYVGDPIAAAYRDVWGHKLEDVGHVDQPQLSRMNYSMTYLGWPKPTSQRLVEQCCRL  
 AEKSNCVVRADSLIKKKVKITYDPGIGVAQVIRRWEELEWTRRKEPCLTNVIVEDDIFLVLWKRFSKYIFQ  
 KMKFMQRMFAPY (SEQ ID NO:2)

Даний винахід також забезпечує вектори та контагіозні молекулярні клони, що кодуєть такі білки пестивірусу, як Npro, капсид, Erns, E1, E2, NS2-3, хеліказу, NS4B, NS5A або РНК-залежну РНК-полімеразу (RdRp).

15 Npro: Ген, що кодує білок N-кінцеву протеазу (Npro), який складається зі 180 амінокислот; знаходиться у положеннях від 378 до 917 SEQ ID NO:1.

ATGGAAAAACAGATTGCATATTACTTAAAAAAGAAAAACAAAGAAATGGGTGGACGGAAGCTG  
 GTGGTAGGAGAAAGTCATACAAAAATAACCACGCTTTCTGGAAAGACCTATCGAGGCACCTGGG  
 AAATGGAGAAACGGCCAAATCCTTATGGAACCTATCTCCCCAGACCTAGTCCCCAACAGCTTACA  
 20 GCCCTACACCCCCACCCAGTGGTGAATTGTAAGGTGGTTGAGTACAAGGAGATGGACCCTAATT  
 ATGGTGATTGCCCAAATACGAACGGGGTGTGTTGACGAAAAGGGTAGAAGGCTGAGCAGCCC  
 TCCATTAGGCATTTGGAAGATAAGATTGACTATAGTGACTTGGTAAACATAAGCAGACCAACCC  
 CCGCTAGTGGGAAAACTCTTACCAAGTTGAGACCTGCAGTGGGGAGCTGGCTACAGTGACACT  
 GGTACACAATAGGGTGCTCGTGGAAGATTGCAGGGGGCTATACCAATGGAAACCCAACTGTGAA  
 25 GGAATTGTGCTCTATGTGAAAACCTTGT (SEQ ID NO:3)

MEKQIAYYLKKEKQRNGWTELVVGESHTKITLSGKTYRGTWEMEKRPNPYGTYLPRPSPQQLT  
 ALHPPVNVCKVVEYKEMDPNYGDCPNTNGVVFVDEKGRRLSSPPLGIWKIRLDYSDLVNISRPTPAS  
 GKNSYQVETCSGELATVTLVHNRVLVEDCRGLYQWKPNCGIVLYVKTC (SEQ ID NO:4)

30 Капсид: Ген, що кодує капсидний білок, який складається зі 111 амінокислот; знаходиться у положеннях від 918 до 1250 SEQ ID NO:1.

TCTGACTGGGCAGATCAGGTAGAAAAACAGGAGAAAGAAAGCCCCCAAACACAGCGGC  
 CACCAAGGCGAGACCCACGAAAAGGGTTACAACCACAAGTCCCCAAAGAGACTGAGGTACAGAGA  
 AAAGAAGAGACAACCTAGTGTACCTTAGTATCGGGGGGGCAGAAGGCCCAAGTCATCTACAAA  
 GGCAGGACCAAAAAACAAAAAGACCCCGGATGGAGTCTATAGATACCCAGGAGCTAAAGAAGGGG  
 35 ACGTAGTAAAGGTTCAGGAAGATGCTGAAGAATTGGCATATAGCCTTAGTGATGTACCTGATACAT  
 ATCATAACTCCAGGC (SEQ ID NO:5)

SDWADQVEKQEKESPPKPQRPPRRDPRKGLQPQVPKETEVTCKRQPSVTLVSGGQKAQVIYK  
 GRTKNKTPDGVYRYPGAKEGDVVKVRKMLKNWHIALVMYLIHIITPG (SEQ ID NO:6)

40 Erns: Ген, що кодує суперкапсидний білок Erns, який складається з 209 амінокислот; знаходиться у положеннях від 1251 до 1877 SEQ ID NO:1.

CTTGCCAAGGTCCAGTGGTTCTTAAAAGATGAAAACCTCGACGGGGATCAACCAGATACTGTG  
 GCAAAGACAGATCAACAGATCCTTACATGGAGAATGGCCTAACCAGATCTGCCACGGTATGCC  
 AATGAAACTATCACGGATGAGGAATTACGCAGTCTGGGAATGGTAGATACAAGCCCTAGAACAAA  
 45 CTACACCTGTTGCCAGTTGCAATATCATGAGTGGAAGAACATGGTTGGTGAACCTATCCACAAA  
 AACAGGCGTGGATCACGAGGATAACGGCCCTACAAGCTAACCTTACCGGGCCTTATGAGGGACC  
 TGAGTGCGCCGTATCTGCCGATTTAACGGCAGCTACAACATCGTAAAACAGGCCAGAGATGAG  
 GTGAGTCCACTGACAGGGTGCAAGGAAGGGCATCCTTTTCTATTCTCTGGTAAAAGATCCGACA  
 CCTCATGCCTAAGGCCCTTCCACTAGTTGGGTAAGACCAGTGAAAATGGACGAGGCATCAAT  
 GGCCGATGGCTTTGCCCATGGGGTTGATAAGGCGATAATACTAATCAGGAAGGGGGCATCAGGA  
 50 ATAATCAATTTCTAGACACTATTGGGAGGTGGCTACCGGTAGCTGAAGCA (SEQ ID NO:7)

LAKVQWFLKDENSTGINQILWQRQINRSLHGEWPNQICHGMPNETITDEELRSLGMVDTSPRTNY  
 TCCQLQYHEWKKHGWCNYPQKQAWITRITALQANLTGPYEGPECAVICRFNGSYNIVKQARDEVSP  
 TGCKEGHPFLFSGERSDTSCLRPPSTSWVRPVKMDDEASMDGFAHGVDKAIILIRKASGIINFLDTIG  
 RWLPVAEA (SEQ ID NO:8)

55 E1: Ген, що кодує суперкапсидний білок E1, який складається з 200 амінокислот; знаходиться у положеннях від 1878 до 2477 SEQ ID NO:1.

ACTATAGTACCATATTGTGATACTTACTGTGACAGGGATGTATGTCCATGTAAGAATTGC  
 CTCCTAGAGGGTTACCTAAGCATTCAAAAATAATCTCCCCGACAATGATATATCTGGGAGAAGG  
 AGACCCGGCCATAATATCCAGCACTTATTTGGCTCAGGTATAGCAAAGTGGGTCTAGTTCTAC  
 60 TCGGATTCTGGGTGAGTGGTATGGAGAATTGGCTTCCACAATATACTTACTACTAGAATACGGG

TCTGAGTGGTTGGAACATGAAAGCCTGGTCACGGAAGGGTTGATTCCTGGCATTAAATATTACAAT  
 AGAACTCCCAGCTAGTCATACAGTGCCTGGTTGGGTGTGGGTGCGCAGGCCAGTGGGTATGCGT  
 GAAGCCAGACTGGTGGCCTACACAGATTTGGATTGAAACCGTGGTGGCAGAGACCTGGCATATA  
 CTA AAAAATATTGGCGTCAGCCCTGGTGAACATAGTTGCAGCGTTCGTA AACCTGGAATTGGTTTA  
 5 TCTGGTCATAATACTAGTCAAAAATATCAAAAGGGAACCTGATAGGTGCCATATTATGGTGCTTGT  
 ACTGTCAGGCGCTGAAGGC (SEQ ID NO:9)

TIVPYCDTYTVTGMYVHVKNCLPRGLPKHSKIISPTMIYLGEGDPAHNIQHILFGSGIAKWVLLGLI  
 LGEWYGELASTIYLLLEYGSEWLEHESLVTEGLIPGINITIELPASHTVPGWVWVAGQWVCVKPDWW  
 PTQIWIETVVAETWHILKILASALVNIVAAFVNLELVYLVIILVKISKGNLIGAILWCLLLSGAEG (SEQ ID  
 10 NO:10)

E2: Ген, що кодує суперкапсидний білок E2, який складається з 372 амінокислот;  
 знаходиться у положеннях від 2478 до 3593 SEQ ID NO:1.

TCGTGCTACAAAAGACAAGACTATTACAACACCCAACCTAGTCGTGAAGAAAAACAGGCGTA  
 GAAAAACGATCTATAATGGGCAAGTGGACCGTGATAACCAGGGAAGGTGCGGAGCCAAGATTAA  
 15 TGGAGCAAATAAATATGGTATTGAATGATAGCCTGTCAGAAACCTACTGCTATAATAGGCTAAACA  
 CCAGCACTTGGGGGCGGCAACCGGCAAGACAAAGAGGGTGTGGTCAAACCGTGCCCTATTGGC  
 CTGGTGACAATGTTCTAGAAGAACAATACTACAGCACAGGTTACTGGGTGAATGTAACAGGCGGT  
 TGCCAGCTGAGAGAAGGCGTATGGCTATCAAGAAAGGGTAACGTACAGTGTACAGCGTAACGGCT  
 CATCCTTGATGCTGCAATTGGCGATAAAAGAAGAGAATGACACTATGGAAATACCATGTGACCCA  
 20 GTGGAAACTGAAAGTATGGGTCCAGTTGCACAGGGCACTTGTGTGTACAGCTGGGCATTCGCC  
 CAAGAGGGTGGTACTATAACAGGAAGGATGGTTATTGGCTCCAGTACATAAAGAAAAACGACTAC  
 CAGTATTGGACAAAAATGCCTACTGCCTCGTCCGCCGCAACCATGTACCGCCACTTGCTCCCCTT  
 ACTGGTGGCCTGCCTCATGGGCGGTAGGATATCGGTGTGGTTTGTGGCAATGCTCCTGTCTCTA  
 CAGGTGGAAGCTAGTGAAGTAGGCACTAAACAACCTGGCTGTCACGCTAACCCCTGTGGA AAATGG  
 25 ACTGGACAGA ACTACTTTTCTATATTGTCTTGATGCTAGCCGTTAAGGAAGAACTTATAAAAAAAA  
 TTGTGACCGCTAGCCTTGTGGCCTTAAAAAATAGTCCAGTAGCCTTGAGTTTTCTTATTGTA  
 GACTTGTGGGGGGCAGTGAAGCACTCCCAGTAGGTTTATTATTAGAAAAATGTGCATAGACCAA  
 CCGGAGTTTGGAACTCCTTCTGATCTACCTATGGGACAACCTGGAAGTGGACTGTGTTAGTCAG  
 CTTCTCCGCACTGAACCATGAAAAACTATAAACTGGCAAGAAAACTGTTGTTGGCAACACATAT  
 30 AACAGCGCTCACATTG (SEQ ID NO:11)

SCYKRQDYNTQLVVEEKTGVEKRSIMGKWTVITREGREPRIMEQINMVLNDSLSEYCYNRLN  
 TSTWGRQPARQRGCGQTPYWPQDNVLEEYQYSTGYWVNVTTGGCQLREGVWLSRKGNVQCQRN  
 GSSLMLQLAIKEENDTMEIPCDPVETESMGPVAQGTVCVYSWAFAPRGWYYNRKGDYWLQYIKKNDY  
 QYWTKMPTASSAATMYRHLLPLLVA CLMGGRRISVWFVAMLLSLQVEASEVGTKQLAVTLTLWKMDW  
 35 TELLFYIVLMLAVKEELIKKIVTASLVALKNSPVALSFLIVLRVGGSEALPVGLLLEKMCIDQPEFGTPFL  
 IYLDWNWKWTVLVSFALNHEKTIKLARKLLLATHITALTL (SEQ ID NO:12)

NS2-3: Ген, що кодує неструктурний білок NS2-3, який складається з 934 амінокислот;  
 знаходиться у положеннях від 3594 до 6395 SEQ ID NO:1.

ACTGGCTTGAGTGATTCAATCTTCTATATGATGCTTATAACAACA AATTTGTTAATAAAGACATT  
 40 CATATACTTGCTGGGGGCTAGTATGAATTGGGTGCGAGAGAGAAAAAAGAAATTGCTAGTGAAGA  
 GGAGACTAATATACAAGAAAGCCGTTACTTGCAGTCAGGATGAGAATGTATTGGAGAATAAATTC  
 AACAAGATAACTGTAAACGCGGATTTACCCCATGCAAGCTTGAACCTTCTACAATTACTTAGGGCT  
 TTTTATGCTCTTTGTGTTTTCTACTACAAACCTCTCCTGTATGCAGAGACTACCTTAACTGTAA  
 45 TAGTAATTGGCGTACAAGAGTACAACGTAGCCATGGCCCGCGGGCGAAGTGTGGTCCACAGGCT  
 ACTAGCCATGGCCTATTACATATACGGCCGCATACAGGGTGACATGTTCCAGCTCGCCACTATCC  
 AGTGCCTGCTGTGCGAGTCCGAGGAAAATTATGAAACACATGGTAGAGAATCCAACCTCTCAAGAAG  
 CTCTGGCAAGGCGAAACAGA ACTCTTCAACCAGGGTGTTAGTCAATCCAAGATAGTGAATCCAAA  
 GAAAATTGGGCTGGAAGAATTACACAAGGGCATGTGTGGCCTCCCAACAGTAGTGCAAAATTTG  
 50 GTCATATATGCAAGAAGAATGACTCTTATTTTAGGAGAGCTGGGTTACCCCCCTGGGGATCT  
 CACCAGTGATGGGTGGGAAATTTAGGTCTGGCAGAATCCCAAAGATCACTAACGTGCGAGTCT  
 GCTAAGATGGACTTACTCTCAAACCTTATGACCTTTCTGGGGATTGAAAGCTCGAGGGTCCCCAG  
 GACCCAGTCCACTCAACAAGGAAATTATTGAAGATAGTAAGGGGCTTGGAAACAGGATGGGGG  
 TACACTCACGCAGGGGGGATAAGTAGCGCAAAACACGTTACAGGTGAAAAGAACTTAATGACCC  
 55 ACATGGAGGGTAGGAAGGGAAAATATATCCTACAATCTCAAGAACATGGTGTGCTGACGAGGTAGA  
 GTACGGAGTAAAACTGATCAAAAAGCTCCCGACAATGCCTTATGCTACTGTTTTAACCCCTGAAG  
 CTACAAACATAAAAGGAGAGACGGGAGCCATGGTGTTCATGAAGAAGATAGGAAAAAAGTGGAC  
 TCTCGTAACATCAGACGGCAATAAAGCCTATTATAATGTAACAATTTGAAAGGGTGGTCTGGACT  
 ACCAATAATGCTGCACTCCACCGGGCCATAGTGGGGAGGATTAATCAGCGTATTCAGATTGAA  
 AACGACCTGGTGGAGGA ACTTATTGACTCTAGAACTATTAGTAAGCAATGAGACAAACCTGGA  
 60 CCACCTTATCAAGGAATTGGCAGACATGCGGAGGGGGGAGTTCCGCTCAATTACCCTTGGAACG

GGAGCCGGGAAAACACAGAAGCTGCCTAGGCAATACCTCACAACAGTAGGTGCCATAAATCCG  
 TGCTGGTCTTAGTCCCCTTAAAAGCACCTGCTGAAAGTGTGGCCGCTTTATGAGGTCTAAATAC  
 CCTACCATCAACTTTTCTTAAAGAGTGGGGGAACGGAAAGAGGGAGATGTGAGCAGCGGCATCA  
 CCTACGCTACTTACGGATTTTGCTGCCAGCTAAACCTAGTCCAACCTAAAGAATGGATATCCAGG  
 5 TACTCAATGGTTTTTTTTGATGAATATCACACAGCAACTCCAGAACAATAGCCATAATAAGCAAG  
 ATTCATGCACTGAAAGTTAAGACCAGGATAGTGGCTATGTCAGCAACCCCCCGGGTACCGTGA  
 CGACTGAAGGCAGGAAGTTTGACATTGAAGAGGTAGGGGTTGCTACCATAGAGAAAGGAGAGGA  
 ACCAAAAAGGGGGCGCATAGCGGTGCTGGTATGCAGGTCCCATTAGAAGACTTAACAGGAAAG  
 AACTGCCTGGTGTTCGTGGCAACCAAGAAGCCGCGGAGACGGAGGCTAAAGAAGTGCACACC  
 10 AGAGGAATTAACGCCACCTACTACTATTCAGGTATAGACCCTAAGACTCTGGAACATGGGATGAC  
 CAATCAGCCATACTGATTGTAGCTACCAATGCCATTGAATCAGGTATAACCTGTCCTGACTTGGA  
 TGTGGTCATAGACACCATGCAGAAGTACGAAAAGTAGTGAATTTCTCGGCAAAGATGCCCTTGA  
 TTGTCACTTCATTAGTAAAGAAAAAATCACCAGGGAAGAACAGGGCCAGAGGAAAGGTCGAGT  
 GGGCAGGCAAAGAAAGGAAAATACTACTACCCTCGGGGGTGGTACCGAATGGGTCAAAGAC  
 15 CTAAGCTATTTAATCCTACAGGCCCAAGAATATGGTGTCTTGAACAAGTCAATATAACAGAGTAC  
 TTCATCATAATGAATGAGGACTGGGGTCTCTATGACGTAGATGAAGTAGAAGTGAGAATACTTGA  
 GAGAATGAACAAGGAAATCTTGCTACCACTAGGTATTGTGGAGAAGCAAATCTTGAAAGAAGTA  
 CTCACCCGGAAAAAGTGGCACTGTTGTATAACAAATTAGTGCAGAAAAATCCTATAGTATACCCTA  
 GAGTACAGGAAGGTGAGGTCAGCAAGGAATACAATACCTATAATCTGGCCGTATATGACAAGCTA  
 20 AAAGATGTCAACCCACAAGCCATTTATGTTCTAGCAGAAGAGGAGAGCCACAGAAATGATGG  
 GTCTCGAGTTTGAACAAGACCCATCTGACTTACAGGATTCGGTAGTTCAGCTTTGTGAAGATATC  
 AAGAGGTATACAAAACCTC (SEQ ID NO:13)

TGLSDSIFYMMLITNLLIKTFIYLLGASMNWVEREKKLLVKRRLIYKKAVTCSQDENVLENKFNKI  
 TVNADFTPCKLELLQLLRAFLVSLCFSYKPLLYAETTLTVIVIGVQEYNVAMARGRSVVHRLAMAYYI  
 25 YGRIQGD MFQLATIQLLSSPRKIMKHMVENPTLKKLWQGETELFNQGVVSQSKIVNPKKIGLEELHKG  
 MCGLPTVVQNLVIYAKKNDLILGELGYPPGDLTSDGWEILGPGRIPKITNVESAKMDLLSKLMTFLGIE  
 SSRVPRTPVHSTRKLLKIVRGLTGWGYTHAGGISSAKHVTGEKNLMTHEGRKGKYILQSQEHGAD  
 EVEYGVKTDQKAPDNALCYCFNPEATNIKGETGAMVFMKKIGKKWTLVTSNGNKAYNVNLLKGS  
 GLPIMLHSTGAIVGRIKSAYS DENDLVEELIDSRTISKSNETNLDHLIKELADMRRGEFRSITLGTGAGK  
 30 TTELPRQYLTTVGAHKS VLVPLKAPAESVCRFMR SKYPTINFSLRVGERKEGDVSSGITYATYGF  
 CQLNLVQLKEWISRYSMVFFDEYHTATPEQIAIISKIHALKVKTRIVAMSA TPPGTVTTEGRKFDIEEV  
 VATIEKGEEPKRGRIVAGMQVPLEDLTGKNCLVFVATKEAAETEAKELRTRGINATYYYSGIDPKTLE  
 HGMTNQPYCIVATNAIESGITCPDL DVVIDTMQKYEKVVNFSAKMPLIVTSLVKKKITREEQGRKGRV  
 GRQKKGKYYYYPSGVVPNGSKDLSYLILQAQEQVLEQVNITEYFIIMNEDWGLYDVDEVEVRILERMN  
 35 KEILLPLGIVEKQILERSTHPEKVALLYNKLVQKNPIVYPRVQEGEVSKEYNTYNLAVYDKLKD VNPQAI  
 YVLAEEERATEMMGLEFEQDPSDLQDSVVLCEDIKRYTKL (SEQ ID NO:14)

Хеліказа: Ген, що кодує білок хеліказу, який складається з 687 амінокислот; знаходиться у положеннях від 4335 до 6395 SEQ ID NO:1.

GGTCTGGCAGAATCCCAAAGATCACTAACGTGCGAGTCTGCTAAGATGGACTTACTCTCCAA  
 40 ACTTATGACCTTTCTGGGGATTGAAAGCTCGAGGGTCCCCAGGACCCAGTCCACTCAACAAGG  
 AAATTATTGAAGATAGTAAGGGGCTTGAAACAGGATGGGGGTACACTCACGCAGGGGGGATAA  
 GTAGCGCAAAACACGTTACAGGTGAAAAGAACTTAATGACCCACATGGAGGGTAGGAAGGGAAA  
 ATATATCCTACAATCTCAAGAACATGGTGTGCTGACGAGGTAGAGTACGGAGTAAAACTGATCAAA  
 AAGCTCCCGACAATGCCTTATGCTACTGTTTTAACCTGAAGCTACAAACATAAAAGGAGAGACG  
 45 GGAGCCATGGTGTTCATGAAGAAGATAGGAAAAAAGTGGACTCTCGTAACATCAGACGGCAATA  
 AAGCCTATTATAATGTAAACAATTTGAAAGGGTGGTCTGGACTACCAATAATGCTGCACTCCACC  
 GGGGCCATAGTGGGGAGGATTAATCAGCGTATTGAGATGAAAACGACCTGGTGGAGGAACCTTA  
 TTGACTCTAGAACTATTAGTAAGAGCAATGAGACAAACCTGGACCACCTTATCAAGGAATTGGCA  
 GACATGCGGAGGGGGGAGTTCCGCTCAATTACCCTTGAACGGGAGCCGGGAAAACACAGAA  
 50 CTGCC TAGGCAATACCTCACAACAGTAGGTGCCATAAATCCGTGCTGGTCTTAGTCCCCTTAAA  
 AGCACCTGCTGAAAGTGTGGCCGCTTTATGAGGTCTAAATACCCTACCATCAACTTTTCTTAAAG  
 AGTGGGGGAACGGAAAGAGGGGAGATGTGAGCAGCGGCATCACCTACGCTACTTACGGATTTTG  
 CTGCCAGCTAAACCTAGTCCAACCTAAAGAATGGATATCCAGGTA CTCAATGGTTTTTTTTGATGA  
 ATATCACACAGCAACTCCAGAACAATAGCCATAATAAGCAAGATTCATGCACTGAAAGTTAAGAC  
 55 CAGGATAGTGGCTATGTCAGCAACCCCCCGGGTACCGTGACGACTGAAGGCAGGAAGTTTGA  
 CATTGAAGAGGTAGGGGTTGCTACCATAGAGAAAGGAGAGGAACCAAAAAGGGGGCGCATAGC  
 GGTGCTGGTATGCAGGTCCCATTAGAAGACTTAACAGGAAAGAAGTGCCTGGTGTTCGTGGCA  
 ACCAAAGAAGCCGCGGAGACGGAGGCTAAAGAAGTGCACCCAGAGGAATTAACGCCACCTAC  
 TACTATTGAGGTATAGACCCTAAGACTCTGGAACATGGGATGACCAATCAGCCATACTGTATTGT  
 60 AGCTACCAATGCCATTGAATCAGGTATAACCTGTCCTGACTTGGATGTGGTCATAGACACCATGC

AGAAGTACGAAAAAGTAGTGAATTTCTCGGCAAAGATGCCCTTGATTGTCACTTCATTAGTAAAGA  
 AAAAAATCACCAGGGAAGAACAGGGGCCAGAGGAAAGGTCGAGTGGGCAGGCAAAGAAAGGAA  
 AATACTACTACCCCTCGGGGGTGGTACCGAATGGGTCAAAGACCTAAGCTATTTAATCCTACAG  
 5 GCCAAGAATATGGTGTCTTGGACAAGTCAATATAACAGAGTACTTCATCATAATGAATGAGGA  
 CTGGGGTCTCTATGACGTAGATGAAGTAGAAGTGAGAATACTTGAGAGAATGAACAAGGAAATCT  
 TGCTACCACTAGGTATTGTGGAGAAGCAAATCTTGGAAAGAAGTACTCACCCGAAAAAGTGGCA  
 CTGTTGTATAACAAATTAGTGCAGAAAAATCCTATAGTATACCCTAGAGTACAGGAAGGTGAGGT  
 CAGCAAGGAATACAATACCTATAATCTGGCCGTATATGACAAGCTAAAAGATGTCAACCCACAAG  
 CCATTTATGTTCTAGCAGAAGAGGAGAGGCCACAGAAATGATGGGTCTCGAGTTTGAACAAGAC  
 10 CCATCTGACTTACAGGATTCGGTAGTTCAGCTTTGTGAAGATATCAAGAGGTATACAAAACCTC  
 (SEQ ID NO:15)

GPGRIPKITNVESAKMDLLSKLMTFLGIESSRVPRTPVHSTRKLLKIVRGLTGWGYTHAGGISSA  
 KHVTGEKNLMTHEMEGRKGYILQSQEHGADEVEYGVKTDQKAPDNALCYCFNPEATNIKGETGAMV  
 FMKKIGKKWTLVTS DGNKAYYNNVNLKGSGLPIMLHSTGAIVGRIKSAYS DENDLVEELIDSRTISKS  
 15 NETNLDHLIKELADMRRGEFRSITLGTGAGKTTTELPRQYLTTVGAHKS VLVVPLKAPAESVCRFMRS  
 KYPTINFSLRVGERKEGDVSSGITYATYGFCCQLNLVQLKEWISRYSMVFFDEYHTATPEQIAIISKIHA  
 LKVKTRIVAMSATPPGTVTTEGRKFDIEEVGVATIEKGEERPGRGRIAVAGMQVPLEDLTGKNCLV FVAT  
 KEAAETEAKELRTRGINATYYYYSGIDPKTLEHGMTNQPYCIVATNAIESGITCPDLVDVIDTMQKYEKV  
 VNFSAKMPLIVTSLVKKKITREEQQRKGRVGRQKKGKYYYYPSGVVPNGSKDLSYLILQAQYEVLE  
 20 QVNITEYFIIMNEDWGLYDVDEVEVRILERMNEILLPLGIVEKQILERSTHPEKVALLYNKLVQKNPIVY  
 PRVQEGEVSKEYNTYNLAVYDKLKD VNPQAIYVLAEEERATEMMGLEFEQDPSDLQDSVVQLCEDIK  
 RYTKL (SEQ ID NO:16)

NS4B: Ген, що кодує неструктурний білок NS4B, який складається з 67 амінокислот;  
 знаходиться у положеннях від 6396 до 6596 SEQ ID NO:1.

25 TCTGGGATCACTGAGAAACTGCTAGTAGGTACGATGGTGGGGTATATTGGATACAAAGCCTT  
 AACCAGAAACCACGTGCCCTGGGTGAGCAAGAGTATTGTTATGAGCTGACCGATTACCCGGAT  
 ACTTACGAAAACCTCATTCCGACCTTTGGACGTGACGTCCAAAACCTCCGGTGAAGGAAAACACCC  
 AGAGCAACTG (SEQ ID NO:17)

30 SGITEKLLVGT MVGYIGYKALTRNHVPWVSKEYCYELT DSPDYENSFAPLDVDVQNSGEGKHP  
 EQL (SEQ ID NO:18)

NS5A: Ген, що кодує неструктурний білок NS5A, який складається з 811 амінокислот;  
 знаходиться у положеннях від 6597 до 9029 SEQ ID NO:1.

GCAGACCATCAATTGAGGCAACTACTGGAGACTGGGAGAGACAAGGCAATTGATTTCTAAA  
 35 AGGAATCCGCGAGTTCACTAGTGGGGCCATAAACAGTCCCAAAGGCACTAAGTATATGGGAGAAA  
 ATATATCAGTATTTGAAGAAGCATCAGGGCGAGATCATCTCATCAGCAGCGTGGGGCAGTGCGA  
 CGGCCCTTACAGACAGTATTAATCTAGACTAGGAGATGAGGTGCTACTGCAGTAATAATCCTC  
 AAGTATTTAGCATTTGGTGAAGAGA AACTGTCTGGGCTAACTAGGCAAGTTCTAATTGACATCATA  
 GTATATTATATAGTTAACAAAGCCCGGTTCTGAAGGAGACGACTACGCAAAGAGAAAAGGAAGAAG  
 40 GCTAGTCATCGAAGTCTGATGGGGGCACTGGCGACTTATGCGGTGTCCAATTTTTGGGGTGTG  
 TCCATTAATAAGATACTGCAACCAATTTCTGATTATCTACCCTATGCCACCGCCACTTTGGCTTTT  
 CTTCCGCCAACCTTCATGGAATCAGCAGTGGTGGTCTGCTTCTCTATCTATAGAGCTTTTCTCTC  
 CATTAAGCATGCGGAAAACAGGAGTCTTGTACGCAGGTGCTTCTGCCGCCCTCGAAGTCATG  
 GGCCTGACCCAGTATCGGCTGGCCTAGGCGTCTTGTCTGGGGCTTGGGTTGTGTGTGCTCCATA  
 TGAACATTGACAAGAATGAGGAGAAAAGGACACTTATACTGAAAATGTTTGTCAAAAACCTTTATAG  
 45 ACCAGGCGGCACTAGACGAGTTGGATAAACTGGAGCCAGAAAAAATAATCCTCTCATTGTTGGA  
 GGGTATCCAAACCTGCACAAACCCGATTAGAGCAATCATGATTTTGTACAGGGTGTACTACAAGG  
 GAGAACTTTACAGAAGCTTTGTCTAAGATGGCCGGCAAGTCTCTCATTGTGATGGTCATAGTC  
 GAGTTCCTGGAATTGACAGGCCAAACCCAAGGAGGGTATATAGATCTTAGTGCTAATTTGCTGAC  
 CTTTCTCCTCGAGAACTAAAAAAATGACTAACCTCGCCATCGGGGAAGCTAGAAAGGTCTTGC  
 50 TCCCCATCCATACTTGTACTGTGAAACCTGGCAGTCTGACGCCAGAATCAAGGCCCTGAATCC  
 TACGACCAAGTGGTAGTGAATGCAAATGTGGCGCTTCAGCGAGGTATTCCTTCCGCGATGGAG  
 TTCATGAGATATTGGAAGAAAAAAGGACTAATTGGTGAAGA ACTTCTTATGGGGACCCAAC  
 TTCCACAATCCGGATCCAAAAGGATGACATTCTATGAATACGGCCAAGCAAAAAGTGTCTGT  
 TATCATAATTGGTGAAGACATAACCTTCCGGCAAATATGGCATATATCAAATTTGGCCATAGGCC  
 55 TGATGGAGGGAGGTTAATAAGGGGTACCACCCACGCTACTATCAGTAGGGAGGAATTGCTGGAA  
 ATCCTAACAGCCCCAAGCCAAGTGGCCATAGGCAAGGTCAAGCTAACCGATTACTGTAATCAAAA  
 AGGAATAATAGACAGGAAATTTGGCCGTA CTTGAAGGTGACAAAATACATTTTTGGAAGCACACC  
 GTGGATCCAAAATCACAGACCAACTCACTATTGAGAATCTGACAGATGATTTGGGGT CAGAAAATC  
 AGGGACATCACATGGGAGCTGTACACAGGTGGAACGTGCACCGTAAAAGGGGTGTCCCTTAGAT  
 60 CATGCGCACCAAGGTCATAGAACTAAGGCTATGGTCTTGTGTGATTGCACTGATGTGCTTAGCCCC

TGTTACCTAATAAACGGCAGGAGACCATCCCCATTTGACGTGCGCGGAAGTTATGAATGTCACCA  
 CCGGAAGCCCCGAGCGACGTATGAAGACCTAGAAATGGAGGAAATACTAAAGAGACGAGTCCCT  
 GTCTACGATCCTCTGTGTTTGTGGACACTGATAGTAACTGCTACCTCCCGACACCTACTACTTG  
 GAAGAAGATCAAGAGGACTTTGAGTACGCATTGAGATGCTGGGGCCTCGGGGTTTATGTAGCAG  
 5 ACGGGCCTGTCACTTCCCCCGGACATAAGAATACACCATAGTTCGGTATTACTACTGCTGACA  
 CCTGGAGTAACTCAGAGTTGCCCTTACAGTACATACGTTGTTACCCTCATCAGGCAGAGGTGGA  
 CATCTACATTAGGAGTCAGCTTTTGGAGGAGGAAGACACTGCTACGGAGGTGGAAGGCTCCAG  
 GAAGATGGTGATGAAGGGATGGGCGATGCGGTAATAGAGGATGAGGATACATCGTCCACAACAG  
 AATCAATACCCCCACTAGAAGAGGAGGAAGGGGGCGAAGAGCCAATCACCTATGTGGTCATAAG  
 10 GGGATTACAAGAAGAAGATACGCCAGCCATCTTAAACTA (SEQ ID NO:19)  
 ADHQLRQLLETGRDKAIDFLKGIREFTSGAINSPKALSIWEEKIYQYLKHKHQGEIISSAAWGSATALH  
 DSIKRLGDEVATAVILKYLAFGERELSGLTRQVLDIIVYIVNKPRFEGDDYAKRKGRRLVIEVLMGA  
 LATYAVSNFVGSINKILQPIDYLPYATATLAFRLPTFMESAVVVASSIYRAFLSIKHAENRSLVTQVA  
 SAALEVMGLTPVSAGLVLLGLGLCVLHMNIDKNEEKRTLILKMFVKNFIDQAALDELKLEPEKIISLL  
 15 EGIQTCTNPIRAIMILYRVYKGETFTEALSKMAGKSLIVMVIVEFLELTGQTQGGYIDLSANLLTFLEK  
 LKKMTNLAIGEARKVLLPIPYLYCETWQSDARIKAPESYDQVVVECKCGASARYSFRDGVHEILEEKR  
 TNWCKNFFLWGNFHNPDPKRMTFYEYQAKKCPVIIIGEDITFGKYGIYKFGHRPDGGRLIRGTTTHA  
 TISREELLEILTAPSQVAIGKVKLTDYCNQKGIIDRKLAVLEGDKIHFWKAHRGSKITDQLTIENLTDGLG  
 SEIRDITWELYTGGTCTVKGVSLRSCAPGHRTKAMVLCDCDVLSPCYLINGRRPSPFDVAEGYECH  
 20 HRKPRATYEDLEMEEILKRRVPVYDPLCLFDTDSKLLPPDTYYLEEDQEDFEYALRCWGLGVYVADG  
 PVTSPDIRIHSSVLLLLTPGVNSELPLQYIRCYPHQAEVDIYRSQLEEDTATEVEGSQEDGDEG  
 MGDVIEDEDTSSTTESIPLEEEEGGEEPITYVVIRGLQEERYASHLKL (SEQ ID NO:20)  
 RdRp: Ген, що кодує РНК-залежну РНК-полімеразу, яка складається з 751 амінокислот;  
 знаходиться у положеннях від 9030 до 11285 SEQ ID NO:1.  
 25 AATGACTGGATCAGTGAAAACATTTGAGAGCCACACAGAGTCCAAATTATGCTAGATGGGACA  
 GTGAGAGTCACAATAAAAGAGGGCAAAGTGAACATTTGTTGGGGTCTATAGAATAGAAAACCTC  
 CCTGGAAGCAATGTTTAAAGAGACCATAGCTGACCTCCCCGTAGCTACCCAACCGCCCCAGGGG  
 CCAGTCTATACGGCTAAAGAGCTGGCCCAAGGGAACATCGCCCCGGTCCAACCTGCAGCGAATT  
 ATTACGGAATGATAGAGGGGAGAGGGCGACCCAATGACGGCATTGGAAGCCTTATCAGTCTTGCG  
 30 GTCACAAAAAGTCTTAGCCAAGGACGTGAAGGTGAACACCCGCGAGGGCGCAGGTTTTTTTAAATA  
 AAGTCAGGAGAATTGCTGAGGTCAGAGCGTCGGAACCTGACATTAATGCTTACCGATACTTGGC  
 AAAGTAAATGGGAGGAAATTGATTAGAGAGGAAACCAACATCCCCAACCAAGGTTGGCATCAAT  
 AATGACCTCAATAGGAATTAGACTAGAAAAACTGCCAGTGGTTAGAGCAAACACTTCCGGCTCTA  
 AGTTCAGACAGTCAATCTTAGAAAAAATGGATAAGTATGAAAAATGAACAAGTCCCAGGGTTACAT  
 35 GAAAAGATGTGGCAGCGTTCCTGGCAACTGCCAGGCAAGATTTAAGAAATACCTATGAGGAAG  
 TAACCTTATCTTGAATTAGAGGCGGAAATCAATCGGAAAGGAGCCCCAGGTTTCTTTGAAAAAGAA  
 AGCTCAATAGGAGAAGTGCTGGAAAAAAGAAAAAATTGACGTACAATCCAAGAGATTGAAAA  
 AGGCAACCACTTATACTATGAAACAGCCATGCCAAAAAATGAGAAAAGAGATGTGCTTGATGATT  
 GGTTGTGAGAGGATTTGCTCACTTATAAGAAACCACGTGTGATACAGTACCCTGAGGCAGTCACC  
 40 CGGTTGGCCATCACCAAAATAATGTATAAGTGGGTGAAGCAAAAGCCTATAGTGATTCCCGGTTA  
 TGAGGGAAAAACCCCGATCTTTGAAATATTTGAAAAAGTCAGTGCAGATTGGGCTCAGTTCAAAA  
 ATCCGGTAGCCGTCAGCTTCGACACCAGAGCCTGGGACACTCAAGTAACAAGAGAAGACCTCAG  
 GCTGGTAGGGCGGATACAGAAATACTATTACAAAAAATAATTGGAAGTTCATTGACAATTTGAC  
 AGCCATGATGGAGGAAGTGCCTGTAATCACTGTAGAAGGAGATATGTTCTCAGAGTTGGACAG  
 45 CGCGGATCCGGACAGCCTGATACCTCAGCAGGCAATTCCATGCTAAATGTGCTGACTATGTTGG  
 TAGCTTTCTCTGAATCCACAAATCTGCCATAGCGGCTGCCTGGAAGGCCTGTCCGATCCACGT  
 CTGTGGTGACGACGTTTCTTAATCACAGAATCGGAATTAGGGAGGAAGTTTCTGAAAAAGGTG  
 TTCTCTGTTAGCTGCATTTGGCAAACCCCAAAAAATTACAGAGGGAGCGAGCCTAAAGGTAACC  
 AGCAACTTTGACGGAATAGAGTTTTGTAGTCATACCCCTATCAGAGTCCAAACACCAACATCAG  
 50 GTGGATGCCAGCGAGACCAACAGCAACAATCCTAGGCAAAATGAGTACCAGGCTGGGTGAGGG  
 TGCCACCAGGTCGGGAGAAGAATACGAAAAACAGGTGGCATTGCGATATCTACTGATGTACCCC  
 TGGAACCCGCTGGTCAGGAGAATCAGCCTCCTATTGTTATCGACTACTGACCCAATGGGGAAAG  
 AGGAAACCCCATGCTCCGATGAGGGGGTGAAGTATGTTGGGGACCCTATCGCTGCATACAGGG  
 ATGTATGGGGGCACAAATTAGAGGATGTAGGCCATGTTGATCAACCGCAGTTATCCCGGATGAA  
 55 CTATAGCATGACTTACTTAGGGATTTGAAACCAAAAGACAAGTCAGCGGCTAGTGAACAGTGTT  
 GTCGTCTGGCCGAGAAAAGCAATTGTGTGGTACGTGCTGACTCCCTGATAAAGAAAAAGGTCAA  
 GATCACTTATGACCCGGGGATAGGAGTGGCTCAGGTCATTTCGTAGGTGGGAAGAGCTTGAGTGG  
 ACCAGAAGTAAACCTGAACTCACCAATGTAATTGTAGAAGATGATATCTTCTAGTCTGTGGAA  
 GAGATTTTCAAAGTACATTTTTCAGAAAATGAAGTTCATGCAGAGAATGTTCCGCCCTTATTA  
 60 (SEQ ID NO:21)

NDWISENISEPHRVQIMLDGTVRVTIKEGKVKHLFGVYRIENSLEAMFKETIADLPVATQPPQGPV  
 YTAKELAQGNIAPVQPAANYYGMI EGRGDPMTAFEALSVLRSQKVLAKDVKNTRRAQVFLNKVRRRI  
 AEVRASELTLKCLPILGKVNGRKLIREETNIPNQRASIMTSIGIRLEKLPVVRANTSGSKFRQSILEKMD  
 KYENEQVPGLHEKMWAFLATARQDLRNTYEEVTYLELEAGINRKGAPGFFEKESSIGEVLEKKEKID  
 5 VTIQEIEKGNHLYYETAMPKNEKRDVLDLWSEDFVTYKKPRVIQYPEAVTRLAITKIMYKWVKQKPIVI  
 PGYEGKTPIFEIFEKVSADWAQFKNPVAVSFDTRAWDTQVTREDLRLVGRIQKYYYYKKKYWKFDNLT  
 AMMEEVPVITVEGDMFLRVGQRGSGQPDT SAGNSMLNVL TMLVAFSESTNLP IAAAWKACRIHVCG  
 DDGFLITESELGRKFAEKGVPLLA AFGKPKITEGASLKVTSNFDGIEFC SHTPIRVQTPNIRWMPARP  
 TATILGKMSTRLGEGATRS GEEYEKQVAFAYLLMYPWNPLVRRISLLLLSTTDPMGKEETPCSDEGVK  
 10 YVGDPIAAAYRDVWGHKLEDVGHVDQPQLSRMNYSMTYLGWPKPKTSQRLVEQCCRLAEKSNCVVR  
 ADSLIKKKVKITYDPGIGVAQVIRRWEELEWTRRKPEL TNVIVEDDIFLVLWKRFSKYIFQKMKFMQRM  
 FAPY (SEQ ID NO:22)

В одному із варіантів виконання пестивірус згідно винаходу є мутантним пестивірусом, зокрема таким, що порівняно з геномом пестивірусу дикого типу включає мутацію в гені, що кодує білок вказаного вірусу.

У варіанті виконання, якому віддають перевагу, пестивірус згідно винаходу включає мутацію в гені, що кодує білки Npro, капсид, Erns, E1, E2, NS2-3, хеліказу, NS4B, NS5A або RdRp зазначеного вірусу. Таким чином, винахід переважно стосується пестивірусу, який виявляє знижену реплікативну здатність в результаті мутації гена, що кодує пестивірусний поліпротеїн, де згадана мутація більш бажано є такою мутацією, як вказано тут і далі.

Більш бажано мутація згідно наданого тут опису, включає або складається з однієї або більше точкових мутацій і/або однієї або більше геномних делецій і/або однієї або більше інсерцій.

Вжитий тут термін "імуногенні композиції" також позначає композицію, яка включає будь-який з описаних тут пестивірусних поліпротеїнів. Згідно подальшого варіанта виконання така імуногенна композиція додатково включає принаймні частину вірусного вектора, яка експресує зазначений пестивірусний поліпротеїн і конкретно білок E2, більш бажано рекомбінантного бакуловірусу. Більше того, імуногенна композиція може включати i) будь-який з описаних вище пестивірусних білків, більш бажано у вищезазначених концентраціях, ii) принаймні частину вірусного вектора, що експресує зазначений пестивірусний білок зі спрощених білків у поліпротеїні, більш бажано рекомбінантного бакуловірусу, та iii) частину супернатанту клітинної культури.

Згідно подальшого варіанту виконання даний винахід також стосується вектору, який включає будь-яку з таких молекул нуклеїнових кислот, як описано в цьому документі. Іншими словами, даний винахід стосується вектора, який містить кодуючу послідовність будь-якого подібного пестивірусного поліпротеїну або його частини. Більш бажано зазначений вектор є вектором експресії, який уможливорює експресію будь-якого такого пестивірусного поліпротеїну або частини протеїну. Вектори згідно винаходу є тими, що придатні для трансфекції або інфікування бактеріальних, дріжджових або тваринних клітин *in vitro* або *in vivo*.

Заявлені вакцини звичайно містять інтивовані або атенуйовані пестивіруси, скомбіновані з фармацевтично прийнятним носієм. Придатні для ін'єкційного застосування фармацевтичні форми зазвичай включають стерильні водні розчини (якщо водорозчинні) або дисперсії та стерильні порошки для приготування стерильних ін'єкційних розчинів або дисперсій безпосередньо перед прийомом. Бажано, щоб склад був стерильним і рідким до тієї міри, щоб уможливити легке проходження через голку шприца. Лікарська форма повинна бути стабільною в умовах виробництва і зберігання та звичайно консервується від контамінуючої дії мікроорганізмів, таких як бактерії та грибки. Носій може бути розчинником або дисперсійним середовищем та містити, наприклад, воду, етанол, поліол (наприклад, гліцерин, пропіленгліколь, рідкий пропіленгліколь і т.п.), їх придатні суміші та рослинні олії. Одним із можливих носіїв є фізіологічний сольовий розчин. Належна рідинність розчину може бути підтримана, наприклад, використанням покриття, такого як лецитин, підтриманням необхідного розміру частинок у випадку дисперсії та використанням поверхнево активних речовин. Попередження впливу мікроорганізмів можна здійснити за допомогою різноманітних антибактеріальних та протигрибкових агентів, наприклад, парабенів, хлорбутанолу, фенолу, сорбінової кислоти, тіомерсалу (натрію етилтрутьїосаліцилату), деоміцину, гентаміцину та подібних. У багатьох випадках перевагою може стати включення ізотонічних агентів, наприклад, цукрів чи хлориду натрію. Продовження абсорбції ін'єкційних композицій, якщо необхідно, можна досягти шляхом застосування в композиціях речовин, що затримують абсорбцію, наприклад, алюмінію моностеарату і желатину.

Об'єм однієї дози вакцини згідно винаходу може відрізнятися, однак в цілому знаходиться у

межах, які на даний час часто використовуються для звичайних вакцин. Об'єм однієї дози більш бажано становить від приблизно 0,1 мл до приблизно 3 мл, більш бажано від приблизно 0,2 мл до приблизно 1,5 мл, ще більш бажано від приблизно 0,2 мл до приблизно 0,5 мл, при вищезазначених концентраціях кон'югату і ад'юванту.

5 Вакцинні композиції згідно винаходу можуть бути введені будь-яким відомим зручним способом, напр., внутрішньом'язово, підшкірно, внутрішньовенно, перорально, внутрішньоартеріально, інтраназально (напр., з або без інгаляції), інтракардіально, інтраспінально, інтраторакально, інтраперитонеально, внутрішньошлуночково, сублінгвально, трансдермально і/або шляхом інгаляції.

10 Суб'єкт, якому вводять композицію, більш бажано являє собою тварину, включаючи, але не обмежуючись ними, свиней, корів, коней, овець, птицю (напр., курей), кіз, котів, собак, хом'яків, мишей та щурів. Найбільш бажано ссавець являє собою свиню, більш бажано свиноматку, свинку або порося. У деяких варіантах виконання свиноматка або свинка може бути вагітною.

15 Препарати згідно винаходу включають ефективну імунізуючу кількість однієї або більше імуногенних композицій та фізіологічно прийнятний носій. Вакцини включають ефективну імунізуючу кількість однієї або більше імуногенних композицій та фізіологічно прийнятний носій. Препарат повинен відповідати шляху введення.

20 Імуногенна композиція за бажанням може також містити малі кількості змочувальних агентів або емульгаторів, або ж буферних речовин. Імуногенна композиція може бути рідким розчином, суспензією, емульсією, таблеткою, пілюлею, капсулою, складом з уповільненим вивільненням або порошком. Пероральний препарат може включати стандартні носії, такі як фармацевтично чисті маніт, лактоза, крохмаль, магнію стеарат, натрію сахарин, целюлоза, магнію карбонат і т.д.

25 Шляхи введення, яким віддають перевагу, включають, але не обмежуються ними, інтраназальний, пероральний, внутрішньошкірний та внутрішньом'язовий. Бажано здійснюють внутрішньом'язове або внутрішньовагінальне введення, більш бажано однією дозою. Кваліфікованим спеціалістам зрозуміло, що композиції згідно винаходу можуть бути введені однією, двома або більше дозами, так само як і іншими шляхами введення. Наприклад, такі інші шляхи включають підшкірний, внутрішньошкірний, внутрішньовенний, внутрішньосудинний, внутрішньоартеріальний, інтраперитонеальний, інтратекальний, інтратрахеальний, внутрішньошкірний, інтракардіальний, інтралобулярний, інтрамедулярний або

30 внутрішньолегеневий. Залежно від бажаної тривалості та ефективності лікування композиції згідно винаходу можуть вводити один або декілька разів, а також періодично, наприклад, щоденно протягом кількох днів, тижнів або місяців, і у різних дозах.

35 Варіанти виконання винаходу також включають спосіб захисту поросяти проти хвороб, пов'язаних із пестивірусом, який включає введення вагітній свиноматці або свинці будь-якої з описаних тут атенуйованих вакцин. Наприклад, введена вакцина включає один або більше антигенів пестивірусу.

40 Таким чином, за одним з аспектів даний винахід стосується способу зменшення відсоткової частки пестивірусних інфекцій у стаді порослят, який включає введення вагітним свиноматкам або свинкам ефективної кількості інактивованого або атенуйованого пестивірусного антигену або імуногенної композиції, яка включає пестивірусний антиген, де пестивірусний антиген являє собою інактивований пестивірус, атенуйований пестивірус або субодичну вакцину.

45 В одному з варіантів виконання пестивірус згідно винаходу є будь-яким пестивірусом, що закодований або включає послідовність SEQ ID NO:1 або 2; послідовність якого принаймні на 99 % ідентична SEQ ID NO:1 або 2; і/або де пестивірус закодований у послідовності нуклеїнової кислоти, що принаймні на 90 % ідентична SEQ ID NO:1 або 2.

50 В іншому варіанті виконання спосіб включає введення вакцини, яка включає один або більше імуногенних компонентів, вибраних з групи, яка складається з пестивірусу, що закодований або включає послідовність SEQ ID NO:1; послідовність якого принаймні на 99 % ідентична SEQ ID NO:2; поліпротеїн якого кодується послідовностями нуклеїнової кислоти SEQ ID NO:1 або 2; і/або пестивірусний поліпротеїн якого кодується послідовністю нуклеїнової кислоти, яка принаймні на 90 % ідентична SEQ ID NO:1 або 2.

55 Описані тут сполуки можна вводити суб'єктові у терапевтично ефективних дозах для лікування захворювань, пов'язаних із пестивірусом. Доза залежатиме від організму-хазяїна, що приймає вакцину, а також таких факторів, як розмір, маса і вік організму-хазяїна.

60 Імуногенність композиції можна визначити відслідковуванням імунної відповіді тестових суб'єктів на імунізацію за допомогою композиції, користуючись будь-яким відомим імуноаналізом. Утворення гуморальної відповіді (антитіл) і/або клітинно-опосередкованого імунітету можна приймати як ознаку імунної відповіді. Тестові суб'єкти можуть включати тварин, таких як свині, миші, хом'яки, собаки, коти, кролі, корови, коні, вівці та птиця (напр., кури, качки,

гуси та індики).

Імунну відповідь тестових суб'єктів можна проаналізувати різними підходами, як-то: реактивність отриманої імунної сироватки з імуногенним кон'югатом, оцінена відомими методами, напр., твердофазним імуноферментним аналізом (ІФА), імуноблотами, імунопреципітаціями тощо; або захист імунізованих організмів від інфекції патогеном і/або полегшення симптомів інфекції патогеном у імунізованих організмів, оцінені будь-яким відомим методом для оцінки рівня інфекційного хвороботворного агента, напр., бактеріальних рівнів (напр., культивуванням взятого у суб'єкта зразка), або ж іншим відомим у галузі методом. Рівні інфекційного хвороботворного агента також можна визначити вимірюванням рівнів антигену, проти якого було спрямовано імуноглобулін. Зниження рівнів інфекційного хвороботворного агента або покращення симптомів інфекційної хвороби вказує на те, що композиція ефективна.

Терапевтичні засоби згідно винаходу можуть бути перевірені *in vitro* на бажану терапевтичну або профілактичну активність до використання *in vivo* на тваринах чи людях. Наприклад, аналізи *in vitro*, які можна використати для визначення того, чи показане введення конкретного терапевтичного засобу, включають *in vitro* аналізи на клітинних культурах, де належні клітини з клітинної лінії або клітини, культивовані від суб'єкта з конкретною хворобою або розладом, піддають дії або іншим чином вводять терапевтичний засіб і спостерігають дію терапевтичного засобу на клітини.

Альтернативно терапевтичний засіб можна оцінити контактуванням засобу з клітинами (культивованими від суб'єкта або з культурної лінії клітин), які сприйнятливі до інфекції інфекційним хвороботворним агентом, але не інфіковані інфекційним хвороботворним агентом, піддаванням клітин дії інфекційного хвороботворного агента і подальшим визначенням того, чи була частка зараження клітин, що контактували з терапевтичним засобом, меншою від частки зараження клітин, що не контактували з терапевтичним засобом. Зараження клітин інфекційним хвороботворним агентом можна оцінити будь-яким відомим методом.

Крім цього, терапевтичний засіб можна оцінити вимірюванням рівня молекули, проти якої спрямоване антитіло, на тваринній моделі або суб'єкті-людині через підходящі інтервали часу до, під час або після терапії. Будь-яка зміна або відсутність зміни у кількості молекули може бути ідентифікована і скорельована з ефектом лікування на суб'єкта. Рівень молекули можна оцінити будь-яким відомим методом.

Після вакцинації тварини пестивірусною вакциною або імуногенною композицією з використанням способів та композицій згідно даного винаходу можна застосувати будь-який відомий в галузі аналіз зв'язування, щоб оцінити зв'язування одержаних антитіл і конкретної молекули. Ці аналізи можна також проводити з метою відбору антитіл, які виявляють вищу афінність або специфічність до конкретного антигена.

Загалом атенуації вірусу можна досягти багаторазовим пасажуванням патогенних вірусних ізолятів на придатних клітинах хазяїна, які чутливі до вірусу, доки вірус не почне виявляти бажаних властивостей (WO 92/21375, WO 93/06211, WO93/03760, WO 93/07898, WO 96/36356, EP 0 676 467, EP 0 732 340, EP 0 835 930). Альтернативно її можна досягти генетичною інженерією з застосуванням інфекційноздатного клону, зазвичай повнорозмірного комплементарного транскрипту ДНК вірусного геному (WO 98/18933, EP 1 018 557, WO 03/062407, Nielsen та ін., J Virol 2003, 77:3702-3711). Додатково вірус можна пасажувати в неприродних фізіологічних умовах, які включають, але не обмежуються ними, змінену температуру, клітини відмінного від хазяїна виду, або у присутності мутагенів.

Винахід охоплює штами пестивірусу, які походять від штамів шляхом відтворення або розмноження та мають ідентичну або відмінну форму, зокрема, нащадки, які мають суттєві ознаки депонованих штамів. У процесі подальшого розмноження штами можуть набути мутацій, більшість яких не змінюватиме властивості цих штамів значною мірою.

В іншому аспекті даний винахід передбачає виготовлення та ізолювання потомства або нащадка пестивірусу SEQ ID NO:1 або 2. Тому винахід охоплює штами пестивірусу, які походять від ідентифікованих штамів шляхом відтворення або розмноження та мають ідентичну або відмінну форму, зокрема, нащадки, які мають суттєві ознаки ідентифікованих штамів. У процесі подальшого розмноження штами можуть набути мутацій, більшість яких не змінюватиме властивості цих штамів значною мірою.

Ізоляти згідно винаходу можна також додатково модифікувати з метою надання додаткових бажаних властивостей. Цього можна досягти класичними техніками розмноження і селекції, такими як продовження розмноження у придатних клітинах-хазяїнах для вираження атенуованого фенотипу. Альтернативно ізоляти можна модифікувати генетично спрямованою мутацією послідовності нуклеїнової кислоти геному цих штамів за допомогою придатних методів генетичної інженерії.

Рекомбінантні техніки для виготовлення модифікованих послідовностей добре відомі фахівцям у даній галузі і зазвичай включають побудову повнорозмірних комплементарних копій ДНК (інфекційноздатних клонів) вірусного геному, які потім можуть бути модифіковані методами рекомбінації і маніпуляції ДНК (напр., сайт-спрямований мутагенез і т.п.). Таким чином, наприклад, можуть бути модифіковані антигенні сайти або ферментативні властивості вірусних білків.

Більш бажано винахід охоплює пестивірусні послідовності нуклеїнових кислот, які принаймні на 95 % гомологічні послідовностям SEQ ID NO:1 або SEQ ID NO:2, оскільки ці віруси, імовірно, можуть бути ефективними при наданні імунітету тваринам, вакцинованим атенуйованими вірусами, що містять такі гомологічні послідовності. Послідовність, показана в SEQ ID NO:1 або 2, є повнорозмірною послідовністю атенуйованого пестивірусу, і повна довжина цієї послідовності становить приблизно 11 550 основ.

Пестивірусні штами згідно даного винаходу придатні для вирощування і виділення вакцин відомими в галузі методами, напр., розмноженням у придатних клітинах-хазяїнах.

Зокрема вакцина, як було вказано, є живою вакциною і/або модифікованою живою вакциною - атенуйованою вакциною. Штами пестивірусу згідно винаходу можуть бути вирощені і виділені відомими в галузі методами, напр., розмноженням у придатних клітинах. Модифіковані живі вакцини (МЖВ) зазвичай складають таким чином, щоб уможливити введення від  $10^1$  до  $10^7$  вірусних частинок на дозу, більш бажано від  $10^3$  до  $10^6$  частинок на дозу, і ще більш бажано від  $10^4$  до  $10^6$  частинок на дозу ( $4,0-6,0 \log_{10}$  ДКТ<sub>50</sub>).

Варіант виконання винаходу включає спосіб виготовлення пестивірусної вакцини, який включає: (а) інокуляцію клітин пестивірусом; (б) інкубацію інокульованих клітин; (с) виділення пестивірусу з інкубованих клітин. У варіанті виконання, якому віддають перевагу, спосіб включає пестивірус, який включає послідовність, що закодована або включає послідовність SEQ ID NO:1 або 2; послідовність, яка принаймні на 99 % ідентична SEQ ID NO:1 або 2; білок, який кодується послідовностями нуклеїнової кислоти SEQ ID NO:1; і/або поліпротеїн, який кодується послідовністю нуклеїнової кислоти, яка принаймні на 90 % ідентична SEQ ID NO:2. Спосіб може додатково включати додавання до пестивірусної вакцини ад'юванта, який більш бажано є ад'ювантом на основі емульсії типу олія-у-воді EMULSIGEN®.

Інший варіант виконання винаходу включає спосіб виготовлення рекомбінантної вакцини, який включає: експресію одного або більше антигенів пестивірусу в клітині-хазяїні; та виділення одного або більше антигенів пестивірусу з клітин. В одному з таких варіантів спосіб може включати один або більше антигенів, що включають ізольовану нуклеїнову кислоту, яка кодує антиген пестивірусного білка, де рекомбінантний пестивірусний поліпептид принаймні на 90 % гомологічний SEQ ID NO:1 або 2; вектор, який включає ізольовану нуклеїнову кислоту з а); рекомбінантний пестивірусний білок, кодований нуклеїновою кислотою з а); та будь-яку їх комбінацію. В одному прикладі виконання один або більше пестивірусних антигенів експресуються рекомбінантним бакуловірусним вектором. Спосіб може включати один або більше антигенів пестивірусу, експресованих у клітинах комах. Один із варіантів виконання додатково включає додавання до пестивірусної вакцини ад'юванта, де ад'ювант більш бажано є ад'ювантом на основі емульсії типу олія-у-воді EMULSIGEN®.

Антитіла або їх зв'язувальні ділянки, одержані при використанні пестивірусних пептидів згідно даного винаходу, корисні для виявлення присутності пестивірусу у зразку. Такий спосіб виявлення включає етапи забезпечення ізольованого антитіла або його зв'язувальної ділянки, індукованих пестивірусним пептидом згідно винаходу, додавання до ізольованого антитіла або його зв'язувальної ділянки зразка, в якому підозрюють наявність деякої кількості пестивірусу, і виявлення присутності комплексу, що включає ізольоване антитіло або його зв'язувальну ділянку, зв'язані з пестивірусом.

Антитіла або їх зв'язувальні ділянки згідно даного винаходу також корисні для виявлення у зразку присутності пестивірусного пептиду. Такий спосіб виявлення включає етапи забезпечення ізольованого антитіла або його зв'язувальної ділянки, індукованих пестивірусним пептидом, додавання до ізольованого антитіла або його зв'язувальної ділянки зразка, в якому підозрюють наявність деякої кількості пестивірусного пептиду, і виявлення присутності комплексу, що включає ізольоване антитіло або його зв'язувальну ділянку, зв'язані з пестивірусним пептидом.

Імуноглобуліни, зокрема антитіла (та їх функціонально активні фрагменти), які зв'язують конкретну молекулу, що є учасником пари зв'язування, можуть бути застосовані у діагностиці та прогнозуванні, як описано далі. У різних варіантах виконання даний винахід забезпечує вимірювання учасника пари зв'язування і застосування таких вимірювань у клініці. Імуноглобуліни згідно даного винаходу можуть бути застосовані, наприклад, для виявлення

антигена у біологічному зразку, де суб'єктів можуть перевіряти на аномальні рівні молекули, з якою зв'язується імуноглобулін, і/або на присутність аномальних форм таких молекул. Під "аномальними рівнями" слід розуміти підвищений або знижений відносно такого, що наявний, або стандартного, який відображає такий, що наявний у аналогічному зразку частини тіла суб'єкта, який не має захворювання. Антитіла згідно даного винаходу також можуть використовуватись як реагент у наборі для застосування у діагностичному або прогностичному методі.

В одному з аспектів антитіло за винаходом, яке імуноспецифічно зв'язується з пестивірусним пептидом, може бути використане для діагностики, прогнозування або скринінгу на пестивірусну інфекцію.

В іншому аспекті винахід забезпечує спосіб діагностики або скринінгу на присутність пестивірусної інфекції або імунітету до неї, який включає вимірювання у суб'єкта рівня імуноспецифічного зв'язування антитіла з одержаним від суб'єкта зразком, де антитіло імуноспецифічно зв'язується з пестивірусним пептидом, причому підвищення рівня зазначеного імуноспецифічного зв'язування відносно рівня зазначеного імуноспецифічного зв'язування в аналогічному зразку суб'єкта, в якого немає інфекційного хвороботворного агента, вказує на присутність пестивірусу.

Приклади придатних аналізів для виявлення присутності пестивірусних пептидів або їх антагоністів включають, але не обмежуються ними, ІФА, радіоімуноаналіз, аналіз реакції дифузної преципітації в гелі, імунодифузний аналіз, аналіз аглютинації, флуоресцентний імуноаналіз, імуноаналіз за протеїном А або імуноелектрофорез.

Імуноаналізи на конкретну молекулу звичайно включають інкубування зразка, такого як біологічна рідина, тканинний екстракт, свіжозібрані клітини або лізати культивованих клітин, у присутності міченого з можливістю виявлення антитіла та виявлення зв'язаного антитіла будь-яким методом з числа відомих в галузі.

Зв'язувальна активність конкретного антитіла може бути визначена добре відомими методами. Спеціалісти в галузі можуть визначити робочі й оптимальні умови аналізу для кожного визначення, застосувавши рутинні досліді.

Додатковий аспект даного винаходу полягає у діагностичних наборах для виявлення або вимірювання пестивірусу. Наданий набір для діагностичного застосування включає в одному або більше контейнерах антитіло до пестивірусного пептиду та необов'язково мічений партнер зв'язування для антитіла. Альтернативно антитіло до пестивірусного пептиду може бути мічене (міткою, що піддається виявленню, напр., хемілюмінесцентною, ферментною, флуоресцентною або радіоактивною групою). Відповідно даний винахід надає діагностичний набір, що включає антитіло до пестивірусного пептиду та контрольний імуноглобулін. У конкретному варіанті виконання одна із вищезазначених сполук в контейнері може бути мічена з можливістю виявлення. Набір може необов'язково додатково включати в контейнері попередньо визначену кількість пестивірусного пептиду, що розпізнається антитілом з набору, для застосування як стандарту або контролю.

Ще один варіант виконання винаходу включає набір для вакцинації вагітної свиноматки або свинки проти хвороб, пов'язаних з пестивірусом, який включає: дозатор, виконаний з можливістю введення вакцини вагітній свиноматці або свинці; та пестивірусну вакцину згідно наданого тут опису.

За бажанням композиції можуть бути надані в упаковці або розподільному пристрої, що може містити одну або більше одиничну лікарську форму з діючою речовиною. Упаковка може, наприклад, містити металеву або пластикову фольгу, такі, як в блистерній упаковці. Упаковка або розподільний пристрій можуть супроводжуватись інструкціями для введення, більш бажано для введення ссавцеві, особливо свині. У сполученні з таким(и) контейнером(-ами) може знаходитись повідомлення у формі, встановленій державним органом, що регулює виробництво, використання або продаж фармацевтичних або біологічних продуктів, де таке повідомлення відображає схвалення агентством з виробництва, використання або продажу для введення людині.

Якщо не вказано інше, всі використані тут і далі технічні та наукові терміни мають таке ж значення, як їх розуміє фахівець в галузі, до якої належить даний винахід, на дату подання заявки. Сенс та обсяг термінів повинні бути зрозумілими; однак у випадку будь-якої прихованої неоднозначності визначення, надані в цьому документі, переважають над будь-яким словниковим або стороннім визначенням. Крім того, якщо інше не ясно з контексту, одиничні терміни охоплюють множинність і множинні терміни охоплюють єдиність. Тут і далі "або" означає "та/або", якщо не вказано інше. Крім того, використання терміна "включати", а також інших форм, таких як "включає" та "включно", не є обмежуючим. Всі згадані тут патенти та

публікації включені в даний документ шляхом посилання.

Практичне втілення даного винаходу буде використовувати, якщо не вказано інше, звичайні методи молекулярної біології, мікробіології, технології рекомбінантної ДНК, білкової хімії та імунології, відомі з рівня техніки. Такі методи повністю пояснено в літературі. Див. напр.,  
 5 Sambrook, Fritsch & Maniatis, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Vols. I, II and III, Second Edition (1989); *DNA Cloning*, Vols. I and II (D. N. Glover ed. 1985); *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait ed. 1984); *Nucleic Acid Hybridization* (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. 1984); *Animal Cell Culture* (R. K. Freshney ed. 1986); *Immobilized Cells and Enzymes* (IRL press, 1986); Perbal, B., *A Practical Guide to Molecular Cloning* (1984); the series, *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N.  
 10 Kaplan eds., Academic Press, Inc.); *Protein purification methods – a practical approach* (E.L.V. Harris and S. Angal, eds., IRL Press at Oxford University Press); та *Handbook of Experimental Immunology*, Vols. I-IV (D. M. Weir and C. C. Blackwell eds., 1986, Blackwell Scientific Publications).

Слід розуміти, що винахід не обмежено конкретною ДНК, поліпептидною послідовністю або параметрами процесу, оскільки вони можуть, звичайно, різнитися. Слід також зрозуміти, що  
 15 використана тут термінологія призначена лише для описування конкретних варіантів виконання винаходу і не має на меті жодних обмежень. Слід зазначити, що використані в цьому описі та доданій формулі форми однини включають відповідні множини, якщо тільки контекст чітко не вказує на інше. Тому, наприклад, посилання на "антиген" включає суміш двох або більше антигенів, посилання на "допоміжну речовину" включає суміші з двох або більше допоміжних речовин і т.д.  
 20

"Імуногенна або імунологічна композиція або вакцина", що застосовуються в цій заявці взаємозамінно, позначають композицію матерії, яка включає принаймні один пестивірус згідно даного винаходу або його імуногенну частину, що викликає імунологічну відповідь у хазяїна, тобто клітинну або антитіло-опосередковану імунну відповідь на композицію. У варіанті  
 25 виконання даного винаходу, якому віддають перевагу, імуногенна композиція викликає імунну відповідь та, більш бажано, надає захисного імунітету від одного або більше клінічних проявів ВТ-інфекції.

"Імуноген" або "антиген" тут і далі позначає поліпептид або білок, який викликає імунологічну відповідь згідно цього опису. Це включає клітинну і/або гуморальну імунні відповіді. Залежно від  
 30 бажаної функції композиції вона може включати один або більше антигенів. "Імуногенний" пестивірусний білок або поліпептид включає повнорозмірну послідовність будь-якого з ідентифікованих тут пестивірусів або їх аналогів або імуногенних фрагментів. Термін "імуногенний фрагмент" або "імуногенна частина", що застосовуються в цій заявці взаємозамінно, позначають фрагмент або обрізану і/або заміщену форму пестивірусу, яка  
 35 містить один або більше епітопів і тому викликає описану тут імунологічну відповідь. В загальному такі обрізані і/або заміщені форми або фрагменти включають принаймні шість послідовних амінокислот з повнорозмірного пестивірусного білка. Більш бажано обрізані або заміщені форми або фрагменти мають принаймні 10, більш бажано принаймні 15, і ще більш бажано принаймні 19 послідовних амінокислот з повнорозмірного пестивірусного білка. Такі  
 40 фрагменти можна ідентифікувати будь-яким методом картування епітопів серед добре відомих у галузі. Див. напр., *Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology*, Vol. 66 (Glenn E. Morris, Ed., 1996) Humana Press, Totowa, New Jersey. Наприклад, лінійні епітопи можна визначити паралельним синтезом великих кількостей пептидів на твердих підкладках, де пептиди відповідають частинам білкової молекули, і реакцією пептидів з антитілами в той час,  
 45 коли пептиди все ще прикріплені до підкладок. Подібні техніки відомі та описані в літературі, див. напр., патент США № 4,708,871; Geysen та ін. (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:3998-4002; і Geysen та ін. (1986) *Molec. Immunol.* 23:709-715. Так само конформаційні епітопи легко ідентифікувати визначенням просторової конформації амінокислот, напр., рентгенівською кристалографією і двовимірним ядерним магнітним резонансом. Див. *Epitope Mapping Protocols*,  
 50 *supra*. Синтетичні антигени також включають в це визначення, наприклад, поліепітопи, флангуючі епітопи та інші рекомбінантні або одержані синтетично антигени. Див. напр., Bergmann та ін. (1993) *Eur. J. Immunol.* 23:2777-2781; Bergmann та ін. (1996), *J. Immunol.* 157:3242-3249; Suhrbier, A. (1997), *Immunol. and Cell Biol.* 75:402-408; and Gardner та ін., (1998) 12th World AIDS Conference, Geneva, Switzerland, June 28-July 3, 1998. (Інформація з яких і зміст яких включені в цей документ шляхом посилання.)  
 55

Термін "вакцина" тут і далі позначає фармацевтичну композицію, що включає принаймні один імунологічно активний компонент, що викликає імунологічну відповідь у тварини, і можливо, але не необхідно, одинабо більше додаткових компонентів, які покращують імунологічну активність активного компонента. Вакцина може додатково включати інші  
 60 компоненти, типові для фармацевтичних композицій. Задля розрізнення імунологічно активний

компонент вакцини може включати цілі вірусні частки або в їх первісній формі, або як атенуйовані частинки у так званій модифікованій живій вакцині (МЖВ), або частинки, інактивовані належними методами, у так званій вбитій вакцині (ВВ). В іншій формі імунологічно активний компонент вакцини може містити відповідні елементи організмів (субодичні

5 вакцини), причому ці елементи утворюються або шляхом руйнування всієї частки, або культур вирощування, що містять такі частинки, і, необов'язково, наступними етапи очищення з отриманням необхідної структури (структур), або синтетичними процесами, включаючи відповідну маніпуляцію з використанням відповідної системи на основі, наприклад, бактерій, комах, ссавців чи інших видів плюс необов'язково наступні процедури виділення та очищення,

10 або шляхом індукції синтетичних процесів у тварині, що потребує вакцини, шляхом безпосереднього включення генетичного матеріалу за допомогою відповідних фармацевтичних композицій (вакцинація полінуклеотидами). Вакцина може містити один або одночасно більше, ніж один з описаних вище елементів. Термін "вакцина" тут і далі слід розуміти як модифіковану живу атенуйовану вакцину для ветеринарного застосування, яка містить антигенні субстанції та вводить з метою індукування специфічного та активного імунітету проти захворювання,

15 спровокованого пестивірусною інфекцією, де інактивованій або атенуйованій пестивірус, зокрема інактивованій або модифікованій пестивірус згідно наданого тут опису, надає активний імунітет, який може бути переданий пасивно за допомогою материнських антитіл, проти імуногенів, які він містить, і деколи також проти антигенно споріднених організмів.

20 Тут і далі терміни "інактивованій" або "вбитий" вживаються синонімічно. Відомі різні фізичні та хімічні методи інактивації. Термін "інактивованій" позначає раніше вірулентний або невірулентний вірус або бактерію, яку опромінили (ультрафіолетом (УФ), рентгенівськими променями, електронним променем або гамма-радіацією), нагріли або обробили хімічно з метою інактивувати, вбити і одночасно зберегти її імуногенність. В одному з варіантів виконання описаний тут інактивованій вірус інактивованій обробкою інактивуючим агентом. Підходящі інактиватори включають бета-пропіолактон, бінарний або бета- або ацетил-етиленімін, глутаральдегід, озон і формалін (формальдегід).

Для інактивації формаліном або формальдегідом формальдегід звичайно змішують з водою та метиловим спиртом для утворення формаліну. Додавання метилового спирту запобігає

30 деградації або перехресній реакції під час процесу інактивації. В одному варіанті здійснення для інактивації вірусу або бактерії використовується приблизно 0,1-1 % 37 %-го розчину формальдегіду. Дуже важливо регулювати кількість формаліну, щоб забезпечити інактивацію матеріалу, але не стільки, щоб відбувалися побічні ефекти від високих доз.

Більш бажаним методом інактивації є застосування етиленіміну і споріднених похідних, таких як бінарний етиленімін (БЕІ) та ацетилетиленімін, які є прикладами придатних хімічних інактиваторів для застосування в інактивації пестивірусу. Також для інактивації вірусу можуть

35 бути застосовані інші хімічні інактиватори, напр., бета-пропіолактон, альдегіди (такі як формальдегід) і/або детергенти (напр., TWEEN®, TRITON® X, або алкілтриметиламонієві солі). Інактивація може бути виконана з використанням стандартних способів, відомих фахівцям в даній галузі техніки. Можна відбирати зразки через періодичні інтервали часу і оцінювати на залишковий живий вірус. Для виявлення присутності залишкового живого вірусу можна скористатись відслідковуванням цитопатичного впливу на підходящу клітинну лінію і/або флуоресцентним фарбуванням з підходящим специфічним моноклональним або

40 поліклональним антитілом. Альтернативно для визначення присутності залишкового інфекційноздатного вірусу можна використати моніторинг росту кількісною ПЛР в реальному часі у серії пасажів.

Інактивації за допомогою БЕІ можна досягти поєднанням маточного розчину БЕІ (напр., розчину, утвореного додаванням 0,1-0,2 М 2-бром-етиламін гідроброміду до 0,1-0,2 N водного NaOH) з вірусомісними рідинами до кінцевої концентрації приблизно 1-5 мМ БЕІ. Інактивацію

50 звичайно проводять витриманням суміші БЕІ-вірус при 35–40 °C (напр., 37 °C) і постійному перемішуванні протягом приблизно 24-72 годин. Інактивацію вірусу можна зупинити додаванням розчину натрію тіосульфату до кінцевої концентрації в надлишку концентрації БЕІ (напр., додавання натрію тіосульфату в кількості 17 % об'єму БЕІ для нейтралізації надлишкового БЕІ) з наступним перемішуванням.

Більш конкретно термін "інактивованій" в контексті вірусу означає, що вірус не здатний до реплікації *in vivo* або *in vitro* та, відповідно, термін "інактивованій" в контексті вірусу означає, що вірус не здатний до відтворення *in vivo* або *in vitro*. Наприклад, термін "інактивованій" може стосуватися вірусу, який було розмножено *in vitro*, напр. *in vitro*, і потім деактивовано хімічними або фізичними засобами, так що він вже не здатен до реплікації. В іншому прикладі термін

60 "інактивованій" може стосуватися вірусу, який було розмножено і потім деактивовано хімічними

або фізичними засобами з одержанням суспензії вірусу, фрагментів або компонентів вірусу, що призводить до утворення розчину, який можна використати як компонент вакцини.

Термін "жива вакцина" стосується вакцини, яка містить живий, зокрема живий вірусний активний компонент.

5 "Субодинична вакцина" може включати антигени, які найкраще стимулюють імунну систему. В деяких випадках ці вакцини використовують білки пестивірусу Npro, капсидний, Erns, E1, E2, NS2-3, хеліказу, NS4B, NS5A і/або РНК-залежну РНК-полімеразу (RdRp) або епітопи з цих білків. Оскільки субодиничні вакцини містять тільки суттєві антигени, а не всі інші молекули, з яких складається пестивірус, шанси побічної реакції на вакцину нижчі.

10 Субодиничні вакцини можуть містити будь-яке число від одного до 10 або більше антигенів, напр., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 або 9 антигенів. Кваліфіковані фахівці знають, як виготовляти субодиничні вакцини. Наприклад, молекули антигена можна експресувати з використанням технології рекомбінантної ДНК. Виготовлені таким способом вакцини називають "рекомбінантними субодиничними вакцинами".

15 "Фармацевтична композиція" по суті складається з одного або більше інгредієнтів, здатних модифікувати фізіологічну, напр., імунологічну функцію організму, якому її вводять, або організмів, що живуть в або на організмі. Цей термін включає, але не обмежується ними, антибіотики або антипаразитарні засоби, а також інші елементи, які звичайно використовуються для досягнення певних інших цілей, таких як, не обмежуючись ними, особливості обробки, стерильність, стійкість, придатність композиції для введення через ентеральний або парентеральний шляхи, такі як пероральний, інтраназальний, внутрішньовенний, внутрішньом'язовий, підшкірний, інтрадермальний або інший підходящий шлях, переносимість після введення або властивості контрольованого вивільнення. Один необмежувачий приклад такої фармацевтичної композиції, наведений лише з метою демонстрації, можна виготовити наступним чином: супернатант клітинної культури інфікованої клітинної культури змішують зі стабілізатором (напр., спермідином і/або альбуміном бичачої сироватки (АБС)), після чого суміш ліофілізують або зневоднюють іншими методами. Перед вакцинацією суміш відновлюють у водних (напр., сольовому, фосфатно-сольовому буфері (ФСБ)) або неводних розчинах (напр., ад'ювант-олійна емульсія на основі алюмінію).

30 Тут і далі "фармацевтичний або ветеринарно прийнятний носій" включає будь-які та всі розчинники, дисперсійні середовища, покриття, ад'юванти, стабілізатори, розріджувачі, консерванти, антибактеріальні та протигрибкові агенти, ізотонічні агенти, агенти, що затримують адсорбцію тощо. У деяких варіантах здійснення, яким віддають перевагу, і особливо тих, що включають ліофілізовані імуногенні композиції, стабілізатори для застосування в даному винаході включають стабілізатори для ліофілізації або виморожувального сушіння.

35 У деяких варіантах здійснення імуногенна композиція згідно з даним винаходом містить ад'ювант. "Ад'юванти", що використовуються тут, можуть включати гідроксид алюмінію та фосфат алюмінію, сапоніни, напр., Quil A, QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge MA), GPI-0100 (Galenica Pharmaceuticals, Inc., Birmingham, AL), емульсію вода-в-олії, емульсію олія-в-воді, емульсію вода-в-олії-у-воді. Емульсія може базуватися, зокрема, на легких рідких парафінових оліях (тип Європейської фармакопеї); ізопреноїдних оліях, таких як сквалан або сквален; олії, одержаній в результаті олігомеризації алкенів, зокрема ізобутену або децену; ефірах кислот або спиртів, що містять лінійну алкільну групу, зокрема рослинних оліях, етилолеаті, пропіленгліколю ди- (каприлаті/капраті), гліцерилтри- (каприлаті/капраті) або диолеаті пропіленгліколю; ефірах розгалужених жирних кислот або спиртів, зокрема ефірах ізостеаринової кислоти. Олію використовують в комбінації з емульгаторами, щоб утворити емульсію. Емульгаторами є переважно неіонні поверхнево-активні речовини, зокрема ефіри сорбітану, маніду (наприклад, ангідроманітол олеат), гліколю, полігліцерину, пропіленгліколю та олеїнової, ізостеаринової, рицинолевої або гідроксистеаринової кислоти, які є необов'язково етоксильованими, і поліоксипропілен-поліоксietиленові кополімерні блоки, зокрема продукти Pluronic, особливо L121. Див. Hunter та ін., *The Theory and Practical Application of Adjuvants* (Ed. Stewart-Tull, D. E. S.), JohnWiley and Sons, NY, pp. 51-94 (1995) і Todd та ін., *Vaccine 15:564-570* (1997). Прикладами ад'ювантів є емульсія SPT, описана на ст. 147 "Vaccine Design, The Subunit and Adjuvant Approach" edited by M. Powell and M. Newman, Plenum Press, 1995, та емульсія MF59, описана там же на ст. 183.

50 Ще одним прикладом ад'юванта є сполука, вибрана з полімерів акрилової або метакрилової кислоти та співполімерів малеїнового ангідриду та алкенільного похідного. Ад'ювантними сполуками, яким віддають перевагу, є поперечнозшиті полімери акрилової або метакрилової кислоти, особливо з поліалкеніловими ефірами цукрів або поліалкоголями. Ці сполуки відомі під терміном "карбомер" (Pharmeuropa Vol. 8, No. 2, June 1996). Фахівець у галузі також може

звернутися до патенту США № 2,909,462, де описано такі акрилові полімери, поперечно зшиті з полігідроксильованою сполукою, яка має принаймні 3 гідроксильні групи, більш бажано не більш ніж 8, і де атоми водню у принаймні трьох гідроксилах заміщені ненасиченими аліфатичними радикалами, що мають принаймні 2 атоми вуглецю. Перевагу віддають радикалам, що містять від 2 до 4 атомів вуглецю, тобто вінілам, алілам та іншим етиленовоненасиченим групам. Ненасичені радикали також можуть містити інші замісники, такі як метил. Особливо підходять продукти, що продаються під назвою Carborol (BF Goodrich, Ohio, USA). Вони поперечно зшиті алілсахарозою або алілпентаеритритолом. Серед них можна назвати Carborol 974P, 934P та 971P. Найбільш бажано використовувати Carborol 971P. Серед співполімерів малеїнового ангідриду та алкенільної похідної є співполімери ЕМА (Monsanto), які є співполімерами малеїнового ангідриду та етилену. Розчинення цих полімерів у воді призводить до розчину кислоти, який нейтралізують, переважно до фізіологічного рН, з метою отримання ад'ювантного розчину, в який буде включена власне імуногенна, імунологічна або вакцинова композиція.

Подальші придатні ад'юванти включають, але не обмежуються ними, ад'ювантну систему RIBI (Ribi Inc.), блок-співполімер (CytRx, Атланта GA), SAF-M (Chiron, Emeryville CA), монофосфорилліпід А, ліпідаміновий ад'ювант Avridine, термолабільний ентеротоксин з E. coli (рекомбінантний або інший), холерний токсин, IMS 1314 або мураміл дипептид або природні чи рекомбінантні цитокіни або їх аналоги або стимулятори ендогенного вивільнення цитокінів та багато інших.

Очікується, що ад'ювант може бути доданий у кількості від приблизно 100 мкг до приблизно 10 мг на дозу, переважно в кількості від приблизно 100 мкг до приблизно 10мг на дозу, більш переважно в кількості приблизно від 500 мкг до приблизно 5 мг на дозу, навіть більш переважно у кількості від приблизно 750 мкг до приблизно 2,5 мг на дозу і найбільш переважно в кількості приблизно 1 мг на дозу. Альтернативно, ад'ювант може бути в концентрації від приблизно 0,01 до 50 %, переважно в концентрації від приблизно 2 % до 30 %, більш переважно в концентрації від приблизно 5 % до 25 %, ще краще в концентрації приблизно 7 % до 22 % і найкраще в концентрації від 10 % до 20 % об'єму кінцевого продукту.

"Розріджувачі" можуть включати воду, фізіологічний розчин, декстрозу, етанол, гліцерин та інше. Ізотонічні засоби можуть включати хлорид натрію, декстрозу, маніт, сорбіт, лактозу та ін. Стабілізатори включають зокрема альбумін та лужні солі етилендіамінтетраоцтової кислоти (ЕДТА).

"Ізольований" означає змінений "рукою людини" з природнього стану, тобто, якщо такий зустрічається в природі, то він змінений або забраний зі свого природнього середовища, або і те, і інше. Наприклад, полінуклеотид або поліпептид, наявні від природи в живому організмі, не "ізольовані", але той же полінуклеотид або поліпептид, відділені від співіснуючих матеріалів природнього стану, є "ізольованими" у використаному тут значенні цього терміну.

"Атенуація" означає зменшення вірулентності патогена. В даному винаході атенуований вірус є тим, у якого вірулентність знижена настільки, що він не викликає клінічних проявів пестивірусної інфекції, але здатен викликати імунну відповідь у цільової тварини, але також може означати, що захворюваність на або тяжкість клінічних симптомів у тварин, інфікованих інактивованим або атенуованим пестивірусом, зменшуються порівняно з контрольною групою тварин, інфікованих неатенуованим дикотипним пестивірусом і не інфікованих інактивованим або атенуованим пестивірусом. У цьому контексті термін "зменшувати/ зменшення" означає зменшення як мінімум на 10 %, переважно на 25 %, ще більш переважно на 50 %, ще краще на 60 %, ще краще на 70 %, ще краще на 80 %, ще більше переважно на 90 % і найкраще на 100 % порівняно з контрольною групою, як визначено вище. Таким чином, інактивований, атенуований і/або авірулентний пестивірусний ізолят є таким, що придатний для включення до імуногенної композиції, яка містить інактивований або модифікований живий пестивірус.

"Атенуований вірус" являє собою життєздатний ("живий") вірус, у якого знижена вірулентність інфекційного агента, напр., за допомогою пасажування вірусу в конкретній лінії клітин або шляхом генетичних маніпуляцій з вірусним геномом. Атенуація вірусу має відношення до його вірулентності (патогенності), але не обов'язково впливає на реплікативну здатність вірусу. Атенуований вірус усе ще здатен реплікуватися. Тому можуть існувати штам або вірус, чия патогенність зменшилась, так що вона ініціює імунну відповідь без спричинення конкретної хвороби. У контексті даної заявки атенуований вірус може бути пестивірусом, чия патогенність відмовила або зменшилась шляхом інактивації принаймні одного гена чи білка, що беруть участь у вірулентності. В даному винаході "атенуація" синонімічна "авірулентності". У цьому контексті термін "зменшувати/ зменшення" означає зменшення патогенності як мінімум на 10 %, переважно на 25 %, ще більш переважно на 50 %, ще краще на 60 %, ще краще на 70 %, ще краще на 80 %, ще більше переважно на 90 % і найкраще на 100 % порівняно з

контрольною групою.

"Модифікований живий" означає, що вірулентність вірусу зменшили будь-яким із декількох відомих методів, включаючи, але не обмежуючись ними, багаторазовий пасаж у клітинній культурі; примусову адаптацію до росту при температурах, що звичайно вважаються обмежуваними; обробку хімічними мутагенами для створення великої кількості мутацій і селекції бажаних характеристик; а також делеція чи інсерція генів технологією ДНК. Під терміном "невірулентний" або "авірулентний" слід розуміти модифікований живий вірус, який при введенні не викликає або викликає зменшені клінічні прояви інфекції.

"Вірулентність" позначає здатність пестивірусного ізоляту викликати захворювання, пов'язане з пестивірусом. Вірулентність можна оцінити, спостерігаючи за прогресом хвороби у тварини. Прикладом "вірулентного" штаму пестивірусу є приклад штаму для експериментального зараження, як він описаний та вжитий у даному винаході.

"Авірулентний" позначає ізоляти пестивірусу, яким бракує вірулентності. Тобто, авірулентні штами, ізоляти або конструкти не патогенні і не здатні викликати захворювання. Тут і далі термін "авірулентний" використовується як синонім терміну "невірулентний".

Тут і далі терміни "штам" або "ізолят" вживаються синонімічно.

Термін "дикотипний пестивірус" тут і далі спрямований зокрема на інфекційноздатний патогенний пестивірус, який зокрема здатен викликати ВТ у свиней і особливо поросят. В одному конкретному варіанті виконання, якому віддають перевагу, термін "вірус дикого типу" стосується пестивірусу, геном якого включає послідовність РНК або складається з РНК-полінуклеотиду, де зазначені послідовність РНК або РНК-полінуклеотид є РНК-копіями полінуклеотиду, що включає SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 або 21. У деяких варіантах виконання дикотипний пестивірус включає амінокислотну послідовність, що включає SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 або 22.

Тут і далі "ефективна доза" означає, але не обмежується нею, кількість антигену, яка викликає або здатна викликати імунну відповідь, що спричиняє зменшення клінічних симптомів у тварини, якій вводять антиген.

Тут і далі термін "ефективна кількість" у контексті композиції означає кількість імуногенної композиції, здатну індукувати імунну відповідь, яка знижує захворюваність на або зменшує тяжкість інфекції або випадку захворювання у тварини. Зокрема, ефективна кількість стосується титру, вимірюваного в тканинній культурі інфекційної дози 50, або бляшкоутворюючих одиниць на дозу. Альтернативно, в контексті лікування термін "ефективна кількість" означає кількість терапії, яка є достатньою для зменшення або пом'якшення тяжкості або тривалості захворювання або розладу, або одного чи більше їх симптомів, запобігає прогресу захворювання або розладу, викликає регрес захворювання або розладу, запобігає рецидиву, розвитку, початку або прогресуванню одного або більше симптомів, пов'язаних із захворюванням або розладом, або посилює або поліпшує профілактику або лікування за допомогою іншої терапії або терапевтичного агента.

Термін "імунореактивний до пестивірусу" тут і далі означає, що пептид або його фрагмент викликає імунологічну відповідь проти пестивірусу.

Терміни "ідентичні послідовності" або "відсоткова ідентичність" тут і далі вживаються синонімічно. Для цілей даного винаходу встановлено, що для визначення відсоткової ідентичності двох амінокислотних послідовностей або двох послідовностей нуклеїнових кислот послідовності вирівнюють з метою оптимального порівняння (наприклад, в першу послідовність аміно- або нуклеїнової кислоти можуть бути введені прогалини для оптимального вирівнювання з другою послідовністю аміно- або нуклеїнової кислоти). Потім порівнюють амінокислотні або нуклеотидні залишки у відповідних положеннях амінокислот або нуклеотидів. Коли положення в першій послідовності зайняте таким же амінокислотним або нуклеотидним залишком, що й відповідне положення в другій послідовності, то молекули в цьому положенні ідентичні. Відсоткова ідентичність двох послідовностей є функцією кількості ідентичних положень у послідовностях (наприклад, % ідентичність = кількість ідентичних положень / загальна кількість положень (тобто положень, що перекриваються) x 100). Більш бажано, щоб дві послідовності мали однакову довжину.

"Гомологічність послідовностей" тут і далі стосується способу визначення спорідненості двох послідовностей. Щоб визначити гомологічність послідовностей, дві або більше послідовності оптимально вирівнюють і за необхідності вводять прогалини. Однак, на відміну від "ідентичності послідовностей", при визначенні гомологічності послідовностей співпадінням також вважаються консервативні заміни амінокислот. Іншими словами, для одержання поліпептиду на 95 % гомологічного еталонній послідовності, 85 %, більш бажано 90 %, ще більш бажано 95 % амінокислотних залишків або нуклеотидів еталонної послідовності повинні

відповідати або містити консервативну заміну іншою амінокислотою чи нуклеотидом, або ж певна кількість амінокислот чи нуклеотидів, до 15 %, більш бажано до 10 %, ще більш бажано до 5 % від загальної кількості амінокислотних залишків чи нуклеотидів, яка не містить консервативних заміни, може бути вставлена в еталонну послідовність. Більш бажано  
5 гомологічна послідовність містить принаймні ділянку з 50, ще більш бажано 100, ще більш бажано 250, ще більш бажано 500 нуклеотидів.

"Консервативна заміна" означає заміщення амінокислотного залишку іншим амінокислотним залишком, що має подібні характеристики або властивості, включаючи величину, гідрофобність і т.д., так що загальна функціональність при цьому істотно не змінюється.

10 Фахівцеві відомо, що для визначення гомологічності двох послідовностей доступні кілька різних комп'ютерних програм. Наприклад, порівняння послідовностей і визначення відсоткової ідентичності двох послідовностей можна здійснити, скориставшись математичним алгоритмом. У варіанті виконання, якому віддають перевагу, відсоткову ідентичність двох послідовностей аміно- або нуклеїнових кислот визначають за допомогою алгоритму Needleman і Wunsch (J. Mol.  
15 Biol. (48): 444-453 (1970)), інтегрованого в програму GAP програмного комплексу Accelrys GCG (доступний за адресою [www.accelrys.com/products/gcg](http://www.accelrys.com/products/gcg)), використовуючи матрицю Blosum 62 або матрицю PAM250, а також штраф за прогалину 16, 14, 12, 10, 8, 6 або 4 і штраф за продовження прогалини 1, 2, 3, 4, 5 або 6. Фахівцеві зрозуміло, що всі ці різні параметри даватимуть трохи різні результати, але при цьому загальна відсоткова ідентичність двох  
20 послідовностей при використанні різних алгоритмів суттєво не змінюється.

Порівняння послідовностей може виконуватись по всім довжинам двох порівнюваних послідовностей або по фрагменту двох послідовностей. Як правило, порівняння виконують по всій довжині двох порівнюваних послідовностей. Однак ідентичність послідовностей можуть визначати на ділянці довжиною, наприклад, двадцять, п'ятдесят, сто або більше послідовних  
25 амінокислотних залишків.

"Ідентичність послідовностей", як відомо в даній галузі, позначає спорідненість двох чи більше поліпептидних послідовностей або двох чи більше полінуклеотидних послідовностей, а саме еталонної послідовності та заданої послідовності, яку порівнюють з еталонною. Ідентичність послідовностей визначають, порівнюючи задану послідовність із еталонною після  
30 того, як послідовності були оптимально вирівняні для одержання найвищого ступеня подібності послідовностей, визначеного співпадіннями між ланцюгами цих послідовностей. Після такого вирівнювання встановлюють ідентичність послідовностей за принципом положення-доположення, напр., послідовності "ідентичні" в певному положенні, якщо нуклеотиди або амінокислотні залишки в цьому положенні ідентичні. Тоді загальну кількість таких ідентичних  
35 положень ділять на загальну кількість нуклеотидів або залишків еталонної послідовності, щоб отримати % ідентичності послідовностей. Ідентичність послідовностей можна легко обчислити відомими методами, включаючи, але не обмежуючись ними, описані в Computational Molecular Biology, під ред. Lesk, A. N., Oxford University Press, New York (1988), Biocomputing: Informatics and Genome Projects, під ред. Smith, D.W., Academic Press, New York (1993); Computer Analysis  
40 of Sequence Data, Частина I, під ред. Griffin, A.M. та Griffin, H. G., Humana Press, New Jersey (1994); Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinge, G., Academic Press (1987); Sequence Analysis Primer, під ред. Gribskov, M. та Devereux, J., M. Stockton Press, New York (1991); а також Carillo, H., та Lipman, D., SIAM J. Applied Math., 48: 1073 (1988), інформація з яких включена в цей документ шляхом посилання. Методи визначення ідентичності послідовностей, яким  
45 віддають перевагу, сплановані так, щоб давати найбільше співпадіння послідовностей, які перевіряють. Методи визначення ідентичності послідовностей кодифіковано в публічно доступних комп'ютерних програмах, які визначають ідентичність заданих послідовностей. Приклади подібних програм включають, але не обмежуються ними, пакет програм GCG (Devereux, J. та ін., Nucleic Acids Research, 12(1):387 (1984)), BLASTP, BLASTN і FASTA (Altschul, S. F. та ін., J. Molec. Biol., 215:403-410 (1990)). Програма BLASTX публічно доступна у  
50 NCBI та інших джерелах (BLAST Manual, Altschul, S. та ін., NCVI NLM NIH Bethesda, MD 20894, Altschul, S. F. та ін., J. Molec. Biol., 215:403-410 (1990)), інформація з яких включена в цей документ шляхом посилання). Ці програми оптимально вирівнюють послідовності, використовуючи штрафи за прогалини за замовчуванням, щоб досягти найвищого рівня ідентичності еталонної та заданої послідовностей. Задля ілюстрації, під полінуклеотидом, що має нуклеотидну послідовність, яка принаймні, наприклад, на 95 %, напр., принаймні на 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % "ідентична" еталонній нуклеотидній послідовності, слід розуміти те, що нуклеотидна послідовність заданого полінуклеотиду ідентична еталонній послідовності, за  
55 виключенням того, що послідовність заданого полінуклеотиду може містити до 5, 4, 3, 2, 1 або 0 точкових мутацій на кожні 100 нуклеотидів еталонної нуклеотидної послідовності. Іншими  
60

словами, в полінуклеотиді, що має нуклеотидну послідовність, яка принаймні на 95 %, напр., принаймні на 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % "ідентична" еталонній нуклеотидній послідовності, до 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 % або 0 % від нуклеотидів еталонної послідовності можуть бути видалені або заміщені іншими нуклеотидами, або ж в еталонну послідовність може бути вставлена деяка кількість нуклеотидів, до 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 % або 0 % від нуклеотидів еталонної послідовності. Ці мутації еталонної послідовності можуть мати місце у 5'- або 3'-кінцевих положеннях еталонної нуклеотидної послідовності або будь-де між цими кінцевими положеннями, вкраплюватись окремо між нуклеотидами еталонної послідовності або однією чи більше групами у межах еталонної послідовності. Аналогічно під поліпептидом, що має задану амінокислотну послідовність, яка принаймні, наприклад, на 95 %, напр., принаймні на 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична еталонній амінокислотній послідовності, слід розуміти те, що амінокислотна послідовність заданого поліпептиду ідентична еталонній послідовності, за виключенням того, що послідовність заданого поліпептиду може містити до 5, 4, 3, 2, 1 або 0 амінокислотних змін на кожні 100 амінокислот еталонної амінокислотної послідовності. Іншими словами, для отримання поліпептидної послідовності, яка принаймні на 95 %, напр., принаймні на 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична еталонній амінокислотній послідовності, до 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 % або 0 % від амінокислотних залишків еталонної послідовності можуть бути видалені або заміщені іншими амінокислотами, або ж в еталонну послідовність може бути вставлена деяка кількість амінокислот, до 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 % або 0 % від амінокислотних залишків еталонної послідовності. Ці зміни в еталонній послідовності можуть мати місце в аміно- або карбоксикінцевих положеннях еталонної амінокислотної послідовності або будь-де між цими кінцевими положеннями, вкраплюватись окремо між залишками еталонної послідовності або однією чи більше групами у межах еталонної послідовності. Більш бажано, щоб неідентичні за залишками положення відрізнялися консервативними амінокислотними заміщеннями. Тим не менш, консервативні заміщення при обчисленні ідентичності послідовностей не вважають співпадіннями.

Термін "мутація" в контексті даного винаходу слід розуміти як зміну в геномній послідовності, зокрема, у РНК-послідовності пестивірусу. Оскільки віруси, генетичним матеріалом яких є РНК, мають дуже швидкий темп мутацій, то термін "мутація" тут і далі вживається зокрема на позначення генетично сконструйованої зміни в геномній послідовності, такої як сконструйована клонуванням, примусовою рекомбінацією, ростом у присутності мутагенів або іншими технологіями, які використовують для експериментальної зміни геному, наслідком чого є, зокрема, значно нижчі титри росту вірусу в зараженому хазяїні, ніж у дикотипного пестивірусу, при розмноженні за тих самих умов. Більше того, в іншому варіанті виконання, якому віддають перевагу, описану тут мутацію може також спричинити природна мутація з наступним виділенням пестивірусу згідно винаходу, при цьому зазначений виділений вірус включає описану тут мутацію.

Послідовності білків або нуклеїнових кислот згідно даного винаходу можна також застосовувати як "послідовності запиту" для проведення пошуку в публічних базах даних, наприклад, задля ідентифікації інших членів родини або споріднених послідовностей. Такі пошуки можна проводити за допомогою програм BLASTN і BLASTP (версія 2.0) за Altschul та ін. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10. Щоб одержати амінокислотні послідовності, гомологічні білковим молекулам згідно винаходу, можна проводити білкові пошуки BLAST за допомогою програми BLASTP з параметрами score=50, wordlength=3. Щоб одержати вирівнювання з прогалинами для цілей порівняння, можна використати Gapped BLAST, як описано в Altschul та ін. (1997) Nucleic Acids Res. 25(17): 3389-3402. При використанні програм BLAST та Gapped BLAST можна використовувати параметри відповідних програм (напр., BLASTP і BLASTN) за замовчуванням. Див. головну сторінку National Center for Biotechnology Information за адресою [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov).

Термін "вектор", як відомо в даній галузі, позначає полінуклеотидний конструкт, зазвичай плазмиду або вірус, який використовують для перенесення генетичного матеріалу в клітину-хазяїн. Вектори можуть являти собою, наприклад, віруси, плазмиди, косміди або фаги. Вектор тут і далі може складатися з ДНК або РНК. У деяких варіантах виконання вектор складається з ДНК. "Вектор експресії" - це вектор, що при потрапленні у відповідне середовище здатен спрямовувати експресію білка, кодованого одним або більше генами, які переносить цей вектор. Більш бажано, щоб вектори були здатні до автономної реплікації. Як правило, вектор експресії включає промотор транскрипції, ген і термінатор транскрипції. Експресію генів зазвичай контролює промотор, і ген називають таким, що "функціонально зв'язаний" з промотором.

Тут і далі термін "функціонально зв'язаний" вжито на позначення зв'язку між регуляторними елементами і геном або його кодуючою ділянкою. Як правило, експресію гена контролюють

один або більше регуляторних елементів, наприклад, і не обмежуючись ними, конститутивні або індукційні промотори, тканиноспецифічні регуляторні елементи та енансери. Ген або кодуєчу ділянку називають "функціонально зв'язаними" або "функціонально сполученими" або "функціонально пов'язаними" з регуляторними елементами на позначення того, що ген або кодуєчу ділянку контролює або на них впливає регуляторний елемент. Наприклад, промотор функціонально зв'язаний з кодуєчою послідовністю, якщо промотор спричиняє транскрипцію або експресію кодуєчої послідовності.

Термін "конструкт" тут і далі позначає рекомбінантну нуклеїнову кислоту, яку створили з метою експресувати певну(-і) нуклеотидну(-і) послідовність(-ості), або яку застосовують при конструюванні інших рекомбінантних нуклеотидних послідовностей.

Вектори та способи створення і/або застосування векторів (чи рекомбінантів) для експресії можуть бути згідними з або аналогічними способам, розкритим у: патентах США № 4,603,112, 4,769,330, 5,174,993, 5,505,941, 5,338,683, 5,494,807, 4,722,848, 5,942,235, 5,364,773, 5,762,938, 5,770,212, 5,942,235, 382,425, публікаціях PCT WO 94/16716, WO 96/39491, WO 95/30018; Paoletti, "Applications of pox virus vectors to vaccination: An update," Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 11349-11353, жовтень 1996; Moss, "Genetically engineered poxviruses for recombinant gene expression, vaccination, and safety," Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 11341-11348, жовтень 1996; Smith та ін., патенті США № 4,745,051 (рекомбінантний бакуловірус); Richardson, C. D. (редактор), Methods in Molecular Biology 39, "Baculovirus Expression Protocols" (1995 Humana Press Inc.); Smith та ін., "Production of Human Beta Interferon in Insect Cells Infected with a Baculovirus Expression Vector", Molecular and Cellular Biology, грудень 1983, Т. 3, № 12, с. 2156-2165; Pennock та ін., "Strong and Regulated Expression of Escherichia coli B-Galactosidase in Infect Cells with a Baculovirus vector", Molecular and Cellular Biology березень 1984, Т. 4, № 3, с. 406; EP A 0 370 573; патентній заявці США № 920,197, поданій 16 жовтня 1986; публікації патенту EP № 265785; патенті США № 4,769,331 (рекомбінантний герпесвірус); Roizman, "The function of herpes simplex virus genes: A primer for genetic engineering of novel vectors," Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:11307-11312, жовтень 1996; Andreansky та ін., "The application of genetically engineered herpes simplex viruses to the treatment of experimental brain tumors," Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 11313-11318, жовтень 1996; Robertson та ін., "Epstein-Barr virus vectors for gene delivery to B lymphocytes", Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 11334-11340, жовтень 1996; Frolov та ін., "Alphavirus-based expression vectors: Strategies and applications," Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 11371-11377, 1996; Kitson та ін., J. Virol. 65, 3068-3075, 1991; патентах США № 5,591,439, 5,552,143; WO 98/00166; визнаних патентоздатними патентних заявках США № 08/675,556 та 08/675,566, обидві подані 3 липня 1996 (рекомбінантний аденовірус); Grunhaus та ін., 1992, "Adenovirus as cloning vectors," Seminars in Virology 3:237-52, 1993; Ballay та ін. EMBO Journal 4:3861-65, Graham, Tibtech 8:85-87, 1990; Prevec та ін., J. Gen Virol. 70:429-34; PCT WO 91/11525; Felgner та ін. (1994), J. Biol. Chem. 269, 2550-2561, Science 259:1745-49, 1993; також у McClements та ін., "Immunization with DNA vaccines encoding glycoprotein D or glycoprotein B, alone or in combination, induces protective immunity in animal models of herpes simplex virus-2 disease", Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:11414-11420, 1996; а також у патентах США № 5,591,639, 5,589,466 і 5,580,859, як і WO 90/11092, WO93/19183, WO94/21797, WO95/11307, WO95/20660; Tang та ін., Nature, та Furth та ін., Analytical Biochemistry, що стосуються серед іншого ДНК-векторів експресії. Див. також WO 98/33510; Ju та ін., Diabetologia, 41: 736-739, 1998 (лентивірусна система експресії); Sanford та ін., патент США № 4,945,050; Fischbach та ін. (Intracel); WO 90/01543; Robinson та ін., Seminars in Immunology Т. 9, с. 271-283 (1997), (ДНК-векторні системи); Szoka та ін., патент США № 4,394,448 (спосіб вставки ДНК у живі клітини); McCormick та ін., патент США № 5,677,178 (застосування цитопатогенних вірусів); також патент США № 5,928,913 (вектори для доставки генів); а також інші процитовані тут документи.

Тут і далі терміни "нуклеїнова кислота" і "полінуклеотид" є взаємозамінними та позначають будь-яку нуклеїнову кислоту. Терміни "нуклеїнова кислота" і "полінуклеотид" у цьому описі також охоплюють нуклеїнові кислоти, що складаються з основ, які відрізняються від п'яти основ, що зустрічаються в природі (аденін, гуанін, тимін, цитозин і урацил).

Терміни "регуляторний елемент" та "елемент контролю експресії" вживаються взаємозамінно і позначають молекули нуклеїнових кислот, які здатні впливати на експресію функціонально зв'язаної кодуєчої послідовності у конкретному організмі-хазяїні. Ці терміни вживаються широко на позначення і охоплюють всі елементи, що стимулюють або регулюють транскрипцію, включаючи промотори, ядерні елементи, необхідні для базової взаємодії РНК-полімерази і факторів транскрипції, елементи у вищому за послідовністю положенні, енансери і елементи відгуку. Приклади регуляторних елементів у прокариот включають промотори, операторні послідовності та сайти зв'язування рибосом. Регуляторні елементи еукаріотичних

клітин можуть включати, не обмежуючись ними, транскрипційні і трансляційні контрольні послідовності, такі як промотори, енгансери, сигнали сплайсингу, сигнали поліаденілювання, термінатори, сигнали руйнування білка, елемент внутрішньої посадки рибосоми (IRES), послідовності 2A і т.п., які забезпечують і/або регулюють експресію кодувочої послідовності і/або вироблення кодованого поліпептиду в клітині-хазяїні.

Тут і далі термін "промотор" позначає нуклеотидну послідовність, яка може зв'язуватись з РНК-полімеразою і спрямовує транскрипцію гена. Як правило, промотор розташований на 5'-кінцевій некодувочій ділянці гену, близько до сайту початку транскрипції гену. Елементи послідовностей промоторів, які беруть участь в ініціації транскрипції, часто характеризуються консенсусними нуклеотидними послідовностями. Приклади промоторів включають, але не обмежуються ними, промотори бактерій, дріжджів, рослин, вірусів та ссавців (включаючи людей). Промотор може бути індукційним, репресованим і/або конститутивним. Індукційні промотори ініціюють підвищення рівнів транскрипції з ДНК, яку вони контролюють, у відповідь на певні зміни умов культивування, такі як зміна температури.

Тут і далі термін "енгансер" позначає тип регуляторного елемента, який здатен підвищувати ефективність транскрипції, незважаючи на відстань чи орієнтацію енгансера відносно сайту початку транскрипції.

Створення вірусного вектора можна виконати із застосуванням будь-яких добре відомих у галузі придатних технік генетичної інженерії, включаючи, але не обмежуючись ними, стандартні техніки розщеплення рестрикційними ендонуклеазами, лігування, трансформації, очищення плазмід та секвенування ДНК, наприклад, як описано у Sambrook та ін. (*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y. (1989)).

Вірусний вектор може включати послідовності з геному будь-якого відомого організма. Послідовності можуть бути включені у природній формі або будь-яким чином модифіковані для одержання бажаної активності. Наприклад, послідовності можуть включати інсерції, делеції або заміщення.

Вірусний вектор може включати кодувочі ділянки двох або більше потрібних білків. Наприклад, вірусний вектор може включати кодувочу ділянку для першого потрібного білка і кодувочу ділянку для другого потрібного білка. Перший потрібний білок і другий потрібний білок можуть бути однаковими або відрізнитися. У деяких варіантах виконання вірусний вектор може включати кодувочу(-і) ділянку(-и) для третього або четвертого потрібного білка. Третій і четвертий потрібний білок можуть бути однаковими або відрізнитися. Загальна довжина двох або більше потрібних білків, кодованих одним вірусним вектором, може різнитися. Наприклад, загальна довжина двох або більше потрібних білків може становити принаймні приблизно 400 амінокислот, принаймні приблизно 450 амінокислот, принаймні приблизно 500 амінокислот, принаймні приблизно 550 амінокислот, принаймні приблизно 600 амінокислот, принаймні приблизно 650 амінокислот, принаймні приблизно 700 амінокислот, принаймні приблизно 750 амінокислот, принаймні приблизно 800 амінокислот, або ж більше.

Вірусні вектори, яким віддають перевагу, включають бакуловіруси, такі як BaculoGold (BD Biosciences Pharmingen, Сан-Дієго, Каліф.), зокрема якщо клітини-продуценти є клітинами комах. Хоча бакуловірусній системі експресії і віддають перевагу, фахівцям у даній галузі зрозуміло, що для цілей даного винаходу можна працювати і з іншими системами експресії, а саме експресією E або E<sub>rns</sub> у супернатанті клітинної культури. Подібні інші системи експресії можуть потребувати застосування сигнальної послідовності, щоб викликати експресію E або E<sub>rns</sub> у середовищі.

Термін "геногрупа", як відомо з рівня техніки, позначає споріднені віруси одного роду; які можуть бути додатково поділені на генетичні кластери. Ідентифіковані геногрупи роду пестивірусів включають вірус прикордонної хвороби, вірус бичачої діареї-1 (BVD-1), BVD-2, вірус класичної чуми свиней та інші некласифіковані пестивіруси.

Термін "клада", як відомо з рівня техніки, позначає групу, яка складається з предка і всіх його нащадків, одну "гілку" філогенетичного дерева. Предок може бути, наприклад, особиною, популяцією або видом. Геногрупа може включати багато клад.

"Імунна відповідь" або "імунологічна відповідь" означає, хоча не обмежується цим, розвиток клітинної та/або антитіло-опосередкованої імунної відповіді на розглянуту композицію або вакцину. Зазвичай імунна або імунологічна відповідь включає, хоча не обмежується ними, один або більше з наступних ефектів: продукування або активацію антитіл, В-клітин, Т-хелперних клітин, Т-супресорних клітин і/або цитотоксичних Т-клітин, спрямованих специфічно на антиген або антигени, які містяться у розглянутій композиції або вакцині. Краще, коли хазяїн виявляє таку терапевтичну або захисну імунологічну (пам'ять) відповідь, що зростає стійкість до нової інфекції і/або полегшується клінічна тяжкість захворювання. Такий захист проявляється або у

зменшенні кількості симптомів, тяжкості симптомів, або у відсутності одного або більше симптомів, пов'язаних з зараженням патогеном, затримці у настанні вірусемії, зниженій живучості вірусу, зменшенні загального вірусного навантаження і/або зменшенні виділення вірусу.

5 Тут і далі "специфічно імунореактивний" позначає імунореактивний білок або поліпептид, який розпізнає характерний для пестивірусної або ВТ-інфекції антиген, але не реагує з антигеном, характерним для жорсткого контрольного зараження.

"Захист від захворювання", "захисний імунітет", "функціональний імунітет" і подібні вирази позначають відповідь на захворювання або стан, створену введенням однієї або більше терапевтичних композицій згідно винаходу або їх комбінацій, що призводить до менш численних шкідливих ефектів, ніж можна було б очікувати у неімунізованого суб'єкта, якого було піддано впливу захворювання або інфекції. Тобто у вакцинованого суб'єкта тяжкість шкідливих ефектів інфекції знижена. У вакцинованого суб'єкта інфекцію можна зменшити, уповільнити або, можливо, повністю попередити. Якщо в цьому документі мається на увазі повне попередження інфекції, то це конкретно вказано. Якщо не вказано повного попередження, то термін охоплює часткове попередження.

20 Тут і далі "зменшення тяжкості і/або частоти клінічних проявів" або "зменшення клінічних симптомів" означає, але не обмежується цим, зменшення кількості інфікованих суб'єктів у групі, зменшення кількості або виключення наявності суб'єктів, що виявляють клінічні прояви інфекції, або ж зниження тяжкості будь-яких клінічних проявів, наявних в одного або більше суб'єктів, порівняно із дикотипною інфекцією. Наприклад, цей термін позначає будь-яке зменшення патогенного навантаження, виділення патогенів, зменшення передачі патогенів або ослаблення будь-яких клінічних проявів, що є симптомами ВТ. Більш бажано ці клінічні прояви зменшені у одного або більше суб'єктів, які отримують терапевтичну композицію згідно даного винаходу, 25 принаймні на 10 % у порівнянні з суб'єктами, які не отримують композицію і заражаються. Ще більш бажано клінічні прояви у суб'єктів, які отримують композицію згідно даного винаходу, знижені принаймні на 20 %, краще принаймні на 30 %, ще краще принаймні на 40 %, і найкраще принаймні на 50 %.

30 Термін "підвищений захист" тут і далі означає, але не обмежується цим, статистично значуще послаблення одного або більше клінічних симптомів, пов'язаних з зараженням інфекційним агентом, більш бажано пестивірусом ВТ, відповідно у вакцинованій групі суб'єктів і невакцинованій групі суб'єктів. Термін "статистично значуще послаблення клінічних симптомів" означає, але не обмежується цим, що частота, з якою принаймні один клінічний симптом зустрічається у вакцинованій групі суб'єктів після стимуляції інфекційним агентом, принаймні на 35 10 %, краще на 20 %, ще краще на 30 %, іще краще на 50 % і ще краще на 70 % нижча, ніж у невакцинованій контрольній групі.

40 "Довготривалий захист" позначає "покращену ефективність", яка триває принаймні 3 тижні, але краще принаймні 3 місяці, і ще краще принаймні 6 місяців. У випадку домашньої худоби найкраще, коли довготривалий захист тримається до середнього віку, в якому тварин продають на м'ясо.

Тут і далі термін "вірусемія" слід розуміти зокрема як стан, у якому частинки пестивірусу репродукуються і циркулюють у кровообігу тварини, зокрема поросяти.

45 Термін "зменшення вірусемії", індукованої пестивірусом, означає, хоча не обмежується цим, зменшення пестивірусу, який потрапляє у кровообіг тварини, при цьому рівень вірусемії, тобто кількість копій пестивірусу на мл сироватки крові або кількість плашкоутворювальних колоній на децилітр сироватки, у сироватці суб'єктів, які отримують композицію згідно даного винаходу, знижений принаймні на 50 % порівняно із суб'єктами, які не отримують композицію і можуть заразитися. Більш бажано рівень вірусемії у суб'єктів, які отримують композицію згідно даного винаходу, знижено принаймні на 90 %, краще принаймні на 99,9 %, ще краще принаймні на 50 99,99 % і ще краще принаймні на 99,999 %.

"Безпечність" позначає відсутність у вакцинованої тварини несприятливих наслідків вакцинації, включаючи, але не обмежуючись ними: потенційне повернення вірулентності вакцини на основі бактерій, клінічно значущі побічні ефекти, такі як постійна системна хвороба або неприйнятне запалення на місці введення вакцини.

55 Терміни "вакцинація" або "вакцинування" або їх варіанти тут і далі означають, але не обмежуються цим, процес, що включає введення імуногенної композиції згідно винаходу, яка при введенні тварині викликає або здатна викликати – безпосередньо або опосередковано – імунну відповідь тварини проти пестивірусу або ВТ.

60 "Летальність" у контексті даного винаходу позначає смерть, спричинену пестивірусною інфекцією або ВТ, та включає ситуацію, коли інфекція настільки важка, що тварину задля

попередження страждання і забезпечення гуманного завершення життя піддають евтаназії.

Для демонстрації варіантів виконання винаходу, яким віддають перевагу, надані нижчевикладені приклади. Фахівцям у цій галузі техніки зрозуміло, що показані у наступних прикладах технології є технологіями, щодо яких винахідники виявили, що вони добре працюють при втіленні винаходу і тому можуть вважатися методами його втілення, яким віддають перевагу. Однак фахівцям у даній галузі також, з огляду на розкриті тут інформацію, зрозуміло, що в конкретні описані варіанти виконання можуть бути внесені численні зміни і при цьому отримано такий же або подібний результат, без відходу від суті і обсягу винаходу.

#### ПРИКЛАДИ

##### ПРИКЛАД 1

Метою цього дослідження було визначення можливості відтворення клінічного захворювання на свинях, що народжені шляхом кесаревого розтину і не отримують молозива (cesarean-derived colostrum-deprived, CDCD). А саме, метою є відтворення вірусемії та колонізації тканин (такої, що виявляється кРТ-ПЛР) у CDCD-поросят після контрольного зараження сироваткою, що містить новий пестивірус.

##### Догляд за тваринами

Протягом дослідження поросят утримували у віваріях VRI в Кембриджі, Айова. Поросят годували промисловим кормом (UltraCare Medicated, лот# 4Jun16) відповідно до їх розміру, віку та стану, згідно прийнятних практик утримання тварин в цьому регіоні (включно з антибіотиками). Вода була доступна ad libitum. Площа лігва та фронт годівлі відповідали вимогам, викладеним у консорціумному "Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching", третє видання, січень 2010 р., або перевищували їх.

Будь-яких помираючих тварин, що відмовлялися їсти або пити, присипляли перед днем аутопсії на розсуд дослідника. Будь-яку тварину, що померла або була приспана під час періоду досліджень, розтинав ветеринар. Усіх тварин при закінченні дослідження присипляли, обліковували та утилізували кремацією.

##### Постановка досліду

Всього для цього біотесту використали десять CDCD-поросят. Поросят рандомізували на дві групи. Тварин групи 1 (n=6) заражали сироваткою, що містила пестивірус, трьома шляхами (внутрішньочерепним, внутрішньоносовим та внутрішньовенним). Тварин групи 2 (n=4) в такому ж порядку інокулювали плацебо і використовували як негативний контроль. Тварин кожної групи утримували в окремих кімнатах. Після зараження з метою виявлення клінічних проявів за поросятами спостерігали щоденно протягом періоду від дня контрольного зараження (D0) до D28. Протягом дослідження двічі на тиждень ректально заміряли температуру. Протягом дослідження двічі на тиждень відбирали зразки сироватки, калу та мазки з носа. Зразки перевіряли на пестивірусну РНК. У D0 і день аутопсії заміряли вагу тварин, щоб оцінити вплив зараження на середньодобовий набір маси. На D10, 14, 17, 21, 24 і 28 одну тварину з групи зараження піддавали аутопсії. Рішення про те, яку саме тварину піддавати аутопсії, приймали на підставі виявлення у сироватці пестивірусної РНК. На D17, 21, 24 та 28 присипляли одну тварину з групи плацебо. Тканини і останні сироватки, відібрані на час аутопсії, перевіряли на наявність пестивірусної РНК методом кРТ-ПЛР (ФІГ. 4).

Сироватку з NAC#20140530, ID № тварини 21-24, лот# від 2815-105-2 до 2815-105-5, розморожували при 37°C і об'єднували. Поєднані сироватки фільтрували на 0,2 мкм і розводили додаванням 6 мл сироваток до 29 мл 1X фосфатно-сольового буферу (Gibco cat#10010-023, L#1535358). Приготованому матеріалу присвоїли номер L#2815-171-A і зберігали при -70°C±10°C до використання (FreezerWorks id#466528). У день зараження матеріал розморожували і тримали на льоду протягом періоду зараження. Три аліквоти по 2 мл зберігали як архівні зразки при -70°C±10°C (FreezerWorks id#466044). Поєднаний матеріал зберігали, але додатково не перевіряли.

Розклад ключових подій, де ДПЗ означає "день після зараження"

День дослідження	Подія в дослідженні
Д0 (05сер14)	Зараження поросят -Відбір зразків сироватки, калу та мазків з носа перед зараженням -Замір маси перед зараженням
Д2, 6, 9, 13, 16, 20, 23, 27	-Відбір зразків сироватки, калу та мазків з носа -Ректальна температура
Д10	-Відбір сироватки у всіх доступних тварин
Д10, 14, 17, 21, 24, 28	Аутопсія 1 тварини на день в групі зараження -Останній відбір крові -Замір маси
Д17, 21, 24, 28	Аутопсія 1 тварини на день в групі плацебо -Останній відбір крові -Замір маси
Д0-28	Щоденні клінічні спостереження
Орієнтовна дата народження	Прибуття поросят у VRI Оцінка поросят
ДПЗ0	Зараження поросят -Відбір зразків сироватки, калу та мазків з носа перед зараженням -Замір маси перед зараженням
ДПЗ1, 3, 5, 7	-Відбір зразків сироватки, калу та мазків з носа -Ректальна температура -У разі виникнення клінічних проявів - фото- або відеофіксація
ДПЗ 8-28	-Відбір зразків сироватки, калу та мазків з носа двічі на тиждень -Ректальна температура двічі на тиждень
ДПЗ0-28	Щоденні клінічні спостереження
ДПЗ3,7,10,14,21,28	Аутопсія -Останній відбір крові -Замір маси

## Зараження

5 Внутрішньоносове зараження: На ДПЗ0 дослідник за допомогою стерильного шприца вводив 2 мл заражувального матеріалу, по 1 мл у ніздрю. Це вводили до того, як тварину анестезували.

10 Внутрішньочерепне зараження: На ДПЗ0 дослідник анестезував тварин сумішшю кетаміну, ксилазину і телазолу. Склепіння черепа очищали і дезинфікували. Користуючись інструментом для біопсії шкіри (Miltex Instrument Company, Inc.), зі склепіння черепа видаляли 4-мм ділянку шкіри. У склепінні за допомогою ручної електродрелі трепанували отвір. Заражувальний матеріал вводили у головний мозок за допомогою катетера 20 калібру довжиною 1,88 дюйма (BD AngioCath, № деталі H3272). Після введення інокуляту в катетер вводили 0,5 мл 1X ФСБ для забезпечення доставки інокуляту. Розріз на шкірі закривали одним швом.

15 Внутрішньовенне зараження: Поки поросята знаходились під анестезією, 2 мл заражувального матеріалу повільно вводили у вухну вену за допомогою стерильного катетера-метелика і шприца.

## Клінічні спостереження

20 Після зараження поросят раз на день обстежували, щоб виявити присутність клінічних проявів. Оскільки невідомо, чи не були б клінічні прояви подібними до інших пестивірусів свиней (напр., класичної чуми свиней, вірусу Бунгованна), то поросят обстежували на наявність проявів системної інфекції, а також неврологічних симптомів.

## Відбір зразків калу

Каловий матеріал у поросят відбирав дослідник. Зразки являли собою мазок (№ каталогу Fisher 23-400-111), поміщений у falcon-пробірку. Зразки відбирали з тварини, а не з підлоги.

Матеріал транспортували в день відбору, і якщо зразки перевіряли через < 24 годин після доставки, то зберігали при 2-8°C, або якщо перевіряли пізніше, то зберігали при -70 °C± 10°C.

Відбір мазків з носа

Мазки з носа у поросят відбирав дослідник. Зразки являли собою мазок (№ каталогу Fisher 23-400-111), поміщений у falcon-пробірку. Зразки у тварин відбирали, роблячи мазок з обох ніздів. Зразки маркували як мінімум номером дослідження, днем дослідження і ID тварини. Матеріал транспортували в день відбору, і якщо зразки перевіряли через < 24 годин після доставки, то зберігали при 2-8°C, або якщо перевіряли пізніше, то зберігали при -70 °C± 10°C.

Відбір крові

У дні відбору крові дослідник відбирав у кожного поросяти від 4 до 15 мл цільної венозної крові з передньої порожнистої вени, користуючись стерильною голкою VACCUTAINER® 18-20g x 1 дюйм (2,54 см) до 1,5 дюйм (3,81 см), голкотримачем VACCUTAINER® та пробірками для відділення сироватки (ПВС) на 9 або 13 мл. Сироватку відділяли від згустка центрифугуванням і зливали в кріопробірку з загвинчуваним ковпачком. Матеріал транспортували в день відбору, і якщо зразки перевіряли через < 24 годин після доставки, то зберігали при 2-8°C, або якщо перевіряли пізніше, то зберігали при -70 °C± 10°C.

Аутопсія

Загальний огляд: В усіх помираючих тварин забирали кров, гуманно присипляли, після чого ветеринар проводив аутопсію. Поросят обирали для аутопсії на основі даних про вірусемію (значення Ct <30), зібраних у день, що передував аутопсії за розкладом. Поросят на момент аутопсії зважували та фіксували макроскопічні ураження.

Останній відбір та обробка крові: Перед відбором крові поросят піддавали глибокій анестезії. Кров (приблизно 5 % від маси тіла) відбирали у стерильні банки, пляшки або множинні ПВС-пробірки та залишали для згортання при кімнатній температурі. Сироватку відділяли від згустка центрифугуванням і зливали в стерильні пляшки. Якщо зразки сироватки перевіряли через < 24 годин після доставки, то їх зберігали при 2-8°C, а якщо перевіряли пізніше, то зберігали при -70 °C.

Відбір зразків: Дослідник збирав зафіксовані формаліном зразки тканин головного мозку (1/2 органу), мозочку (1/2 органу), стовбура мозку (1/2 органу), спинного мозку (6 зрізів), кісткового мозку (зріз довгої трубчастої кістки), мигдалини (1 зріз), легені (1 зріз додаткової частки або зони ураження), серця (2 зрізи), селезінки (1 зріз), нирки (1 зріз), печінки (1 зріз), лімфовузла (трахеобронхіального і брижового), тонкого кишечника (3 зрізи клубової кишки), товстої кишки (3 зрізи). Рекомендовано робити однодюймовий дріз легені і зрізи кишок від однодюймових до дводюймових, щоб зберігати відношення зафіксованої тканини до формаліну 1:10. Усі зафіксовані тканини поміщали в один контейнер, що містив 10 %-вий забуферений розчин формаліну. Для кожного поросяти в окремий пакет "whirl-pack" відбирали повторний зразок вищеперелічених зрізів.

Обробка тканин: Зразки транспортували в день відбору, і якщо зразки перевіряли через < 24 годин після доставки, то зберігали при 2-8°C, або якщо перевіряли пізніше, то зберігали при -70 °C. Зафіксовані тканини зберігали при кімнатній температурі.

Замір маси

Заміри маси поросят робили в ДП30 і в день аутопсії. Масу визначали на каліброваних вагах і фіксували на належному бланку, виданому віварієм. Масу використовували для розрахунку середньодобового приросту маси.

Перевірка зразків

На всіх зразках виконували ПЛР на пестивірус. Вибрані зразки перевіряли на ентеровірус, свинячий кальцивірус, вірус інфекційного гастроентериту, Escherichia coli, Salmonella, і/або Clostridium sp. або інші інфекційні збудники.

ПРИКЛАД 2

Завданнями цього проекту були 1) виявлення потенційного(-их) патогена(-ів) у зразках поросят із вродженим тремором і 2) розробка моделі інфекції для відтворення хвороби. За допомогою секвенування нового покоління у поросят із вродженим тремором було виявлено пестивірус дивергентного походження. Вірус спочатку був найближче спорідненим до пестивірусу кажанів, однак тепер більш близько споріднений із нещодавно опублікованим новим свинячим пестивірусом, попередньо поіменованим атипичним свинячим пестивірусом. Кількісною ПЛР в реальному часі вірус виявили у зразках від новонароджених поросят із вродженими треморами з двох окремих ферм, але не у зразках від неуражених поросят з тієї ж ферми. Для виконання другого завдання вагітних свиноматок інокулювали або сироваткою, що містила пестивірус, або ФСБ (контроль), одночасно внутрішньовенно та внутрішньоносово, з прямою інокуляцією зародкових амніотичних міхурів за допомогою ехоконтрольованої хірургічної

методики. Інокуляції виконували на 45 або на 62 день вагітності. Усі інокульовані новим пестивірусом свиноматки опоросилися поросятами, враженими вродженим тремором, тоді як інокульовані ФСБ контрольні поросята уражені не були. Важкість тремору в кожного поросяти оцінювали за відео, знятими на 0, 1 і 2 день після опоросу. Важкість тремору в більшості поросят від 0 до 2 днів після опоросу залишалася відносно постійною. Поширеність вроджених треморів в інокульованих пестивірусом виводках становила від 57 % (4 уражених поросяти із 7) до 100 % (10 уражених поросят із 10). У тканинах поросят із вродженими треморами ПЛР послідовно виявляли вірус, а в контрольних поросятах його не виявляли. ПЛР-позитивні зразки у більш ніж 90 % перевірених поросят включали стовбур мозку (37 із 41), брижовий лімфовузел (37 із 41), трахеобронхіальний лімфовузел (37 із 41) та цільну кров (19 із 20). Хоча перший опис вродженого тремору було зроблено в 1922 році, даним описом вперше повідомлено про відтворення вроджених треморів після експериментальної інокуляції свинячим пестивірусом дивергентного походження. Для кращого розуміння патофізіології вроджених треморів, викликаних цим пестивірусом, необхідні дослідження механізму хвороби, епідеміології, а також розробка діагностичних аналізів.

#### Секвенування нового покоління

Від трьох діагностичних досліджень ВТ отримували різні свинячі тканини (сироватку, головний мозок, мозочок, спинний мозок, спинномозкову рідину (СМР) і/або легеню): тканина легені від одного поросяти (ID 20130103); об'єднана тканина мозку або об'єднана тканина легені від шести поросят (ID 20120705); та СМР (n=2; Ферма В), сироватка (n=2; Ферми А і В) та легеня (n=2; Ферми А і В) від шести різних поросят з двох різних ферм (ID 2014016573). За виключенням тканини легені зі зразка ID 20120705, в усіх перевірених зразках виявляли принаймні часткову геномну послідовність пестивірусу. Гомогенати сироватки або тканини ресуспендували у збалансованому сольовому розчині Хенкса (Corning-Cellgro) та збагачували нуклеїновими кислотами, захищеними вірусними частинками, шляхом розщеплення комбінацією нуклеаз: RNase A (Invitrogen), Baseline Zero DNase (Epicentre) і Turbo DNase (Invitrogen). Вірусні нуклеїнові кислоти екстрагували згідно протоколу виробника за допомогою набору Qiagen Viral RNA blood kit. Після екстрагування нуклеїнові кислоти додатково обробляли Turbo DNase для видалення ДНК хазяїна або потенційної вірусної ДНК, таким чином додатково збагачуючи по вірусній РНК. Шляхом реверсної транскрипції та обробки фрагментом Кленова (NEB) створювали дволанцюгову кДНК, використовуючи як праймери випадкові гексамери.

Зразки обробляли для секвенування на основі MiSeq, генеруючи бібліотеку за допомогою набору для підготовки бібліотек NextEra XT (Illumina) згідно протоколу виробника, з заміною елювання колонок (Qiagen, MinElute) нормалізацією кульок. Бібліотеку проганяли на MiSeq, застосовуючи набір на 500 циклів (Illumina), і дані аналізували, користуючись комбінацією програмного забезпечення NextGene (версія 2.3.4.2) та Sequencher (версія 5.1). Як високочислі послідовності обирали такі, що мали середній показник Q-score більше ніж 25 і обрізалися із залишком не більш ніж 3 незатребуваних основ на 3'-кінці, або ж 3 послідовних основи з Q-score менш ніж 16. Зібрані de novo послідовності аналізували, порівнюючи з послідовністю GenBank за допомогою BLASTn і BLASTx. Для філогенетичного аналізу 215-амінокислотної послідовності гена NS3 та 170-амінокислотної послідовності гена Npro використовували вирівнювання ClustalW. З 1000 повторів за допомогою програмного забезпечення MEGA 6.0 генерували філогенетичні дерева з поєднанням сусідів.

#### Кількісна полімеразна ланцюгова реакція в реальному часі (РЧ-кПЛР)

Ставили РЧ-кПЛР, націлену на N3S-ділянку геному пестивірусу дивергентного походження. Для визначення частоти зустрічання пестивірусу в комплекті зразків використали зразки тканин (n=362) підростаючих поросят, здані до ветеринарно-діагностичної лабораторії Університету штата Айова (ISU VDL) для встановленої діагностичної оцінки. Також взяли два набори зразків з ферм, на яких були вроджені тремори. Ці зразки включали сироватку, головний мозок, мозочок, стовбур мозку та спинний мозок. Перший набір (Ферма А) складався з 6 уражених і 2 неуражених преколостральних поросят, сироватку від п'яти свиноматок, від яких були відібрані преколостральні поросята, і 5 уражених та 2 неуражених постколостральних поросят віком від 6 до 14 днів. Другий набір (Ферма В: ISUVDL2014016573) складався з 5 уражених поросят невідомого колострального статусу і сироватки від п'яти свиноматок, від яких були відібрані уражені поросята.

Набір для кількісної одностадійної РЧ-ПЛР (iTaQ Universal Probes One-Step Kit; BioRad, № в каталозі 172-5141) виконували в 25-мкл реакційній суміші, що містила 2 мкл виділеної загальної нуклеїнової кислоти, 1,0 мкл зонда (2 мкМ), по 1 мкл кожного праймера (5 мкМ), 12,5 мкл суміші для РЧ-ПЛР 2X, 0,5 мкл зворотньої транскриптази iScript і 7,0 мкл обробленої ДЕКП води (Таблиця 2).

Реакція відбувалася з використанням системи детектування ПЛР в реальному часі CFX96 (BioRad) в наступних умовах: початкова зворотня транскрипція при 50 °С протягом 10 хв, з наступною початковою денатурацією при 95 °С протягом 3 хв, 40 циклів денатурації при 95 °С протягом 15 с та відпал і видовження при 57 °С протягом 30 с. Для отримання кількісних даних в кожен прогін включали пестивірусний ультрамер (Integrated DNA Technologies), що містив NS3-ділянку, таргетовану праймерами. Поріг для позитивних зразків встановили на значеннях кількісної оцінки за цикл (Cq), менших за 36.

Таблиця 2

Послідовності праймера, зонда і ультрамера для ПЛР в реальному часі

	Послідовність
Pesti_6332_F	TGC CTG GTA TTC GTG GC (SEQ ID NO:23)
Pesti_6455_R	TCA TCC CAT GTT CCA GAG T (SEQ ID NO:24)
Pesti_6351_P	/5Cy5/CCT CCG TCT CCG CGG CTT TGG /3BHQ_2/ (SEQ ID NO:25)
Pesti_ultra	AAC AGG AAA GAA CTG CCT GGT ATT CGT GGC AAC CAA AGA AGC CGC GGA GAC GGA GGC TAA AGA ACT GCG CAC CAG AGG AAT TAA CGC CAC CTA TTC AGG TAT AGA CCC TAA GAC TCT GGA ACA TGG GAT GAC CAA TCA GCC AT (SEQ ID NO:26)

10 **Модель інокуляції свиноматок**  
Тварини

Всі процедури схвалив Комітет з утримання та використання лабораторних тварин Університету штату Айова (номер запису 1-14-7907-S 2). З комерційного джерела одержували вісім окремо визначених кросбредних свиноматок на 38 дні вагітності без відомої попередньої історії ВТ. До доставки та інокуляції сироватка усіх свиноматок була негативною на PCV2a, PCV2b, PRRSV, PPV1, PPV5 і новий пестивірус, за визначенням РЧ-кПЛР. Окремих свиноматок рандомно розподіляли до однієї з трьох окремо утримуваних груп [плацебо-інокульовані на 45 день вагітності (n=1) і 62 день вагітності (n=1), пестивірус-інокульовані на 45 день вагітності (n=3), та пестивірус-інокульовані на 62 день вагітності (n=3)] та годували повноцінним за поживними речовинами раціоном протягом усього періоду дослідження.

20 **Інокуляція тварин**

За 12 годин до хірургічного втручання свиноматок утримували від їжі та води, щоб знизити ризик відригування під анестезією. Розморожували при 37°С кінцеву сироватку вірусемічного поросяти (ISUVDL2014016573). Виділяли загальні нуклеїнові кислоти та перевіряли ПЛР на наявність PCV2a, PCV2b, PRRSV, PPV1, PPV5 і пестивірусу; було виявлено лише пестивірус (Cq=27,47). Сироватку фільтрували на 0,2 мкм і розводили додаванням 6 мл сироваток до 35 мл 1X ФСБ (Gibco). У день інокуляції інокулят розморожували і тримали на льоду протягом процедури інокуляції. Загальну анестезію здійснювали внутрішньом'язовою ін'єкцією комбінації тилетаміну і золазепаму (TELAZOL®), кетаміну і ксилазину. Після анестезії кожен свиноматку поміщали в лежаче положення на лівому боці, а праву сторону живота готували до асептичної лапаротомії. Живіт обкладали білизною для хірургії і перед розрізом вводили місцеву блокаду лінії 2 % лідокаїном. Щоб отримати доступ до черевної порожнини, на ~5 см збоку від тканин молочної залози робили парамедіальний розріз довжиною приблизно 30 см. Матку тимчасово виводили на поверхню тіла і використовували стерильний ручний ультразвуковий зонд з лінійною матрицею, щоб отримати зображення кожного зародка і ввести інокулювальну голку в зародковий амніотичний міхур. Кожен міхур інокулювали 0,25 мкл інокуляту (ФСБ або пестивірусна сироватка) за допомогою голки малого калібру (22 g) (S2 MP4). Черевну стінку закривали трьома шарами за допомогою швів з поліглактину 910 розміру 2. Інокулят також вводили безпосередньо свиноматці внутрішньоносово (2 мл) і внутрішньовенно (2 мл) безпосередньо після хірургічної процедури. Відразу після закриття розрізу і до відходу від анестезії внутрішньом'язово вводили одинарні дози флуніксину меглуміну (BANAMINE-S®) та кристалічної вільної кислоти цефтіофуру (EXCEDE®). Анестезію першої свиноматки здійснювали о 8:30 AM у відповідний день операції. Кожна процедура займала приблизно 1 год. Анестезію останньої свиноматки здійснювали о 11:30 AM.

45 **Клінічні спостереження, відбір зразків та аутопсія**

Після інокуляції за свиноматками щоденно спостерігали і заміряли ректальну температуру протягом періоду 0-7 днів від дня після інокуляції (ДПІ). На ДПІ 2, 7, 10 і 14, а потім щотижня до опоросу, у свиноматок відбирали каловий матеріал, кров і мазки з носа. Під час опоросу

поросят ідентифікували індивідуально та збирали сироватку, мазки з носа і мазки калу. У підмножини поросят (n=7) збирали пуповинну кров. Щодня протягом 0-2 днів після опоросу (ДПО) знімали відео окремих поросят. Відео переглядали чотири дослідники, осліплені щодо груп, і кожне поросят отримало показник тяжкості тремору: 0 – відсутній, 1 – слабка фасцикуляція м'язів, 2 – слабкий тремор, 3 – середній тремор, 4 – важкий тремор з вираженим підстрибуванням. Тоді обчислювали середнє значення показників, щоб присвоїти кожному поросяті загальний показник тяжкості тремору на ДПО. Поросят з показником  $\geq 0.75$  на ДПО 2 вважали ураженими. Також на кожен ДПО у кожного поросяті відмічали наявність або відсутність міофібрилярної гіоплазії. Свиноматок і поросят присипляли на ДПО 2, використовуючи відповідно пневматичний пістолет з висувним ударним стержнем і ін'єкційну надлишкову дозу барбітурату. На аутопсії збирали сироватку, головний мозок, мозочок, стовбур мозку, спинний мозок, нирки, брижові лімфовузли, трахеобронхіальні лімфовузли, тимус, серце і селезінку поросят. У підмножині поросят збирали цільну кров (пробірки з ЕДТА; n=20) і СМР (n=29). Також на аутопсії збирали сироватку свиноматок.

15 Ідентифікація пестивірусу

Секвенування нового покоління

3 Використанням технології секвенування нового покоління у трьох незалежних дослідженнях хвороби вродженого тремору було виявлено вірус, близько споріднений із пестивірусом китайських кажанів, і як тепер відомо – більш близько споріднений із нещодавно опублікованим попередньо поіменованим атипичним свинячим пестивірусом. В одному з трьох досліджень було одержано майже повний геном. Цей вірус з сироватки вірусемічної тварини потім використовували для інокуляції тварин в цьому дослідженні. Філогенетичний аналіз NS3 і Npro дає підстави для класифікації вірусу як члену імовірного виду "атипового свинячого пестивірусу" (ФІГ. 5), з ідентичністю нуклеотидних і амінокислотних послідовностей відповідно 88.0 % і 94.6 %. Ретроспективний аналіз пестивірусної РНК за допомогою РЧ-кПЛР у дослідках, поданих до ISU VDL, показав, що 21 з 362 зразків (6 %) були позитивними. Ці випадки були встановленими поданнями від стад, які зазнали різноманітних клінічних проявів.

РЧ-кПЛР

30 З поросят від двох ферм, Ферми А і Ферми В, збирали зразки від тварин, що проявляли вроджений тремор, та неуражених груп. Тварини, у яких був діагностований вроджений тремор, були позитивними по пестивірусу за РЧ-кПЛР, тоді як у центральній нервовій тканині або сироватці неуражених поросят вірус не був виявлений (Таблиця 3). Вірус був виявлений у сироватці однієї свиноматки з Ферми А.

Таблиця 3

Результати кількісної ПЛР в реальному часі за зразками від поросят з Ферми А і Ферми В.

Ферма	ID тварини	Статус хвороб <sup>a</sup>	Тип зразка									
			Головний мозок		Мозочок		Стовбур мозку		Спинний мозок		Сироватка	
			Cq <sup>b</sup>	SQ <sup>c</sup>	Cq	SQ	Cq	SQ	Cq	SQ	Cq	SQ
А	P1	-	U <sup>d</sup>	0	U	0	U	0	U	0	U	0
	P2a	+	U	0	34.18	3.95E+02	35.93	1.36E+02	33.39	6.38E+02	30.64	1.14E+05
	P2b	+	U	0	35.92	1.37E+02	U	0	35.53	1.74E+02	30.14	1.47E+05
	P4a	+	U	0	32.44	1.13E+03	U	0	36.51	9.56E+01	36.44	6.62E+03
	P4b	+	U	0	29.37	2.14E+05	35.41	1.87E+02	U	0	30.97	9.71E+04
	P5a	-	U	0	U	0	U	0	U	0	U	0
	P6a	+	U	0	33.65	4.76E+02	U	0	33.89	4.71E+02	U	0
	P6b	+	U	0	28.75	2.89E+05	U	0	U	0	31.37	8.00E+04
	1	+	32.65	1.00E+03	U	0	U	0	35.65	1.61E+02	30.92	1.05E+05
	2	+	U	0	32.31	1.23E+05	U	0	35.72	1.54E+02	30.77	1.13E+05
	3	-	U	0	U	0	U	0	U	0	U	0
	4	-	U	0	U	0	U	0	U	0	U	0
	5	+	U	0	30.50	3.69E+03	U	0	35.90	1.38E+02	33.97	2.31E+04
	6	+	ND <sup>e</sup>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	29.40	2.23E+05
7	+	U	0	32.39	0	U	0	U	0	31.29	8.74E+04	

35

Фер- ма	ID тва- рини	Статус хвороб <sup>a</sup>	Тип зразка									
			Головний мозок		Мозочок		Стовбур мозку		Спинний мозок		Сироватка	
			Cq <sup>b</sup>	SQ <sup>c</sup>	Cq	SQ	Cq	SQ	Cq	SQ	Cq	SQ
B	20	+	26.59	8.36E+05	24.04	2.92E+06	24.56	2.27E+06	25.50	1.42E+06	26.04	1.09E+06
	21	+	30.92	9.96E+04	26.25	9.89E+05	27.41	5.58E+05	26.14	1.04E+06	22.26	6.98E+06
	22	+	25.79	1.24E+05	29.32	2.19E+05	27.31	5.85E+05	26.14	1.04E+06	22.25	7.04E+06
	23	+	27.51	5.31E+05	23.45	3.91E+06	26.43	9.05E+05	24.46	2.38E+06	22.47	6.31E+06
	24	+	27.93	4.34E+05	24.13	2.79E+06	27.25	6.05E+05	24.10	2.38E+06	22.25	7.04E+06

<sup>a</sup>Наявність (+) або відсутність (-) вроджених треморів.

<sup>b</sup>Cq = значення кількісної оцінки в циклі.

<sup>c</sup>SQ = початкова кількість.

<sup>d</sup>U = "не виявлено" через 40 циклів.

<sup>e</sup>ND = не проводилось.

#### Модель інокуляції свиноматок

Спостереження за свиноматками і зразки від них

5 В однієї з плацебо-інокульованих свиноматок на 45-й день вагітності розвинулась гарячка середньої тяжкості, і вона скинула усі плоди на ДПІ 3 і 4. Щодо однієї свиноматки з групи інокуляції на 45 день вагітності було виявлено, що на час інокуляції вона не була вагітною; її вилучили з дослідження. Плацебо-інокульовані та пестивірус-інокульовані свиноматки не виявляли клінічних ознак, у них не розвинулася вірусемія, що піддавалася б виявленню, і вони не розповсюджували вірус на рівнях, які б виявлялися РЧ-кПЛР. Усі свиноматки опоросилися природнім шляхом. Було одне мертвнонароджене поросля (ID свиноматки 3661) та один мацерований плід (ID свиноматки 3500).

Спостереження за поросятами і зразки від них

15 Плацебо-інокульовані поросята на ДПО 0, 1 або 2 не виявляли клінічних ознак, що відповідали б ВТ (S4 MP4). Більшість поросят, які на етапі плоду на 45 або 62 дні вагітності були інокульовані пестивірусом, мали клінічні прояви, що відповідали ВТ (S4 MP4). Поширеність вроджених треморів (S5 MP4) та міофібрилярної гіпоплазії (S6 MP4) в інокульованих пестивірусом виводках на ДПО 2 становила від 57 % до 100 % і від 0 % до 40 %, відповідно (Таблиця 4).

20 Тяжкість тремору для кожного поросяти варіювала у межах виводка, однак протягом дводенного періоду спостереження залишалася відносно постійною у більшості поросят (Таблиця 5).

Таблиця 4

Поширеність вроджених треморів та міофібрилярної гіпоплазії в інокульованих пестивірусом виводках на другий день після опоросу

ID свиноматки/День вагітності <sup>a</sup>	Вроджені тремори		Міофібрилярна гіпоплазія	
	Число уражених <sup>b</sup> / Число у виводку	Поширеність (%)	Число уражених / Число у виводку	Поширеність (%)
4036/45	5 / 8	62.5	1 / 8	12.5
3992/45	7 / 9	77.7	2 / 9	22.2
3661/62	4 / 6	66.6	0 / 6	0.0
3500/62	10 / 10	100	4 / 10	40.0
4023/62	4 / 7	57.1	0 / 7	0.0

<sup>a</sup>День вагітності на момент інокуляції.

<sup>b</sup>Поросят вважали ураженими вродженим тремором, якщо показник тяжкості тремору становив  $\geq 0,75$ .

Показник тяжкості тремору за поросятами і днями після опоросу

ID свиноматки / Інокулят / День вагітності <sup>а</sup>	ID тварини	Середній показник тяжкості тремору		
		ДПО <sup>б</sup> 0	ДПО 1	ДПО 2
2427/ФСБ/62	71	0	0	0
	72	0,25	0	НВ
	73	0	0	0
	74	0,50	0	0
	75	0	0	0
	124	0,25	0,5	0
	125	0	0	0
4036/пестивірус/45	31	2,00	0	0,75
	32	0,25	0,25	0
	33	3,50	4,00	4,00
	34	0,50	0	0
	35	3,75	4,0	4,0
	36	3,75	4,0	4,0
	37	1,00	0	0,25
3992/ пестивірус /45	38	3,50	3,5	3,5
	40	4,00	3,25	3,25
	41	0,25	0	0
	42	3,00	1,75	1,5
	43	2,00	0,25	0,25
	44	2,50	1,50	1,75
	45	3,00	3,75	4,00
3661/ пестивірус /62	46	3,25	2,50	2,75
	47	2,25	1,25	1,25
	48	3,00	2,00	2,50
	94	1,00	2,5	3,0
	95	0	НВ	НВ
	96	2,00	3,00	3,25
	97	0,75	0	0
3500/ пестивірус /62	98	2,50	2,0	2,5
	99	2,25	2,50	2,25
	100	0	0	0,25
	89	2,75	2,75	3,25
	90	3,75	3,25	3,50
	111	3,50	3,00	2,50
	112	1,75	НВ	НВ
	113	2,50	2,50	3,00
	116	3,25	3,75	4,00
	117	3,50	3,25	3,25
4023/ пестивірус /62	118	3,25	4,00	3,75
	121	2,75	1,75	3,00
	122	2,00	2,75	2,75
	123	3,00	2,75	2,75
	114	0,50	0	0,50
	115	1,50	3,50	4,00
4023/ пестивірус /62	119	1,00	1,50	2,25
	120	0	0	0,25
	130	1,00	0,50	2,25
	131	0	1,00	0
	132	1,75	0,25	0,75

<sup>а</sup>День вагітності на момент інокуляції. <sup>б</sup>ДПО = День після опоросу.

Вірусні нуклеїнові кислоти виділяли з тканин, сироватки та цільної крові, збирали та аналізували кількісною ПЛР в реальному часі. Хоча жодна тканина плацебо-інокульованого виводка не була позитивною по пестивірусу, майже всі тварини з експериментально інокульованої групи були позитивними принаймні по одній тканині. Тропізм до тканини був широким, оскільки пестивірусну РНК за РЧ-кПЛР було виявлено в сироватці крові (26 з 41), мазках з носа (12 з 41), фекаліях (14 з 41), кінцевій сироватці (34 з 41), головному мозку (30 з 41), мозочку (36 з 41), стовбурі мозку (37 з 41), спинному мозку (33 з 41), нирках (35 з 41), брижових лімфовузлах (37 з 41), трахеобронхіальних лімфовузлах (36 з 41), тимусі (37 з 41), серці (35 з 41) і селезінці (37 з 41) живонароджених пестивірус-інокульованих поросят (ФІГ. 6); в таких же зразках від ФСБ-інокульованих поросят вірусна РНК виявлена не була. Крім цього, пестивірусну РНК у підмножини поросят (ФІГ. 6) виявляли у пуповинній крові (5 із 7), цільній крові (19 із 20) та СМР (26 із 29). Середня С<sub>q</sub> сироватки, мазків з носа, СМР, брижового лімфовузла, трахеобронхіального лімфовузла, селезінки та пуповинної крові була меншою за 26. Середня С<sub>q</sub> фекалій, кінцевої сироватки, мозочка, спинного мозку, нирок, тимусу і серця знаходилась в діапазоні від 26 до 28. Найвищі середні значення С<sub>q</sub> були у головному мозку, стовбурі мозку та цільній крові (>28). Пестивірусну РНК найчастіше виявляли (>90 % взятих зразків) у стовбурі мозку, брижових лімфовузлах, трахеобронхіальних лімфовузлах та цільній крові; рідше (від 80 до 90 % взятих зразків) у кінцевій сироватці, мозочку, спинному мозку, СМР, нирках, тимусі, серці та селезінці; і найрідше (від 29 до 74 % взятих зразків) у сироватці крові, секретах носу, фекаліях, головному мозку та пуповинній крові. Для оцінки стабільності геному за допомогою повного секвенування геному випадково відібрали сироватку від двох тварин (35 і 90). В обидвох тварин виявили ідентичні 7 змін постійних нуклеотидів порівняно з батьківською лінією, що призвело до чотирьох консервативних замінів амінокислот. За результатами розгляду даних глибокого секвенування заражувального матеріалу в кожному з цих положень спостерігали докази поліморфізму.

#### Обговорення

Синдром ВТ вперше задокументували майже 100 років тому; однак більшість сучасних спалахів були пов'язані з невідомим вірусом. З використанням секвенування нового покоління в зразках поросят з ВТ було виявлено новий агент, який спочатку ідентифікували як близько споріднений до пестивірусу кажанів.

Щоб виявити вірусну РНК у численних та різноманітних типах зразків, було розроблено РЧ-кПЛР, націлену на N3S-ділянку геному пестивірусу дивергентного походження. Ретроспективний аналіз за допомогою РЧ-кПЛР виявив пестивірусну РНК у 6 % (21 з 362) зразків від стад, які зазнали різноманітних клінічних проявів, які змушували припустити, що у тканинах цих зразків наявний вірус, з низькою поширеністю. Зразки в дослідженні з інокуляцією відбирали на підставі клінічних проявів ВТ, а також розподілу в тканинах та сайтів реплікації вірусу КЧС. Зразки тканин від поросят з ВТ з двох не пов'язаних між собою ферм містили вірусну РНК, яка постійно виявлялась у сироватці та тканинах центральної нервової системи, що свідчить про те, що вірус розповсюджується системно, при цьому клінічно впливаючи на функцію центральної нервової системи. Це підтримується і розподілом вірусної РНК у тканинах пестивірус-інокульованих поросят. Конкретний сайт реплікації не було визначено, оскільки у всіх перевірених тканинах рівні пестивірусної РНК, що піддавалась виявленню, були подібними. Це може свідчити про те, що реплікація вірусу відбувається системно і може включати одноядерні клітини периферичної крові або ендотеліальні клітини, подібно до ВКЧС.

Використаний для цієї моделі інокуляції пестивірус являв собою вірусемічну сироватку, оскільки спроби культивувати вірус *in vitro* не були успішними. Імунний статус свиноматок в цьому дослідженні невідомий через брак серологічного тесту для цього нововідкритого вірусу. Щоб уникнути можливого впливу антитіл свиноматки до пестивірусу, зародкові амніотичні міхури інокулювали напряму, оскільки свиняча плацента не пропускає антитіла від матки до зародків.

Хоча в результаті хірургічної процедури одна ФСБ-інокульована свиноматка мала викидень, клінічних відмінностей між плацебо- і пестивірус-інокульованими свиноматками виявлено не було. У попередніх спалахах ВТ не повідомлялось про мертвонародження, муміфіковані або мацеровані плоди. Одне мертвонародження в одному виводку та один мацерований плід в іншому виводку пестивірус-інокульованих свиноматок вважалися випадковими і, ймовірно, не були результатом зародкової інфекції. Незважаючи на ВН- і ВВ-інокуляцію, у свиноматок не розвинулася вірусемія, що піддавалась б виявленню, і вони не розповсюджували вірус на рівнях, які б виявлялися РЧ-кПЛР. Отже, або свиноматки не заразилися після стимуляції, або наявні діагностичні тести не змогли виявити зараження.

Імовірно, що для проявлення ВТ зараження зародка повинно відбутися до розвитку його

імункомпетентності, який у поросят відбувається близько 70-80 днів вагітності. В цьому дослідженні інфікуванню пестивірусом дивергентного походження піддавалися зародки як на 45, так і на 62 день вагітності, що призвело до ВТ у більшості заражених поросят. Вибір цих двох моментів вагітності був заснований на приблизній вірусемії цього пестивірусу, обрахованій за аналогією з ВКЧС, перед розвитком зародкового імунітету (45-й день вагітності) і розвитком зародкової центральної нервової системи (62-й день вагітності). Пестивірусні інфекції *in utero* інших видів на різних термінах вагітності мають різні клінічні результати, включаючи репродуктивну недостатність, вроджені вади розвитку або імунотолерантність, при якій постійно інфікована тварина може поширювати вірус протягом усього свого життя. В цьому дослідженні певна кількість інокульованих пестивірусом поросят народилися з міофібрилярною гіпоплазією. Цей стан у свиней спостерігається часто; проте патогенез та етіологія на даний момент є лише теоретичними. Роль, якщо така є, цього пестивірусу у міофібрилярній гіпоплазії, репродуктивній недостатності свиноматок або здатності до інфекції *in utero* у постійно інфікованих тварин потребує додаткового вивчення.

Загалом відтворена тут клінічна хвороба імітує природні спалахи захворювання з різними показниками поширеності ВТ між виводками та вираженістю клінічних проявів у виводках. Вірусну РНК виявляли у всіх поросят з ВТ. Більше того, вірусну РНК виявляли у 41 з 42 живонароджених пестивірус-інокульованих поросят. Із живонароджених пестивірус-інокульованих поросят одинадцять не мали ВТ на ДПО 2 чи ДПО 0 (95), а вірусну РНК виявили у всіх пестивірус-інокульованих неуражених поросят, крім одного (95). Тим не менше, механізм системної дисфункції центральної нервової системи у більшості поросят, але не у всіх заражених поросят, наразі невідомий. Екологія і патогенез взаємодії хазяїн-вірус на даний момент не визначені, але інтригують. Необхідне дослідження ролі постійної інфекції або дисфункціональної імунної відповіді при клінічній експресії ВТ та механізму дисфункції центральної нервової системи.

Джерела інформації, що стосується механізмів треморних порушень у людей та тварин, незважаючи на високу поширеність та важливість такої симптоматики в медицині та ветеринарії, обмежена.

В цьому дослідженні виявили новоописаний дивергентний свинячий пестивірус у поросят із ВТ, але не в неуражених групах, та застосували цей вірус для відтворення ВТ шляхом розробки новітньої техніки інокуляції. Успішна розробка технік виділення вірусу, тестів на основі специфічних антитіл, технік виявлення *in situ* та вдосконалених молекулярних інструментів, безсумнівно, призведе до кращого розуміння патогенезу та епідеміології цього вірусу.

### ПРИКЛАД 3

Завданням цього дослідження була оцінка ефективності пестивірусної вакцини при введенні маткам, що не піддавались впливу пестивірусу, або серонегативним.

#### Постановка дослідження

В цьому експерименті використали всього 10 маток. Маток рандомізували на три групи. Тварин групи 1 (n=4) вакцинували прототипом пестивірусної вакцини на Д0 та Д14 безпосередньо перед або незадовго після парування. Тварин групи 2 (n=4) вакцинували плацебо-препаратом прототипу вакцини. Тварин групи 3 (n=2) залишали невакцинованими (жорсткий контроль). Тварин кожної групи утримували в окремих кімнатах. Приблизно на 42-й день вагітності маток груп 1 і 2 заражали пестивірусом шляхом внутрішньовенної, внутрішньом'язової, внутрішньоносової, внутрішньовагінальної або внутрішньоматкової інокуляції. Після зараження за матками спостерігали з метою виявлення клінічних проявів щоденно протягом всього дослідження. Протягом вагітності двічі на тиждень відбирали зразки сироватки, калу та мазки з носа, а також заміряли ректальну температуру. Приблизно на 80-й день вагітності усім свиноматкам робили ультразвукове дослідження. На момент опоросу в поросят візуально оцінювали наявність клінічних проявів. Для виявлення пестивірусу збирали сироватку, пуповинну кров і плаценту. Поросят обробляли та знімали відеозаписи. Поросят підтримували зі свиноматкою. У віці 24 годин поросят візуально оцінювали на наявність клінічних проявів і робили відеозаписи. У віці 48 годин поросят присипляли. Перед присиплянням поросят візуально оцінювали на наявність клінічних проявів і робили відеозаписи. Під час аутопсії збирали визначені тканини і кров. Зразки перевіряли на пестивірусну РНК і антитіла до пестивірусу.

Постановка досліджу

Група	n	Вакцинація (D0, D14)	Зараження (~42 днів вагітності)
1	4	Прототип пестивірусної вакцини	Так
2	4	Ні	Так
3	2	Жорсткий	№

Таблиця 7

Розклад ключових подій, де ДПЗ означає "день після зараження"

День дослідження	Подія в дослідженні
Орієнтовна дата народження	-Прибуття маток в ISU -Оцінка маток
D0-D14	-Годування усіх маток кормовою основою -Щоденні клінічні спостереження
D18-D24	-Перевірка з кабаном на статеву охоту, парування всіх маток
D0, D14	-Вакцинація маток -Відбір зразків сироватки, калу та мазків з носа перед вакцинацією
D54	-Перевірка всіх маток на вагітність
D66 (~день вагітності 42)	-Зараження маток -Відбір зразків сироватки, калу та мазків з носа перед зараженням
~D137 (день опоросу)	-Очікувана дата опоросу -Обробка поросят -Відеофіксація всіх поросят на момент опоросу -Відбір пуповинної крові та плаценти -Відбір у поросят зразків крові, калу та мазків з носа
~D138 (24 год. після опоросу)	-Відеофіксація всіх поросят на момент опоросу -Відбір у поросят зразків крові, калу та мазків з носа
~D139 (48 год. після опоросу)	-Відеофіксація всіх поросят на момент опоросу -Відбір у поросят зразків крові, калу та мазків з носа -Аутопсія всіх поросят і свиноматок (забір тканин)

5 З метою впевнитися у проведенні дослідження наосліп людина (виконавець), що вводила вакцину згідно даного винаходу і контроль, не була тією ж людиною, що відповідала за клінічні спостереження і взяття зразків у піддослідних тварин. Лабораторні тести були такими ж, як описано у Прикладі 2.

**ПРИКЛАД 4**

10 Головним завданням цього дослідження було визначення можливості індукування специфічної по пестивірусу серологічної відповіді внаслідок введення вакцини з інактивованого цільного вірусу. Більш конкретно, тваринам, які раніше не піддавались впливу вірусу, робили внутрішньом'язову ін'єкцію концентрованого інактивованого вірусу та оцінювали їх серологічним ІФА до і після вакцинації.

15 Застосування технології глибокого секвенування у численних дослідженнях спалахів виявило новий вірус, найближче споріднений до пестивірусу китайських кажанів. Історії хвороби в цих випадках включали вроджені тремори (2 випадки), анемічних поросят (1 випадок) або поросят із відставанням, імовірно пов'язаним із PCVAD (1 випадок). На основі отриманих даних поставили кПЛР і визначили у двох комплектах зразків, отриманих від ветеринарно-діагностичної лабораторії Університету штата Айова (ISU VDL) присутність ідентифікованого вірусу. Видиму поширеність було визначено як 7,3 % (8/110) у комплекті легеневих гомогенатів і 20 5,2 % (13/252) у комплекті клінічних зразків з випадків з полісерозитом в анамнезі. Завдяки співпраці з викладачем ISU VDL (доктором Paulo Arruda) було одержано додаткові зразки з двох ферм з клінічною історією вроджених треморів. Ці зразки використовували для інокуляції поросят і створення сироватки, що містила високі рівні вірусу (Приклад 1). У подальшому

дослідженні було показано, що внутрішньоматкова інокуляція сироваткою вагітних маток призводила до значної частки поросят з вродженими треморами (Приклад 2). Через здатність пестивірусу викликати клінічну хворобу є зацікавленість у розробці вакцини. В дане дослідження включена звичайна інактивована вакцина.

5 В дане дослідження буде включена звичайна інактивована вакцина. Крім цього, в дослідження включений вірусний вектор. Оскільки застосування живих вірусних векторів для експресії важливих антигенів є ключовим компонентом стратегії Lead2Grow, то дане дослідження забезпечить оцінку вектора у поросят. В дослідженні використано вектор аденовірусу собак (CAV-2; ліцензований для застосування у Solo-Jec CAV-2), що експресує білок пестивірусу E2. Вектор реплікативно компетентний і гіпотетично здатен викликати обширну довготривалу імунну відповідь. Як контрольний конструкт включено додатковий CAV-конструкт, що експресує ген Influenza A HA.

Критерії відбору тварин

15 Оскільки дослідження проводили на тваринах, народжених в умовах BSL2, і оскільки для пестивірусу наразі немає доступних серологічних тестів, то попереднього скринінгу зразків сироватки не проводили. У випробування включали тільки тварин, здорових на момент вакцинації. Якщо на момент вакцинації дослідник зауважував нездорових тварин, то їх не вакцинували і гуманно присипляли.

Догляд за тваринами

20 Протягом дослідження всіх тварин утримували у віваріях в Сіу-Центрі, Айова. Тварин годували промисловим кормом відповідно до їх розміру, віку та стану, згідно прийнятних практик утримання тварин в цьому регіоні (антибіотики можуть бути включені). Вода була доступна *ad libitum*. Площа лігва та фронт годівлі відповідали вимогам, викладеним у консорціумному "Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching", третє видання, січень 2010 р., або перевищували їх.

25 Без попереднього схвалення особою, яка контролювала дослідження, піддослідним тваринам не вводили жодних інших біологічних або фармацевтичних продуктів.

Критерії виключення після відбору

30 Будь-яких помираючих тварин присипляли на розсуд штатного ветеринара/дослідника. Помираючу тварину визначали як тварину, що відмовляється їсти або пити або сильно зневоджена через важкі клінічні прояви. Будь-яку тварину, що померла або була приспана під час періоду досліджень, розтинав ветеринар. Аутопсію проводили як описано нижче. Особа, що контролювала дослідження, консультувалася з дослідником, щоб визначити, чи включати дані від вилучених піддослідних тварин в аналіз даних і фінальний звіт.

35 Утилізація піддослідних тварин

Усіх тварин при закінченні дослідження гуманно присипляли, обліковували та утилізували переробкою як нехарчової тваринної сировини. Всі процедури виконували згідно опису в стандартних робочих інструкціях віваріїв.

Постановка досліджу

40 Загальний опис

Цей експеримент ставили для оцінки серологічної відповіді на прототипи пестивірусних вакцин у звичайних тварин. Пояснення щодо експериментальних груп див. у Таблиці 8 нижче.

45 На момент відлучення в цілому 6 тварин приблизно шеститижневого віку рандомізували у групи 1 та 2 і вводили дозу по 2 мл вакцини або плацебо згідно Таблиці 8. Тварин рандомізували і об'єднували в одній кімнаті в окремих станках. Тварин групи 3 об'єднували в окремій кімнаті. Протягом дослідження фіксували спостереження за загальним станом здоров'я, побічних реакцій не спостерігали. Приблизно через 14 днів після вакцинації відбирали сироватку і зберігали при 4 °C до закінчення обробки для серологічної оцінки. Через 21 день після первинної вакцинації робили ревакцинацію ідентичним матеріалом. Через 13 днів після ревакцинації (день 34) у тварин відбирали сироватку.

50 Зразки сироватки перевіряли на наявність сероконверсії в міру того, як тести стали доступними. У поросят групи 3 щоденно протягом D0-D7 відбирали мазки з рота, носа і фекальні мазки. Зразки оцінювали на наявність живого CAV. Місця ін'єкцій спостерігали на реакцію принаймні протягом трьох днів після введення вакцини. У кінці дослідження тварин гуманно присипляли. Огляд окремих дій дослідження та конкретні деталі процедур див. у Таблиці 9 нижче.

Постановка досліду

Група	Кімната	N (поросята)	Обробка вакциною (через 6 і 9 тижнів після опоросу)	Доза/Шлях
1	1	4	Прототип інактивованої пестивірусної вакцини	2 мл/ВМ
2	1	8	Плацебо (фосфатно-сольовий буфер + 12,5 % емульсигену D)	2 мл/ВМ
3	2	~7	Прототип вакцини пести-CAV-2	2 мл/ВМ

Таблиця 9

Графік ключових подій покімнатно

День дослідження	Подія в дослідженні	Перевірка
Орієнтовна дата народження	-Щоденне виконання СЗСЗ до Д0	Ні
Д0	-Вакцинація №1 -Спостереження за місцем ін'єкції протягом трьох днів після вакцинації -Відбір сироватки у всіх тварин	Зразок сироватки: серологічний аналіз
Д0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7	-Відбір мазків з рота, носа і фекальних мазків у тварин групи 3	Зразки-мазки: Зразки зберігали для майбутньої перевірки/оцінки виділення
Д21	-Вакцинація №2 -Відбір сироватки у тварин -Спостереження за місцем ін'єкції протягом трьох днів після вакцинації	Зразок сироватки: серологічний аналіз
Д0-Д35	Спостереження за загальним станом здоров'я (1 раз на день)	Ні
Д35	-Аутопсія -Відбір кінцевої сироватки (1 пляшка на 250 мл) у всіх тварин	Зразки сироватки: серологічний аналіз

Вакцинаційний матеріал

5 Супернатант із заражених клітин SK6 концентрували ультрацентрифугуванням в 10 разів та інактивували 5 мМ розчином БЕІ протягом 6 годин при 37 °С. Вакцину рецептували з 12,5 % емульсигену D і зберігали при 4 °С до моменту введення. Поросята групи 2 отримували матеріал-плацебо (фосфатно-сольовий буфер + 12,5 % емульсигену D). Дозу 2 мл відповідної вакцини вводили у м'язи шиї за допомогою стерильних голки та шприца належного розміру.

10 Вакцинація

Перед введенням будь-якого вакцинного матеріалу дослідник або постановник обстежували всіх тварин на загальний стан здоров'я та відбір у дослідження. У Д0 та Д21 вводили дозу 2 мл відповідної вакцини або у м'язи шиї за допомогою стерильних голки та шприца належного розміру, або в ніс (1 мл у кожну ніздру) за допомогою стерильного шприца і канюлі. У випадк ВМ-ін'єкцій для введення на Д0 використовували м'язи з правого боку шиї, а на Д21 - з лівого боку шиї. В записах, що підтверджують вакцинацію, фіксували номер лота, обсяг дози, ідентифікаційні номери тварин і час введення вакцинного матеріалу.

Клінічні спостереження

20 Протягом періоду вакцинації тварин щоденно оцінювали за формою спостереження за загальним станом здоров'я. Протягом принаймні трьох днів після вакцинації вели спостереження за місцем ін'єкції. Якщо у місці ін'єкції були присутні ураження, за цим місцем стежили до зникнення уражень або до кінця дослідження.

Відбір крові

25 У дні забору крові дослідник або постановник відбирав з передньої порожнистої вени від трьох до дев'яти мл цільної венозної крові. Використовували стерильну голку VACCUTAINER® 18-20g x 1 дюйм (2,54 см) до 1,5 дюйм (3,81 см), голкотримач VACCUTAINER® та пробірки для відділення сироватки (ПВС) відповідного розміру. Якщо кров відбирали з понеділка по четвер,

то її в той же день на льоду транспортували протягом ночі до BIVI Biological R&D в Еймсі, Айова. Якщо сироватку відбирали у п'ятницю або суботу, то сироватку відділяли центрифугуванням від згустка і зливали у кріопробірку з загвинчуваним ковпачком, помічену  
 5 зберігали при  $-70^{\circ}\text{C}$  і транспортували до Еймса на сухому льоду на наступний день відвантаження. У BIVI-Еймс зразки сироватки відслідковували за допомогою системи електронного управління FreezerWorks. Якщо зразки сироватки перевіряли у BIVI-Еймс через  $< 48$  годин після доставки, то їх зберігали при  $2-8^{\circ}\text{C}$ , а якщо перевіряли пізніше, то зберігали при  $-70^{\circ}\text{C}$ . Зразки зберігали щонайменше протягом шести місяців по закінченню дослідження.

#### 10 Зразки-мазки

Матеріали на льоду транспортували протягом ночі до BIVI Biological R&D в Еймсі, Айова. Якщо збір відбувся на вихідних, зразки заморожували при  $-70^{\circ}\text{C}$  і транспортували на сухому льоду на наступний день збору. Якщо зразки перевіряли у BIVI-Еймс через  $< 24$  годин після доставки, то їх зберігали при  $2-8^{\circ}\text{C}$ , а якщо перевіряли пізніше, то зберігали при  $-70^{\circ}\text{C}$ . Зразки  
 15 відслідковували за допомогою системи електронного управління FreezerWorks. Зразки зберігали щонайменше протягом шести місяців по закінченню дослідження.

#### Аутопсія

Якщо протягом дослідження знаходилась помираюча тварина, то її присипляли і розтинали на розсуд штатного ветеринара. Відбирали належні зразки для визначення причини смерті.  
 20 Зразки могли подавати в діагностичну лабораторію для підтверджувальної перевірки.

При закінченні тесту тварин глибоко анестезували згідно СРІ віварію і відбирали у кожної тварини  $1 \times 250$  мл центрифугувальну пляшку крові (вільним пліном). Тварину присипляли згідно СРІ віварію і пальпували місце ін'єкції. Якщо на момент аутопсії на місці ін'єкції відчутно пальпувались реакції, то брали зразок (свіжий та зафіксований). Якщо у тварини під час  
 25 дослідження проявились клінічні ознаки або є докази клінічної хвороби, тварину розтинали. Відбирали належні зразки для визначення причини хвороби. Зразки могли подавати в діагностичну лабораторію для підтверджувальної перевірки.

#### Дезинфекція кімнати, процедури входу і рутинних робіт

Прототипи вакцин не вважаються заразними для людей. При роботі з тваринами носили  
 30 рукавички, маски і одноразові костюми TYVEK®. Взуття та особисте захисне обладнання (ОЗО) були окремі для кожної кімнати. Між виконанням роботи з тваринами групи 3 і тваринами груп 1 і 2 необхідно було приймати душ. Перенесення ресурсів або ОЗО між кімнатами не дозволялось. Дезинфекція обладнання та віварію детально описана у звіті дослідника.

#### Серологічна відповідь

Центрифуговану сироватку абсорбували на первинних клітинах легені свині, щоб зменшити фон імуноферментного аналізу (ІФА). Планшети для ІФА покривали 300 нг концентрованого інактивованого пестивірусу. Абсорбовану тестову сироватку від вакцинованих тварин, плацебо-  
 35 тварин, сироватки від видужуючого позитивного контролю і сироватки від тварин, що не піддавались впливу вірусу, оцінювали двічі, дані підсумовані на ФІГ. 7. Всі сироватки від усіх груп на день 0 були негативними по ІФА (ОГ  $< 0,15$ ). Через 13 днів після ревакцинації інактивованим пестивірусом усі чотири тварини проявили сильну серологічну відповідь, тоді як жоден з відповідних плацебо-контролів не виходив за поріг аналізу 0,7 ОГ. За точним критерієм суми рангів Вілкоксона- існує статистично значуще підвищення ОГ у вакцинованій групі порівняно з плацебо (р-значення = 0,004), що вказує на специфічну серологічну відповідь на  
 40 пестивірус.

#### ПРИКЛАД 5

Головним завданням цього дослідження було виділення і продуктивна реплікація нового пестивірусу ex vivo. Більш конкретно, вдалося досягти розмноження вірусу у клітинах,  
 50 одержаних з виду-природнього хазяїна, та відслідкувати його за допомогою технік молекулярної біології.

#### Підготовка інокуляту

Збирали тканини заражених поросят з Прикладу 2, зважували їх окремо і додавали до кожної SAFC -модифіковане мінімальне поживне середовище (MEM) до кінцевого співвідношення маса:об'єм 10 %. Тканини диспергували високошвидкісним струшуванням з  
 55 металевими кульками, прояснювали мікроцентрифугуванням та фільтрували на фільтрі 0,2 мкм. Додатково індивідуально відбирали кінцеву кров заражених пестивірусом поросят з Прикладу 2. Кожен тканинний гомогенат і зразок сироватки оцінювали на наявність і відносну концентрацію пестивірусу за допомогою кПЛР. Зразки з найвищими титрами поєднували на основі типу зразка з кінцевої сироватки, гомогенатів селезінки та нирок. Ці поєднання потім  
 60 використовували як інокулят.

Інокуляція первинних свинячих тканин

З використанням вищеописаного інокуляту здійснили спроби вирощування вірусу на первинних культурах клітин ембріональної свинячої легені та ембріональної свинячої нирки. Первинні культури клітин готували з тканин, відібраних у поросят, що народжені шляхом кесаревого розтину і не отримують молозива (CDCD).

Інокулят розводили таким самим об'ємом MEM і стерилізували пропусканням через фільтри 0,8 мкм/0,2 мкм. Зразки перед інокуляцією додатково розводили 1:2 або 1:10, намагаючись позбавитись будь-якої токсичності, пов'язаної з сироваткою або клітинами-хазяями.

Культивування проводили на ростовому середовищі (MEM з 10 % опроміненої ембріональної бичачої сироватки та 2,5 % 1M HEPES). Через 7 днів культивування матеріали проганяли через 3 цикли заморожування/розморожування і потім інокулювали на свіжі клітини, дозволяючи вірусу інфікувати їх протягом 1 години при 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> і струшуванні. Через 1 годину інокулят видаляли і заміняли на ростове середовище. Пасажі продовжували протягом 11 циклів для первинних клітин легені та 4 циклів для первинних клітин нирки. Порогові значення циклів для первинних клітин нирки знаходилися в діапазоні від 21,3-22,5, що вказувало на продуктивну реплікацію. Порогові значення циклів для первинних клітин легені також вказували на продуктивну реплікацію та наведені у Таблиці 8.

Таблиця 8

Постановка досліджу

Тип клітин для пасажування вірусу	Пасаж вірусу	Значення Ct пестивірусу за кПЛР
Первинні легеневі	P1	28,6
Первинні легеневі	P4	21,6
Первинні легеневі	P7	20,9
Первинні легеневі	P11	21,8
SK6	X+1	22,6
SK6	X+4	22,0
SK6	X+10	17,2
SK6	X+14	16,45

Інокуляція безсмертних свинячих клітин

Так само, як і в оригінальних умовах інокуляції первинних клітин, інокулювали безсмертні клітини свинячих нирок (SK6) шляхом додавання супернатанту з 11-го пасажу культури первинної легені (тричі замороженого/розмороженого) та інкубації протягом 1 години при 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> і струшуванні. Після 6 днів інкубації при 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> матеріал таким же чином пасажували на свіжі клітини SK6. Після 14 пасажів з кожного пасажу виділяли нуклеїнові кислоти та перевіряли кПЛР. Після серійного пасажування порогові значення циклу знизилися (див. Таблицю 8) до ~17, що вказувало на підвищення титру вірусу приблизно у 10 разів.

Інактивація вірусного врожаю

Супернатанти з 11-го пасажу на клітинах SK6 поєднували і концентрували ~10 разів шляхом високошвидкісного центрифугування до грануляції вірусу. Вірусні гранули ресуспендували в ~1/10 початкового об'єму інертного буфера (1X фосфатно-сольового розчину). Концентрований вірус інактивували за допомогою циклізованого бінарного етиленіміну (BEI) у кінцевій концентрації 5 мМ протягом 6 годин і при постійному перемішуванні при 37 °C. Після завершення інактивації BEI інактивували розчином натрію тіосульфату (17 об. %), інкубуючи їх при 37 °C протягом 15 хвилин. Інактивований пестивірус рецептували з 12,5 %-вою кінцевою концентрацією емульсигену D і використовували в Прикладі 4 як кандидат на імовірну вакцину.

Всі композиції та способи, описані та заявлені в цьому документі, у світлі даного опису можуть бути виготовлені та виконані без надмірних експериментів. Незважаючи на те, що композиції та способи цього винаходу описані через призму переважних варіантів виконання, фахівцям у даній галузі техніки зрозуміло, що до композицій і способів, а також до описаних тут етапів або послідовності етапів можуть бути застосовані зміни, без відхилень від концепції, суті та обсягу винаходу. Більш конкретно, очевидно, що певні описані тут агенти можна заміщувати хімічно та фізіологічно спорідненими агентами, досягаючи при цьому однакових або подібних результатів. Всі подібні заміники та модифікації, очевидні фахівцям у даній галузі, вважаються такими, що відповідають суті, обсягу та концепції винаходу, як вони визначені наступною формулою.

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> БЬОРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ ВЕТМЕДИКА ГМБХ  
АЙОВА СТЕЙТ ЮНИВЕРСИТИ РІСЕРЧ ФАУНДЕЙШН, ІНК.

5 <120> ПЕСТИВІРУСНІ ВАКЦИНИ ПРОТИ ВРОДЖЕНИХ ТРЕМОРИВ  
<130> 24152-0041W01  
<140> PCT/US2016/049709  
<141> 2016-08-31  
<150> US 62/212,124  
10 <151> 2015-08-31  
<160> 26  
<170> PatentIn версія 3.5  
<210> 1  
<211> 11550  
15 <212> ДНК  
<213> пестивірус типу 2  
<400> 1

	cataatgctt	taattggccg	cattatgtgt	gggacatcct	aaatattttat	gagccctgcg	60
	gtgagtgggg	gaaagagggt	aaccaggcct	ctagtaccac	aggcaccaat	ggacagggca	120
20	actcaaacct	gagagagagg	taccgaactc	ttaagccccg	agtacggggc	agacgtcacc	180
	gagtagtaca	cccaaagacc	accacttcta	ggtgtagggt	ctactgaggc	tcgggtggac	240
	gtgggcgcgc	ccaaagagaa	atcggtggtg	gacctggggg	tcggggccac	catgccctt	300
	tacggggtag	accttactgc	ttgatagagt	gccggcggat	gcctcaggta	agagtataaa	360
	atccgttgtt	cattaacatg	gaaaaacaga	ttgcatatta	cttaaaaaaa	gaaaaacaaa	420
25	gaaatgggtg	gacggaactg	gtggtaggag	aaagtcatac	aaaaataacc	acgctttctg	480
	gaaagaccta	tcgaggcacc	tgggaaatgg	agaaacggcc	aaatccttat	ggaacctatc	540
	tccccagacc	tagtcccca	cagcttacag	ccctacaccc	ccaccagtg	gtgaattgta	600
	aggtggttga	gtacaaggag	atggacccta	attatgggtga	ttgcccaaat	acgaacgggg	660
	tgtttgttga	cgaaaagggt	agaaggctga	gcagccctcc	attaggcatt	tggaagataa	720
30	gattggacta	tagtgacttg	gtaaacataa	gcagaccaac	ccccgctagt	gggaaaaact	780
	cttaccaagt	tgagacctgc	agtggggagc	tggctacagt	gacactggta	cacaataggg	840
	tgctcgtgga	agattgcagg	gggctatacc	aatggaaacc	caactgtgaa	ggaattgtgc	900
	tctatgtgaa	aacttgttct	gactgggcag	atcaggtaga	aaaacaggag	aaagaaagcc	960
	ccccaaaacc	acagcggcca	ccaaggcgag	accacgaaa	agggttacaa	ccacaagtcc	1020
35	ccaaagagac	tgaggtcaca	gaaaagaaga	gacaacctag	tgtcacctta	gtatcggggg	1080
	ggcagaaggc	ccaagtcatc	tacaaaggca	ggaccaaaaa	caaaaagacc	ccggatggag	1140
	tctatagata	cccaggagct	aaagaagggg	acgtagtaaa	ggtcaggaag	atgctgaaga	1200
	attggcatat	agccttagtg	atgtacctga	tacatatcat	aactccaggc	cttgccaagg	1260
	tccagtggtt	cttaaaagat	gaaaactcga	cggggatcaa	ccagatactg	tggcaaagac	1320
40	agatcaacag	atccttacat	ggagaatggc	ctaaccagat	ctgccacggg	atgcccaatg	1380
	aaactatcac	ggatgaggaa	ttacgcagtc	tgggaatggg	agatacaagc	cctagaacaa	1440
	actacacctg	ttgccagttg	caatatcatg	agtggaaaga	acatggttgg	tgcaactatc	1500
	cacaaaaaca	ggcgtggatc	acgaggataa	cggccctaca	agctaacctt	accgggcctt	1560
	atgagggacc	tgagtgcgcc	gtcatctgcc	gatttaacgg	cagctacaac	atcgtaaaaa	1620
45	agggcagaga	tgaggtgagt	ccatgcagag	ggtgcaagga	agggcatcct	tttctattct	1680
	ctggtgaaaag	atccgacacc	tcatgcctaa	ggcccccttc	cactagttgg	gtaagaccag	1740
	tgaaaatgga	cgaggcatca	atggccgatg	gctttgccca	tggggttgat	aaggcgataa	1800
	tactaatcag	gaagggggca	tcaggaataa	tcaatttctt	agacactatt	gggaggtggc	1860
	taccggtagc	tgaagcaact	atagtaccat	attgtgatac	ttacactgtg	acagggatgt	1920
50	atgtccatgt	aaagaattgc	ctccctagag	ggttacctaa	gcattcaaaa	ataatctccc	1980
	cgacaatgat	atatctggga	gaaggagacc	cggcccataa	tatccagcac	ttatctggct	2040
	caggtatagc	aaagtgggtc	ctagttctac	tcgggattct	gggtgagtgg	tatggagaat	2100
	tggcttccac	aatatactta	ctactagaat	acgggtctga	gtggttggaa	catgaaagcc	2160
	tggtcacgga	agggttgatt	cctggcatta	atattacaat	agaactccca	gctagtcata	2220
55	cagtgcctgg	ttgggtgtgg	gtcgcaggcc	agtgggtatg	cgtgaagcca	gactggtggc	2280
	ctacacagat	ttggattgaa	accgtggtgg	cagagacctg	gcatatacta	aaaatattgg	2340
	cgtcagccct	ggtgaacata	gttgcagcgt	tcgtaaacct	ggaattgggt	tatctggtca	2400
	taatactagt	caaaatatca	aaagggaaacc	tgataggtgc	catattatgg	tgcttggtac	2460
	tgtcagggcg	tgaaggctcg	tgctacaaaa	gacaagacta	ttacaacacc	caactagtcg	2520
60	tcgaagaaaa	aacagggcgt	gaaaaacgat	ctataatggg	caagtggacc	gtgataacca	2580
	gggaaggtcg	ggagccaaga	ttaatggagc	aaataaatat	ggtattgaat	gatagcctgt	2640

	cagaaaccta	ctgctataat	aggctaaaca	ccagcacttg	ggggcggcaa	ccggcaagac	2700
	aaagaggggtg	tgggtcaaacc	gtgccctatt	ggcctgggtga	caatgttcta	gaagaacaat	2760
	actacagcac	aggttactgg	gtgaatgtaa	caggcggttg	ccagctgaga	gaaggcgtat	2820
	ggctatcaag	aaagggtaac	gtacagtgtc	agcgtaacgg	ctcatccttg	atgctgcaat	2880
5	tggcgataaa	agaagagaat	gacactatgg	aaataccatg	tgaccagtg	gaaactgaaa	2940
	gtatgggtcc	agttgcacag	ggcacttggtg	tgtacagctg	ggcattcgcc	ccaagaggggt	3000
	ggtactataa	caggaaggat	ggttattggc	tccagtacat	aaagaaaaac	gactaccagt	3060
	attggacaaa	aatgcctact	gcctcgtccg	ccgcaaccat	gtaccgccac	ttgctcccct	3120
	tactgggtggc	ctgcctcatg	ggcggtagga	tatcgggtgtg	gtttgtggca	atgctcctgt	3180
10	ctctacaggt	ggaagctagt	gaagtaggca	ctaaacaact	ggctgtcacg	ctaaccctgt	3240
	ggaaaaatgga	ctggacagaa	ctacttttct	atattgtctt	gatgctagcc	gtaaggaag	3300
	aacttataaaa	aaaaattgtg	accgctagcc	ttgtggcctt	aaaaaatagt	ccagtagcct	3360
	tgagttttct	tattgtactc	agacttggtg	ggggcagtg	agcactccca	gtaggtttat	3420
	tattagaaaa	aatgtgcata	gaccaaccgg	agtttggaac	tcctttcctg	atctacctat	3480
15	gggacaactg	gaagtggact	gtgttagtca	gcttctccgc	actgaaccat	gaaaaaacta	3540
	taaaactggc	aagaaaactg	ttgttggcaa	cacatataac	agcgtcaca	ttgactggct	3600
	tgagtgattc	aatcttctat	atgatgctta	taacaacaaa	tttgttaata	aagacattca	3660
	tatacttgct	gggggctagt	atgaattggg	tcgagagaga	aaaaaagaaa	ttgctagtga	3720
	agaggagact	aatatacaag	aaagccgtta	cttgcagtca	ggatgagaat	gtattggaga	3780
20	ataaattcaa	caagataact	gtaaaccgcg	atctcacc	atgcaagctt	gaacttctac	3840
	aattacttag	ggctttttta	gtctctttgt	gtttttccta	ctacaaacct	ctcctgtatg	3900
	cagagactac	cttaactgta	atagtaattg	gcgtaacaaga	gtacaacgta	gccatggccc	3960
	gcgggcgaag	tgtggtccac	aggctactag	ccatggccta	ttacatatac	ggcgcatac	4020
	agggtgacat	gttccagctc	gccactatcc	agtgcctgct	gtcaggtccg	aggaaaatta	4080
25	tgaaacacat	ggtagagaat	ccaactctca	agaagctctg	gcaaggcgaa	acagaactct	4140
	tcaaccaggg	tgttagtcaa	tccaagatag	tgaatccaaa	gaaaattggg	ctggaagaat	4200
	tacacaaggg	tctgtgtggc	ctcccaacag	tagtgcmeta	tttggtcata	tatgcaaaga	4260
	agaatgactc	ctttatttta	ggagagctgg	gttacccccc	tggggatctc	accagtgatg	4320
	ggtgggaaat	tttaggtcct	ggcagaatcc	caaagatcac	taacgtcgag	tctgctaaga	4380
30	tggacttact	ctccaaactt	atgacctttc	tggggattga	aagctcgagg	gtccccagga	4440
	cccagtcca	ctcaacaagg	aaattattga	agatagtaag	gggcttggaa	acaggatggg	4500
	ggtacactca	cgcagggggg	ataagtagcg	caaaacacgt	tacaggtgaa	aagaacttaa	4560
	tgaccacat	ggagggtagg	aagggaaaat	atctcctaca	atctcaagaa	catgggtgctg	4620
	acgaggtaga	gtacggagta	aaaactgatc	aaaaagctcc	cgacaatgcc	ttatgctact	4680
35	gttttaacc	tgaagctaca	aacataaaag	gagagacggg	agccatgggtg	ttcatgaaga	4740
	agataggaaa	aaagtggact	ctcgtaacat	cagacggcaa	taaagcctat	tataatgtaa	4800
	acaatttgaa	aggggtggtc	ggactaccaa	taatgctgca	ctccaccggg	gccatagtgg	4860
	ggaggattaa	atcagcgtat	tcagatgaaa	acgacctggt	ggaggaactt	attgactcta	4920
	gaactattag	taagagcaat	gagacaaacc	tggaccacct	tatcaaggaa	ttggcagaca	4980
40	tgcgaggggg	ggagttccgc	tcaattacc	ttggaacggg	agccgggaaa	accacagaac	5040
	tgcttaggca	atacctcaca	acagtaggtg	cccataaatc	cgtgctggtc	ttagtcccct	5100
	taaaagcacc	tgtgaaagt	gtttgccgct	ttatgaggtc	taaataccct	accatcaact	5160
	tttcttaag	agtgggggaa	cggaaagagg	gagatgtgag	cagcggcatc	acctacgcta	5220
	cttacggatt	ttgctgccag	ctaaacctag	tccaacttaa	agaatggata	tccaggtact	5280
45	caatggtttt	ttttgatgaa	tatcacacag	caactccaga	acaaatagcc	ataataagca	5340
	agattcatgc	actgaaagtt	aagaccagga	tagtggctat	gtcagcaacc	ccccgggta	5400
	ccgtgacgac	tgaaggcagg	aagtttgaca	ttgaagaggt	aggggttgct	accatagaga	5460
	aaggagagga	acaaaaagg	gggcgcatag	cggtcgctgg	tatgcaggtc	ccattagaag	5520
	acttaacagg	aaagaactgc	ctgggtgttcg	tggcaaccaa	agaagccgcy	gagacggagg	5580
50	ctaaagaact	gcgaccaga	ggaattaacg	ccacctacta	ctattcaggt	atagacccta	5640
	agactctgga	acatgggatg	accaatcagc	catactgtat	tgtagctacc	aatgccattg	5700
	aatcaggtat	aacctgtcct	gacttggtatg	tggctataga	caccatgcag	aagtacgaaa	5760
	aagtagtgaa	tttctcggca	aagatgccct	tgattgtcac	ttcattagta	aagaaaaaaa	5820
	tcaccagga	agaacagggc	cagaggaaa	gtcagtggtg	caggcaaaa	aaaggaaaat	5880
55	actactacc	ctcgggggtg	gtaccgaatg	ggtcaaaaaga	cctaagctat	ttaatcctac	5940
	aggccaaga	atatggtgtc	ttggaacaag	tcaatataac	agagtacttc	atcataatga	6000
	atgaggactg	gggtctctat	gacgtagatg	aagtagaagt	gagaatactt	gagagaatga	6060
	acaaggaaat	cttgctacca	ctaggtattg	tggagaagca	aatcttggaa	agaagtactc	6120
	acccggaaaa	agtggcactg	ttgtataaca	aattagtgca	gaaaaatcct	atagtatacc	6180
60	ctagagtaca	ggaaggtgag	gtcagcaagg	aatacaatac	ctataatctg	gccgtatatg	6240
	acaagctaaa	agatgtcaac	ccacaagcca	tttatgttct	agcagaagag	gagagagcca	6300

	cagaaatgat	gggtctcgag	tttgaacaag	acccatctga	cttacaggat	tcggtagttc	6360
	agctttgtga	agatatcaag	aggtatacaa	aactctctgg	gatcactgag	aaactgctag	6420
	taggtacgat	ggtggggtat	attggataca	aagccttaac	cagaaaccac	gtgccctggg	6480
	tcagcaaaga	gtattgttat	gagctgaccg	attcaccgga	tacttacgaa	aactcattcg	6540
5	cacctttgga	cgtcgacgtc	caaaactccg	gtgaaggaaa	acaccagag	caactggcag	6600
	accatcaatt	gaggcaacta	ctggagactg	ggagagacaa	ggcaattgat	ttcctaaaag	6660
	gaatccgcga	gttcactagt	ggggccataa	acagtccaaa	ggcactaagt	atatgggaga	6720
	aaatataatca	gtatttgaag	aagcatcagg	gcgagatcat	ctcatcagca	gcggtggggca	6780
	gtgcgacggc	ccttcacgac	agtattaaat	ctagactagg	agatgaggtc	gctactgcag	6840
10	taataatcct	caagtattta	gcatttggtg	aaagagaact	gtctgggcta	actaggcaag	6900
	ttctaattga	catcatagta	tattatatag	ttaacaagcc	ccggttcgaa	ggagacgact	6960
	acgcaaagag	aaaaggaaga	aggctagtca	tcgaagtcct	gatgggggca	ctggcgactt	7020
	atgcggtgtc	caatttttgg	ggtgtgtcca	ttaataagat	actgcaacca	atctctgatt	7080
	atctacccta	tgccaccgcc	actttggcct	ttcttcgccc	aaccttcatt	gaatcagcag	7140
15	tggtggctcg	ttcctctatc	tatagagcct	ttctctccat	taagcatgcg	gaaaacagga	7200
	gtcttgtcac	gcaggtcgct	tctgccgccc	tcgaagtcac	gggcctgacc	ccagtatcgg	7260
	ctggcctagg	cgtcttgcgt	gggcttgggt	tgtgtgtgct	ccatatgaac	attgacaaga	7320
	atgaggagaa	aaggacactt	atactgaaaa	tgtttgtcaa	aaactttata	gaccaggcgg	7380
	cactagacga	gttggataaa	ctggagccag	aaaaataaat	cctctcattg	ttggagggta	7440
20	tccaaacctg	cacaaacctg	attagagcaa	tcattgatttt	gtacagggtg	tactacaagg	7500
	gagaaacttt	cacagaagct	ttgtctaaga	tggccggcaa	gtctctcatt	gtgatgggtca	7560
	tagtcgagtt	cctggaattg	acaggccaaa	ccaaggagg	gtatatagat	cttagtgcta	7620
	atgtgctgac	ctttctcctc	gagaaactaa	aaaaaatgac	taacctcgcc	atcggggaag	7680
	ctagaaaggt	cttgctcccc	atcccatact	tgtactgtga	aacctggcag	tctgacgcca	7740
25	gaatcaaggc	ccctgaatcc	tacgaccaag	tggtagtggg	atgcaaagt	ggcgcttcag	7800
	cgaggtattc	cttcgcgcat	ggagttcatg	agatattgga	agaaaaaagg	actaattgggt	7860
	gcaagaactt	cttcttatgg	ggaccaactc	tccacaatcc	ggatccaaaa	aggatgacat	7920
	tctatgaata	cggccaagca	aaaaagtgtc	ctgttatcat	aattgggtgaa	gacataacct	7980
	tcggcaaata	tggcataatat	atcaaatttg	gccataggcc	tgatggaggg	aggttaataa	8040
30	ggggtaccac	ccacgctact	atcagtaggg	aggaattgct	ggaaatccta	acagcccaa	8100
	gccaagtggc	cataggcaag	gtcaagctaa	ccgattactg	taatcaaaaa	ggaataatag	8160
	acaggaaatt	ggcctgactt	gaaggtgaca	aaatacattt	ttggaaagca	caccgtggat	8220
	ccaaaatcac	agaccaactc	actattgaga	atctgacaga	tgatttgggg	tcagaaatca	8280
	gggacatcac	atgggagctg	tacacaggtg	gaacgtgcac	cgtaaaaggg	gtgtccctta	8340
35	gatcatgctc	accaggctat	agaactaagg	ctatggtctt	gtgtgattgc	actgatgtgc	8400
	ttagcccctg	ttacctaata	aacggcagga	gaccatcccc	atctgacgct	gcggaagggt	8460
	atgaatgtca	ccaccggaag	ccccgagcga	cgtatgaaga	cctagaaatg	gaggaaatac	8520
	taaagagacg	agtccctgtc	tacgatcctc	tgtgtttggt	tgacactgat	agtaaactgc	8580
	tacctcccga	cacctactac	ttggaagaag	atcaagagga	ctttgagtac	gcattgagat	8640
40	gctggggcct	cggggtttat	gtagcagacg	ggcctgtcac	ttcccccccg	gacataagaa	8700
	tacaccatag	ttcgggtatta	ctactgctga	cacctggagt	aaactcagag	ttgcccttac	8760
	agtacatacg	ttgttaccct	catcaggcag	aggtggacat	ctacattagg	agtcagcttt	8820
	tgaggagagga	agacactgct	acggaggttg	aaggctccca	ggaagatggt	gatgaaggga	8880
	tgggcgatgc	ggtaatagag	gatgaggata	catcgtccac	aacagaatca	atacccccac	8940
45	tagaagagga	ggaagggggc	gaagagccaa	tcacctatgt	ggtcataaag	ggattacaag	9000
	aagaaagata	cgccagccat	cttaaactaa	atgactggat	cagtgaaaac	atctcagagc	9060
	cacacagagt	ccaaattatg	ctagatggga	cagtgagagt	cacaataaaa	gagggcaaag	9120
	tgaacattt	gtttggggtc	tatagaatag	aaaactccct	ggaagcaatg	tttaaagaga	9180
	ccatagetga	cctccccgta	gctacccaac	cgccccaggg	gccagtctat	acggctaaag	9240
50	agctggccca	agggaacatc	gccccggctc	aacctgcagc	gaattattac	ggaatgatag	9300
	aggggagagg	cgacccaatg	acggcattcg	aagccttctc	agtcttgcgg	tcacaaaaag	9360
	tcttagccaa	ggacgtgaag	gtgaacaccc	gcagggcgca	ggttttttta	aataaagtca	9420
	ggagaattgc	tgaggtcaga	gcgtcggaac	tgacattaaa	atgcttaccg	atacttggca	9480
	aagtaaattg	gaggaaattg	attagagagg	aaaccaacat	ccccaaccaa	agggtggcat	9540
55	caataatgac	ctcaatagga	attagactag	aaaaactgcc	agtggttaga	gcaaacactt	9600
	ccggtctaa	gttcagacag	tcaatcttag	aaaaaatgga	taagtatgaa	aatgaacaag	9660
	tcccagggtt	acatgaaaag	atgtgggcag	cgttcctggc	aactgccagg	caagatttaa	9720
	gaaataccta	tgaggaagta	acttatcttg	aattagaggc	cggaatcaat	cggaaaggag	9780
	ccccagggtt	ctttgaaaaa	gaaagctcaa	taggagaagt	gctggaaaaa	aaagaaaaaa	9840
60	ttgacgtcac	aatccaagag	attgaaaaag	gcaaccactt	atactatgaa	acagccatgc	9900
	caaaaaatga	gaaaagagat	gtgcttgatg	attggttgtc	agaggatttc	gtcacttata	9960

agaaaccacg tgtgatacag taccctgagg cagtcacccg gttggccatc accaaaataa 10020  
 tgtataagtg ggtgaagcaa aagcctatag tgattcccgg ttatgagggga aaaaccccga 10080  
 tctttgaaat atttgaaaaa gtcagtgacg attgggctca gttcaaaaat cccgtagccg 10140  
 tcagcttcga caccagagcc tgggacactc aagtaacaag agaagacctc aggctggtag 10200  
 5 ggcgataca gaaatactat tacaataaaa aatattggaa gttcattgac aatttgacag 10260  
 ccatgatgga ggaagtgcct gtaatcactg tagaaggaga tatgttcctc agagttggac 10320  
 agcgcggatc cggacagcct gatacctcag caggcaattc catgctaaat gtgctgacta 10380  
 tgttggtagc tttctctgaa tccacaaatc tgcccatagc ggctgcctgg aaggcctgtc 10440  
 ggatccacgt ctgtggtgac gacggtttct taatcacaga atcggaatta gggaggaagt 10500  
 10 ttgctgaaaa aggtgttcct ctgtagctg catttggcaa accccaaaaa attacagagg 10560  
 gagcgagcct aaaggtaac agcaactttg acggaataga gttttgtagt cataccccta 10620  
 tcagagtcca aacaccaaac atcaggtgga tgccagcgag accaacagca acaatcctag 10680  
 gcaaaatgag taccaggctg ggtgagggtg ccaccaggtc gggagaagaa tacgaaaaac 10740  
 aggtggcatt cgcatatcta ctgatgtacc cctggaaccg gctggtcagg agaatcagcc 10800  
 15 tcctattggt atcgactact gacccaatgg ggaaagagga aaccccatgc tccgatgagg 10860  
 ggggtgaagta tgttggggac cctatcgctg catacagggga tgtatggggg cacaaattag 10920  
 aggatgtagg ccatgttgat caaccgcagt tatcccggat gaactatagc atgacttact 10980  
 tagggatttg gaaaccaaag acaagtcagc ggctagtcga acagtgttgt cgtctggccg 11040  
 agaaaagcaa ttgtgtggta cgtgctgact ccctgataaa gaaaaaggtc aagatcactt 11100  
 20 atgaccggg gataggagtg gctcagggtca ttcgtaggtg ggaagagctt gagtggacca 11160  
 gaaggaaacc tgaactcacc aatgtaattg tagaagatga tatcttccta gtcctgtgga 11220  
 agagattttc aaagtacatt tttcagaaaa tgaagttcat gcagagaatg ttcgccctt 11280  
 attaagtggg gggcactcat ttaaattata accagtatct ggtaagtata agatttgtgt 11340  
 aaataaagta tataactgaa aggggcaagt ggccgtatag gctgggggtga tcgccgcacc 11400  
 25 ccccccttca ctaggcgct caaccctatg taccatgggg ttgttgtaaa tacttgaatg 11460  
 aatggagtaa tacgggtaac aaacttatag gccagatttg cccatttgc tttatagtgg 11520  
 tgacgacctg tataggtccg atctgatatc 11550

<210> 2

<211> 3635

30 <212> Білок

<213> пестивірус типу 2

<400> 2

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

UA 124140 C2

	225				230				235				240			
	Ile	Tyr	Lys	Gly	Arg	Thr	Lys	Asn	Lys	Lys	Thr	Pro	Asp	Gly	Val	Tyr
					245				250				255			
5	Arg	Tyr	Pro	Gly	Ala	Lys	Glu	Gly	Asp	Val	Val	Lys	Val	Arg	Lys	Met
				260					265				270			
	Leu	Lys	Asn	Trp	His	Ile	Ala	Leu	Val	Met	Tyr	Leu	Ile	His	Ile	Ile
			275					280				285				
	Thr	Pro	Gly	Leu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Phe	Leu	Lys	Asp	Glu	Asn	Ser
		290					295				300					
10	Thr	Gly	Ile	Asn	Gln	Ile	Leu	Trp	Gln	Arg	Gln	Ile	Asn	Arg	Ser	Leu
	305				310						315				320	
	His	Gly	Glu	Trp	Pro	Asn	Gln	Ile	Cys	His	Gly	Met	Pro	Asn	Glu	Thr
					325					330					335	
	Ile	Thr	Asp	Glu	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Gly	Met	Val	Asp	Thr	Ser	Pro
15				340					345				350			
	Arg	Thr	Asn	Tyr	Thr	Cys	Cys	Gln	Leu	Gln	Tyr	His	Glu	Trp	Lys	Lys
			355					360				365				
	His	Gly	Trp	Cys	Asn	Tyr	Pro	Gln	Lys	Gln	Ala	Trp	Ile	Thr	Arg	Ile
		370			375						380					
20	Thr	Ala	Leu	Gln	Ala	Asn	Leu	Thr	Gly	Pro	Tyr	Glu	Gly	Pro	Glu	Cys
	385				390						395				400	
	Ala	Val	Ile	Cys	Arg	Phe	Asn	Gly	Ser	Tyr	Asn	Ile	Val	Lys	Gln	Ala
				405					410						415	
	Arg	Asp	Glu	Val	Ser	Pro	Leu	Thr	Gly	Cys	Lys	Glu	Gly	His	Pro	Phe
25				420					425				430			
	Leu	Phe	Ser	Gly	Glu	Arg	Ser	Asp	Thr	Ser	Cys	Leu	Arg	Pro	Pro	Ser
			435					440				445				
	Thr	Ser	Trp	Val	Arg	Pro	Val	Lys	Met	Asp	Glu	Ala	Ser	Met	Ala	Asp
		450				455					460					
30	Gly	Phe	Ala	His	Gly	Val	Asp	Lys	Ala	Ile	Ile	Leu	Ile	Arg	Lys	Gly
	465				470						475				480	
	Ala	Ser	Gly	Ile	Ile	Asn	Phe	Leu	Asp	Thr	Ile	Gly	Arg	Trp	Leu	Pro
				485					490						495	
	Val	Ala	Glu	Ala	Thr	Ile	Val	Pro	Tyr	Cys	Asp	Thr	Tyr	Thr	Val	Thr
35				500					505				510			
	Gly	Met	Tyr	Val	His	Val	Lys	Asn	Cys	Leu	Pro	Arg	Gly	Leu	Pro	Lys
			515					520				525				
	His	Ser	Lys	Ile	Ile	Ser	Pro	Thr	Met	Ile	Tyr	Leu	Gly	Glu	Gly	Asp
		530				535					540					
40	Pro	Ala	His	Asn	Ile	Gln	His	Leu	Phe	Gly	Ser	Gly	Ile	Ala	Lys	Trp
	545				550						555				560	
	Val	Leu	Val	Leu	Leu	Gly	Ile	Leu	Gly	Glu	Trp	Tyr	Gly	Glu	Leu	Ala
				565					570						575	
	Ser	Thr	Ile	Tyr	Leu	Leu	Leu	Glu	Tyr	Gly	Ser	Glu	Trp	Leu	Glu	His
45				580					585				590			
	Glu	Ser	Leu	Val	Thr	Glu	Gly	Leu	Ile	Pro	Gly	Ile	Asn	Ile	Thr	Ile
			595					600				605				
	Glu	Leu	Pro	Ala	Ser	His	Thr	Val	Pro	Gly	Trp	Val	Trp	Val	Ala	Gly
		610				615					620					
50	Gln	Trp	Val	Cys	Val	Lys	Pro	Asp	Trp	Trp	Pro	Thr	Gln	Ile	Trp	Ile
	625				630						635				640	
	Glu	Thr	Val	Val	Ala	Glu	Thr	Trp	His	Ile	Leu	Lys	Ile	Leu	Ala	Ser
				645					650						655	
	Ala	Leu	Val	Asn	Ile	Val	Ala	Ala	Phe	Val	Asn	Leu	Glu	Leu	Val	Tyr
55				660					665				670			
	Leu	Val	Ile	Ile	Leu	Val	Lys	Ile	Ser	Lys	Gly	Asn	Leu	Ile	Gly	Ala
			675					680				685				
	Ile	Leu	Trp	Cys	Leu	Leu	Leu	Ser	Gly	Ala	Glu	Gly	Ser	Cys	Tyr	Lys
		690				695					700					
60	Arg	Gln	Asp	Tyr	Tyr	Asn	Thr	Gln	Leu	Val	Val	Glu	Glu	Lys	Thr	Gly
	705					710					715				720	

Val Glu Lys Arg Ser Ile Met Gly Lys Trp Thr Val Ile Thr Arg Glu  
 725 730 735  
 Gly Arg Glu Pro Arg Leu Met Glu Gln Ile Asn Met Val Leu Asn Asp  
 740 745 750  
 5 Ser Leu Ser Glu Thr Tyr Cys Tyr Asn Arg Leu Asn Thr Ser Thr Trp  
 755 760 765  
 Gly Arg Gln Pro Ala Arg Gln Arg Gly Cys Gly Gln Thr Val Pro Tyr  
 770 775 780  
 10 Trp Pro Gly Asp Asn Val Leu Glu Glu Gln Tyr Tyr Ser Thr Gly Tyr  
 785 790 795 800  
 Trp Val Asn Val Thr Gly Gly Cys Gln Leu Arg Glu Gly Val Trp Leu  
 805 810 815  
 Ser Arg Lys Gly Asn Val Gln Cys Gln Arg Asn Gly Ser Ser Leu Met  
 820 825 830  
 15 Leu Gln Leu Ala Ile Lys Glu Glu Asn Asp Thr Met Glu Ile Pro Cys  
 835 840 845  
 Asp Pro Val Glu Thr Glu Ser Met Gly Pro Val Ala Gln Gly Thr Cys  
 850 855 860  
 20 Val Tyr Ser Trp Ala Phe Ala Pro Arg Gly Trp Tyr Tyr Asn Arg Lys  
 865 870 875 880  
 Asp Gly Tyr Trp Leu Gln Tyr Ile Lys Lys Asn Asp Tyr Gln Tyr Trp  
 885 890 895  
 Thr Lys Met Pro Thr Ala Ser Ser Ala Ala Thr Met Tyr Arg His Leu  
 900 905 910  
 25 Leu Pro Leu Leu Val Ala Cys Leu Met Gly Gly Arg Ile Ser Val Trp  
 915 920 925  
 Phe Val Ala Met Leu Leu Ser Leu Gln Val Glu Ala Ser Glu Val Gly  
 930 935 940  
 30 Thr Lys Gln Leu Ala Val Thr Leu Thr Leu Trp Lys Met Asp Trp Thr  
 945 950 955 960  
 Glu Leu Leu Phe Tyr Ile Val Leu Met Leu Ala Val Lys Glu Glu Leu  
 965 970 975  
 Ile Lys Lys Ile Val Thr Ala Ser Leu Val Ala Leu Lys Asn Ser Pro  
 980 985 990  
 35 Val Ala Leu Ser Phe Leu Ile Val Leu Arg Leu Val Gly Gly Ser Glu  
 995 1000 1005  
 Ala Leu Pro Val Gly Leu Leu Leu Glu Lys Met Cys Ile Asp Gln  
 1010 1015 1020  
 40 Pro Glu Phe Gly Thr Pro Phe Leu Ile Tyr Leu Trp Asp Asn Trp  
 1025 1030 1035  
 Lys Trp Thr Val Leu Val Ser Phe Ser Ala Leu Asn His Glu Lys  
 1040 1045 1050  
 Thr Ile Lys Leu Ala Arg Lys Leu Leu Leu Ala Thr His Ile Thr  
 1055 1060 1065  
 45 Ala Leu Thr Leu Thr Gly Leu Ser Asp Ser Ile Phe Tyr Met Met  
 1070 1075 1080  
 Leu Ile Thr Thr Asn Leu Leu Ile Lys Thr Phe Ile Tyr Leu Leu  
 1085 1090 1095  
 50 Gly Ala Ser Met Asn Trp Val Glu Arg Glu Lys Lys Lys Leu Leu  
 1100 1105 1110  
 Val Lys Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Lys Ala Val Thr Cys Ser Gln  
 1115 1120 1125  
 Asp Glu Asn Val Leu Glu Asn Lys Phe Asn Lys Ile Thr Val Asn  
 1130 1135 1140  
 55 Ala Asp Phe Thr Pro Cys Lys Leu Glu Leu Leu Gln Leu Leu Arg  
 1145 1150 1155  
 Ala Phe Leu Val Ser Leu Cys Phe Ser Tyr Tyr Lys Pro Leu Leu  
 1160 1165 1170  
 Tyr Ala Glu Thr Thr Leu Thr Val Ile Val Ile Gly Val Gln Glu  
 1175 1180 1185  
 60 Tyr Asn Val Ala Met Ala Arg Gly Arg Ser Val Val His Arg Leu

UA 124140 C2

	1190		1195		1200
	Leu Ala Met Ala Tyr Tyr	Ile Tyr Gly Arg Ile	Gln Gly Asp Met		
	1205		1210		1215
5	Phe Gln Leu Ala Thr Ile	Gln Cys Leu Leu Ser	Ser Pro Arg Lys		
	1220		1225		1230
	Ile Met Lys His Met Val	Glu Asn Pro Thr Leu	Lys Lys Leu Trp		
	1235		1240		1245
	Gln Gly Glu Thr Glu Leu	Phe Asn Gln Gly Val	Ser Gln Ser Lys		
	1250		1255		1260
10	Ile Val Asn Pro Lys Lys	Ile Gly Leu Glu Glu	Leu His Lys Gly		
	1265		1270		1275
	Met Cys Gly Leu Pro Thr	Val Val Gln Asn Leu	Val Ile Tyr Ala		
	1280		1285		1290
	Lys Lys Asn Asp Ser Leu	Ile Leu Gly Glu Leu	Gly Tyr Pro Pro		
15	1295		1300		1305
	Gly Asp Leu Thr Ser Asp	Gly Trp Glu Ile Leu	Gly Pro Gly Arg		
	1310		1315		1320
	Ile Pro Lys Ile Thr Asn	Val Glu Ser Ala Lys	Met Asp Leu Leu		
	1325		1330		1335
20	Ser Lys Leu Met Thr Phe	Leu Gly Ile Glu Ser	Ser Arg Val Pro		
	1340		1345		1350
	Arg Thr Pro Val His Ser	Thr Arg Lys Leu Leu	Lys Ile Val Arg		
	1355		1360		1365
	Gly Leu Glu Thr Gly Trp	Gly Tyr Thr His Ala	Gly Gly Ile Ser		
25	1370		1375		1380
	Ser Ala Lys His Val Thr	Gly Glu Lys Asn Leu	Met Thr His Met		
	1385		1390		1395
	Glu Gly Arg Lys Gly Lys	Tyr Ile Leu Gln Ser	Gln Glu His Gly		
	1400		1405		1410
30	Ala Asp Glu Val Glu Tyr	Gly Val Lys Thr Asp	Gln Lys Ala Pro		
	1415		1420		1425
	Asp Asn Ala Leu Cys Tyr	Cys Phe Asn Pro Glu	Ala Thr Asn Ile		
	1430		1435		1440
	Lys Gly Glu Thr Gly Ala	Met Val Phe Met Lys	Lys Ile Gly Lys		
35	1445		1450		1455
	Lys Trp Thr Leu Val Thr	Ser Asp Gly Asn Lys	Ala Tyr Tyr Asn		
	1460		1465		1470
	Val Asn Asn Leu Lys Gly	Trp Ser Gly Leu Pro	Ile Met Leu His		
	1475		1480		1485
40	Ser Thr Gly Ala Ile Val	Gly Arg Ile Lys Ser	Ala Tyr Ser Asp		
	1490		1495		1500
	Glu Asn Asp Leu Val Glu	Glu Leu Ile Asp Ser	Arg Thr Ile Ser		
	1505		1510		1515
	Lys Ser Asn Glu Thr Asn	Leu Asp His Leu Ile	Lys Glu Leu Ala		
45	1520		1525		1530
	Asp Met Arg Arg Gly Glu	Phe Arg Ser Ile Thr	Leu Gly Thr Gly		
	1535		1540		1545
	Ala Gly Lys Thr Thr Glu	Leu Pro Arg Gln Tyr	Leu Thr Thr Val		
	1550		1555		1560
50	Gly Ala His Lys Ser Val	Leu Val Leu Val Pro	Leu Lys Ala Pro		
	1565		1570		1575
	Ala Glu Ser Val Cys Arg	Phe Met Arg Ser Lys	Tyr Pro Thr Ile		
	1580		1585		1590
	Asn Phe Ser Leu Arg Val	Gly Glu Arg Lys Glu	Gly Asp Val Ser		
55	1595		1600		1605
	Ser Gly Ile Thr Tyr Ala	Thr Tyr Gly Phe Cys	Cys Gln Leu Asn		
	1610		1615		1620
	Leu Val Gln Leu Lys Glu	Trp Ile Ser Arg Tyr	Ser Met Val Phe		
	1625		1630		1635
60	Phe Asp Glu Tyr His Thr	Ala Thr Pro Glu Gln	Ile Ala Ile Ile		
	1640		1645		1650

UA 124140 C2

	Ser	Lys	Ile	His	Ala	Leu	Lys	Val	Lys	Thr	Arg	Ile	Val	Ala	Met
		1655					1660					1665			
	Ser	Ala	Thr	Pro	Pro	Gly	Thr	Val	Thr	Thr	Glu	Gly	Arg	Lys	Phe
		1670					1675					1680			
5	Asp	Ile	Glu	Glu	Val	Gly	Val	Ala	Thr	Ile	Glu	Lys	Gly	Glu	Glu
		1685					1690					1695			
	Pro	Lys	Arg	Gly	Arg	Ile	Ala	Val	Ala	Gly	Met	Gln	Val	Pro	Leu
		1700					1705					1710			
10	Glu	Asp	Leu	Thr	Gly	Lys	Asn	Cys	Leu	Val	Phe	Val	Ala	Thr	Lys
		1715					1720					1725			
	Glu	Ala	Ala	Glu	Thr	Glu	Ala	Lys	Glu	Leu	Arg	Thr	Arg	Gly	Ile
		1730					1735					1740			
	Asn	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Ile	Asp	Pro	Lys	Thr	Leu	Glu
		1745					1750					1755			
15	His	Gly	Met	Thr	Asn	Gln	Pro	Tyr	Cys	Ile	Val	Ala	Thr	Asn	Ala
		1760					1765					1770			
	Ile	Glu	Ser	Gly	Ile	Thr	Cys	Pro	Asp	Leu	Asp	Val	Val	Ile	Asp
		1775					1780					1785			
20	Thr	Met	Gln	Lys	Tyr	Glu	Lys	Val	Val	Asn	Phe	Ser	Ala	Lys	Met
		1790					1795					1800			
	Pro	Leu	Ile	Val	Thr	Ser	Leu	Val	Lys	Lys	Lys	Ile	Thr	Arg	Glu
		1805					1810					1815			
	Glu	Gln	Gly	Gln	Arg	Lys	Gly	Arg	Val	Gly	Arg	Gln	Lys	Lys	Gly
		1820					1825					1830			
25	Lys	Tyr	Tyr	Tyr	Pro	Ser	Gly	Val	Val	Pro	Asn	Gly	Ser	Lys	Asp
		1835					1840					1845			
	Leu	Ser	Tyr	Leu	Ile	Leu	Gln	Ala	Gln	Glu	Tyr	Gly	Val	Leu	Glu
		1850					1855					1860			
30	Gln	Val	Asn	Ile	Thr	Glu	Tyr	Phe	Ile	Ile	Met	Asn	Glu	Asp	Trp
		1865					1870					1875			
	Gly	Leu	Tyr	Asp	Val	Asp	Glu	Val	Glu	Val	Arg	Ile	Leu	Glu	Arg
		1880					1885					1890			
	Met	Asn	Lys	Glu	Ile	Leu	Leu	Pro	Leu	Gly	Ile	Val	Glu	Lys	Gln
		1895					1900					1905			
35	Ile	Leu	Glu	Arg	Ser	Thr	His	Pro	Glu	Lys	Val	Ala	Leu	Leu	Tyr
		1910					1915					1920			
	Asn	Lys	Leu	Val	Gln	Lys	Asn	Pro	Ile	Val	Tyr	Pro	Arg	Val	Gln
		1925					1930					1935			
40	Glu	Gly	Glu	Val	Ser	Lys	Glu	Tyr	Asn	Thr	Tyr	Asn	Leu	Ala	Val
		1940					1945					1950			
	Tyr	Asp	Lys	Leu	Lys	Asp	Val	Asn	Pro	Gln	Ala	Ile	Tyr	Val	Leu
		1955					1960					1965			
	Ala	Glu	Glu	Glu	Arg	Ala	Thr	Glu	Met	Met	Gly	Leu	Glu	Phe	Glu
		1970					1975					1980			
45	Gln	Asp	Pro	Ser	Asp	Leu	Gln	Asp	Ser	Val	Val	Gln	Leu	Cys	Glu
		1985					1990					1995			
	Asp	Ile	Lys	Arg	Tyr	Thr	Lys	Leu	Ser	Gly	Ile	Thr	Glu	Lys	Leu
		2000					2005					2010			
50	Leu	Val	Gly	Thr	Met	Val	Gly	Tyr	Ile	Gly	Tyr	Lys	Ala	Leu	Thr
		2015					2020					2025			
	Arg	Asn	His	Val	Pro	Trp	Val	Ser	Lys	Glu	Tyr	Cys	Tyr	Glu	Leu
		2030					2035					2040			
	Thr	Asp	Ser	Pro	Asp	Thr	Tyr	Glu	Asn	Ser	Phe	Ala	Pro	Leu	Asp
		2045					2050					2055			
55	Val	Asp	Val	Gln	Asn	Ser	Gly	Glu	Gly	Lys	His	Pro	Glu	Gln	Leu
		2060					2065					2070			
	Ala	Asp	His	Gln	Leu	Arg	Gln	Leu	Leu	Glu	Thr	Gly	Arg	Asp	Lys
		2075					2080					2085			
60	Ala	Ile	Asp	Phe	Leu	Lys	Gly	Ile	Arg	Glu	Phe	Thr	Ser	Gly	Ala
		2090					2095					2100			
	Ile	Asn	Ser	Pro	Lys	Ala	Leu	Ser	Ile	Trp	Glu	Lys	Ile	Tyr	Gln

UA 124140 C2

	2105					2110					2115				
	Tyr	Leu	Lys	Lys	His	Gln	Gly	Glu	Ile	Ile	Ser	Ser	Ala	Ala	Trp
		2120					2125					2130			
5	Gly	Ser	Ala	Thr	Ala	Leu	His	Asp	Ser	Ile	Lys	Ser	Arg	Leu	Gly
		2135					2140					2145			
	Asp	Glu	Val	Ala	Thr	Ala	Val	Ile	Ile	Leu	Lys	Tyr	Leu	Ala	Phe
		2150					2155					2160			
	Gly	Glu	Arg	Glu	Leu	Ser	Gly	Leu	Thr	Arg	Gln	Val	Leu	Ile	Asp
		2165					2170					2175			
10	Ile	Ile	Val	Tyr	Tyr	Ile	Val	Asn	Lys	Pro	Arg	Phe	Glu	Gly	Asp
		2180					2185					2190			
	Asp	Tyr	Ala	Lys	Arg	Lys	Gly	Arg	Arg	Leu	Val	Ile	Glu	Val	Leu
		2195					2200					2205			
	Met	Gly	Ala	Leu	Ala	Thr	Tyr	Ala	Val	Ser	Asn	Phe	Trp	Gly	Val
		2210					2215					2220			
15	Ser	Ile	Asn	Lys	Ile	Leu	Gln	Pro	Ile	Ser	Asp	Tyr	Leu	Pro	Tyr
		2225					2230					2235			
	Ala	Thr	Ala	Thr	Leu	Ala	Phe	Leu	Arg	Pro	Thr	Phe	Met	Glu	Ser
		2240					2245					2250			
20	Ala	Val	Val	Val	Ala	Ser	Ser	Ile	Tyr	Arg	Ala	Phe	Leu	Ser	Ile
		2255					2260					2265			
	Lys	His	Ala	Glu	Asn	Arg	Ser	Leu	Val	Thr	Gln	Val	Ala	Ser	Ala
		2270					2275					2280			
	Ala	Leu	Glu	Val	Met	Gly	Leu	Thr	Pro	Val	Ser	Ala	Gly	Leu	Gly
25		2285					2290					2295			
	Val	Leu	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Cys	Val	Leu	His	Met	Asn	Ile	Asp
		2300					2305					2310			
	Lys	Asn	Glu	Glu	Lys	Arg	Thr	Leu	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Val	Lys
		2315					2320					2325			
30	Asn	Phe	Ile	Asp	Gln	Ala	Ala	Leu	Asp	Glu	Leu	Asp	Lys	Leu	Glu
		2330					2335					2340			
	Pro	Glu	Lys	Ile	Ile	Leu	Ser	Leu	Leu	Glu	Gly	Ile	Gln	Thr	Cys
		2345					2350					2355			
	Thr	Asn	Pro	Ile	Arg	Ala	Ile	Met	Ile	Leu	Tyr	Arg	Val	Tyr	Tyr
35		2360					2365					2370			
	Lys	Gly	Glu	Thr	Phe	Thr	Glu	Ala	Leu	Ser	Lys	Met	Ala	Gly	Lys
		2375					2380					2385			
	Ser	Leu	Ile	Val	Met	Val	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Glu	Leu	Thr	Gly
		2390					2395					2400			
40	Gln	Thr	Gln	Gly	Gly	Tyr	Ile	Asp	Leu	Ser	Ala	Asn	Leu	Leu	Thr
		2405					2410					2415			
	Phe	Leu	Leu	Glu	Lys	Leu	Lys	Lys	Met	Thr	Asn	Leu	Ala	Ile	Gly
		2420					2425					2430			
	Glu	Ala	Arg	Lys	Val	Leu	Leu	Pro	Ile	Pro	Tyr	Leu	Tyr	Cys	Glu
45		2435					2440					2445			
	Thr	Trp	Gln	Ser	Asp	Ala	Arg	Ile	Lys	Ala	Pro	Glu	Ser	Tyr	Asp
		2450					2455					2460			
	Gln	Val	Val	Val	Glu	Cys	Lys	Cys	Gly	Ala	Ser	Ala	Arg	Tyr	Ser
		2465					2470					2475			
50	Phe	Arg	Asp	Gly	Val	His	Glu	Ile	Leu	Glu	Glu	Lys	Arg	Thr	Asn
		2480					2485					2490			
	Trp	Cys	Lys	Asn	Phe	Phe	Leu	Trp	Gly	Pro	Asn	Phe	His	Asn	Pro
		2495					2500					2505			
	Asp	Pro	Lys	Arg	Met	Thr	Phe	Tyr	Glu	Tyr	Gly	Gln	Ala	Lys	Lys
55		2510					2515					2520			
	Cys	Pro	Val	Ile	Ile	Ile	Gly	Glu	Asp	Ile	Thr	Phe	Gly	Lys	Tyr
		2525					2530					2535			
	Gly	Ile	Tyr	Ile	Lys	Phe	Gly	His	Arg	Pro	Asp	Gly	Gly	Arg	Leu
		2540					2545					2550			
60	Ile	Arg	Gly	Thr	Thr	His	Ala	Thr	Ile	Ser	Arg	Glu	Glu	Leu	Leu
		2555					2560					2565			

UA 124140 C2

	Glu	Ile	Leu	Thr	Ala	Pro	Ser	Gln	Val	Ala	Ile	Gly	Lys	Val	Lys
	2570						2575					2580			
	Leu	Thr	Asp	Tyr	Cys	Asn	Gln	Lys	Gly	Ile	Ile	Asp	Arg	Lys	Leu
	2585						2590					2595			
5	Ala	Val	Leu	Glu	Gly	Asp	Lys	Ile	His	Phe	Trp	Lys	Ala	His	Arg
	2600						2605					2610			
	Gly	Ser	Lys	Ile	Thr	Asp	Gln	Leu	Thr	Ile	Glu	Asn	Leu	Thr	Asp
	2615						2620					2625			
10	Asp	Leu	Gly	Ser	Glu	Ile	Arg	Asp	Ile	Thr	Trp	Glu	Leu	Tyr	Thr
	2630						2635					2640			
	Gly	Gly	Thr	Cys	Thr	Val	Lys	Gly	Val	Ser	Leu	Arg	Ser	Cys	Ala
	2645						2650					2655			
	Pro	Gly	His	Arg	Thr	Lys	Ala	Met	Val	Leu	Cys	Asp	Cys	Thr	Asp
	2660						2665					2670			
15	Val	Leu	Ser	Pro	Cys	Tyr	Leu	Ile	Asn	Gly	Arg	Arg	Pro	Ser	Pro
	2675						2680					2685			
	Phe	Asp	Val	Ala	Glu	Gly	Tyr	Glu	Cys	His	His	Arg	Lys	Pro	Arg
	2690						2695					2700			
20	Ala	Thr	Tyr	Glu	Asp	Leu	Glu	Met	Glu	Glu	Ile	Leu	Lys	Arg	Arg
	2705						2710					2715			
	Val	Pro	Val	Tyr	Asp	Pro	Leu	Cys	Leu	Phe	Asp	Thr	Asp	Ser	Lys
	2720						2725					2730			
	Leu	Leu	Pro	Pro	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Leu	Glu	Glu	Asp	Gln	Glu	Asp
	2735						2740					2745			
25	Phe	Glu	Tyr	Ala	Leu	Arg	Cys	Trp	Gly	Leu	Gly	Val	Tyr	Val	Ala
	2750						2755					2760			
	Asp	Gly	Pro	Val	Thr	Ser	Pro	Pro	Asp	Ile	Arg	Ile	His	His	Ser
	2765						2770					2775			
30	Ser	Val	Leu	Leu	Leu	Leu	Thr	Pro	Gly	Val	Asn	Ser	Glu	Leu	Pro
	2780						2785					2790			
	Leu	Gln	Tyr	Ile	Arg	Cys	Tyr	Pro	His	Gln	Ala	Glu	Val	Asp	Ile
	2795						2800					2805			
	Tyr	Ile	Arg	Ser	Gln	Leu	Leu	Glu	Glu	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Glu
	2810						2815					2820			
35	Val	Glu	Gly	Ser	Gln	Glu	Asp	Gly	Asp	Glu	Gly	Met	Gly	Asp	Ala
	2825						2830					2835			
	Val	Ile	Glu	Asp	Glu	Asp	Thr	Ser	Ser	Thr	Thr	Glu	Ser	Ile	Pro
	2840						2845					2850			
40	Pro	Leu	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Glu	Glu	Pro	Ile	Thr	Tyr	Val
	2855						2860					2865			
	Val	Ile	Arg	Gly	Leu	Gln	Glu	Glu	Arg	Tyr	Ala	Ser	His	Leu	Lys
	2870						2875					2880			
	Leu	Asn	Asp	Trp	Ile	Ser	Glu	Asn	Ile	Ser	Glu	Pro	His	Arg	Val
	2885						2890					2895			
45	Gln	Ile	Met	Leu	Asp	Gly	Thr	Val	Arg	Val	Thr	Ile	Lys	Glu	Gly
	2900						2905					2910			
	Lys	Val	Lys	His	Leu	Phe	Gly	Val	Tyr	Arg	Ile	Glu	Asn	Ser	Leu
	2915						2920					2925			
50	Glu	Ala	Met	Phe	Lys	Glu	Thr	Ile	Ala	Asp	Leu	Pro	Val	Ala	Thr
	2930						2935					2940			
	Gln	Pro	Pro	Gln	Gly	Pro	Val	Tyr	Thr	Ala	Lys	Glu	Leu	Ala	Gln
	2945						2950					2955			
	Gly	Asn	Ile	Ala	Pro	Val	Gln	Pro	Ala	Ala	Asn	Tyr	Tyr	Gly	Met
	2960						2965					2970			
55	Ile	Glu	Gly	Arg	Gly	Asp	Pro	Met	Thr	Ala	Phe	Glu	Ala	Leu	Ser
	2975						2980					2985			
	Val	Leu	Arg	Ser	Gln	Lys	Val	Leu	Ala	Lys	Asp	Val	Lys	Val	Asn
	2990						2995					3000			
60	Thr	Arg	Arg	Ala	Gln	Val	Phe	Leu	Asn	Lys	Val	Arg	Arg	Ile	Ala
	3005						3010					3015			
	Glu	Val	Arg	Ala	Ser	Glu	Leu	Thr	Leu	Lys	Cys	Leu	Pro	Ile	Leu

	3020		3025		3030
	Gly Lys Val Asn Gly Arg	Lys Leu Ile Arg Glu Glu Thr Asn Ile			
	3035		3040		3045
5	Pro Asn Gln Arg Leu Ala Ser	Ile Met Thr Ser Ile Gly Ile Arg			
	3050		3055		3060
	Leu Glu Lys Leu Pro Val Val	Arg Ala Asn Thr Ser Gly Ser Lys			
	3065		3070		3075
	Phe Arg Gln Ser Ile Leu Glu	Lys Met Asp Lys Tyr Glu Asn Glu			
	3080		3085		3090
10	Gln Val Pro Gly Leu His Glu	Lys Met Trp Ala Ala Phe Leu Ala			
	3095		3100		3105
	Thr Ala Arg Gln Asp Leu Arg	Asn Thr Tyr Glu Glu Val Thr Tyr			
	3110		3115		3120
	Leu Glu Leu Glu Ala Gly Ile	Asn Arg Lys Gly Ala Pro Gly Phe			
15	3125		3130		3135
	Phe Glu Lys Glu Ser Ser Ile	Gly Glu Val Leu Glu Lys Lys Glu			
	3140		3145		3150
	Lys Ile Asp Val Thr Ile Gln	Glu Ile Glu Lys Gly Asn His Leu			
	3155		3160		3165
20	Tyr Tyr Glu Thr Ala Met Pro	Lys Asn Glu Lys Arg Asp Val Leu			
	3170		3175		3180
	Asp Asp Trp Leu Ser Glu Asp	Phe Val Thr Tyr Lys Lys Pro Arg			
	3185		3190		3195
	Val Ile Gln Tyr Pro Glu Ala	Val Thr Arg Leu Ala Ile Thr Lys			
25	3200		3205		3210
	Ile Met Tyr Lys Trp Val Lys	Gln Lys Pro Ile Val Ile Pro Gly			
	3215		3220		3225
	Tyr Glu Gly Lys Thr Pro Ile	Phe Glu Ile Phe Glu Lys Val Ser			
	3230		3235		3240
30	Ala Asp Trp Ala Gln Phe Lys	Asn Pro Val Ala Val Ser Phe Asp			
	3245		3250		3255
	Thr Arg Ala Trp Asp Thr Gln	Val Thr Arg Glu Asp Leu Arg Leu			
	3260		3265		3270
	Val Gly Arg Ile Gln Lys Tyr	Tyr Tyr Lys Lys Lys Tyr Trp Lys			
35	3275		3280		3285
	Phe Ile Asp Asn Leu Thr Ala	Met Met Glu Glu Val Pro Val Ile			
	3290		3295		3300
	Thr Val Glu Gly Asp Met Phe	Leu Arg Val Gly Gln Arg Gly Ser			
	3305		3310		3315
40	Gly Gln Pro Asp Thr Ser Ala	Gly Asn Ser Met Leu Asn Val Leu			
	3320		3325		3330
	Thr Met Leu Val Ala Phe Ser	Glu Ser Thr Asn Leu Pro Ile Ala			
	3335		3340		3345
	Ala Ala Trp Lys Ala Cys Arg	Ile His Val Cys Gly Asp Asp Gly			
45	3350		3355		3360
	Phe Leu Ile Thr Glu Ser Glu	Leu Gly Arg Lys Phe Ala Glu Lys			
	3365		3370		3375
	Gly Val Pro Leu Leu Ala Ala	Phe Gly Lys Pro Gln Lys Ile Thr			
	3380		3385		3390
50	Glu Gly Ala Ser Leu Lys Val	Thr Ser Asn Phe Asp Gly Ile Glu			
	3395		3400		3405
	Phe Cys Ser His Thr Pro Ile	Arg Val Gln Thr Pro Asn Ile Arg			
	3410		3415		3420
	Trp Met Pro Ala Arg Pro Thr	Ala Thr Ile Leu Gly Lys Met Ser			
55	3425		3430		3435
	Thr Arg Leu Gly Glu Gly Ala	Thr Arg Ser Gly Glu Glu Tyr Glu			
	3440		3445		3450
	Lys Gln Val Ala Phe Ala Tyr	Leu Leu Met Tyr Pro Trp Asn Pro			
	3455		3460		3465
60	Leu Val Arg Arg Ile Ser Leu	Leu Leu Leu Ser Thr Thr Asp Pro			
	3470		3475		3480

UA 124140 C2

	Met Gly Lys Glu Glu Thr Pro Cys Ser Asp Glu Gly Val Lys Tyr	
	3485 3490 3495	
	Val Gly Asp Pro Ile Ala Ala Tyr Arg Asp Val Trp Gly His Lys	
	3500 3505 3510	
5	Leu Glu Asp Val Gly His Val Asp Gln Pro Gln Leu Ser Arg Met	
	3515 3520 3525	
	Asn Tyr Ser Met Thr Tyr Leu Gly Ile Trp Lys Pro Lys Thr Ser	
	3530 3535 3540	
10	Gln Arg Leu Val Glu Gln Cys Cys Arg Leu Ala Glu Lys Ser Asn	
	3545 3550 3555	
	Cys Val Val Arg Ala Asp Ser Leu Ile Lys Lys Lys Val Lys Ile	
	3560 3565 3570	
	Thr Tyr Asp Pro Gly Ile Gly Val Ala Gln Val Ile Arg Arg Trp	
	3575 3580 3585	
15	Glu Glu Leu Glu Trp Thr Arg Arg Lys Pro Glu Leu Thr Asn Val	
	3590 3595 3600	
	Ile Val Glu Asp Asp Ile Phe Leu Val Leu Trp Lys Arg Phe Ser	
	3605 3610 3615	
20	Lys Tyr Ile Phe Gln Lys Met Lys Phe Met Gln Arg Met Phe Ala	
	3620 3625 3630	
	Pro Tyr	
	3635	
	<210> 3	
	<211> 540	
25	<212> ДНК	
	<213> пестивірус типу 2	
	<400> 3	
	atggaaaaaac agattgcata ttacttaaaa aaagaaaaac aaagaaatgg gtggacggaa	60
	ctggtggtag gagaaagtca taaaaaata accacgcttt ctggaagac ctatcgaggc	120
30	acctgggaaa tggagaaacg gccaaatcct tatggaacct atctccccag acctagtccc	180
	caacagctta cagccctaca cccccacca gtgggtgaatt gtaagggtgt tgagtacaag	240
	gagatggacc ctaattatgg tgattgcccc aatacgaacg ggggtgtttgt tgacgaaaag	300
	ggtagaaggc tgagcagccc tccattaggc atttggaga taagattgga ctatagtgac	360
	ttggtaaaca taagcagacc aacccccgct agtgggaaaa actcttacca agttgagacc	420
35	tgcagtgggg agctggctac agtgacactg gtacacaata ggggtgctcgt ggaagattgc	480
	agggggctat accaatgga acccaactgt gaaggaattg tgctctatgt gaaaacttgt	540
	<210> 4	
	<211> 180	
	<212> Білок	
40	<213> пестивірус типу 2	
	<400> 4	
	Met Glu Lys Gln Ile Ala Tyr Tyr Leu Lys Lys Glu Lys Gln Arg Asn	
	1 5 10 15	
45	Gly Trp Thr Glu Leu Val Val Gly Glu Ser His Thr Lys Ile Thr Thr	
	20 25 30	
	Leu Ser Gly Lys Thr Tyr Arg Gly Thr Trp Glu Met Glu Lys Arg Pro	
	35 40 45	
	Asn Pro Tyr Gly Thr Tyr Leu Pro Arg Pro Ser Pro Gln Gln Leu Thr	
	50 55 60	
50	Ala Leu His Pro His Pro Val Val Asn Cys Lys Val Val Glu Tyr Lys	
	65 70 75 80	
	Glu Met Asp Pro Asn Tyr Gly Asp Cys Pro Asn Thr Asn Gly Val Phe	
	85 90 95	
55	Val Asp Glu Lys Gly Arg Arg Leu Ser Ser Pro Pro Leu Gly Ile Trp	
	100 105 110	
	Lys Ile Arg Leu Asp Tyr Ser Asp Leu Val Asn Ile Ser Arg Pro Thr	
	115 120 125	
	Pro Ala Ser Gly Lys Asn Ser Tyr Gln Val Glu Thr Cys Ser Gly Glu	
	130 135 140	
60	Leu Ala Thr Val Thr Leu Val His Asn Arg Val Leu Val Glu Asp Cys	
	145 150 155 160	

UA 124140 C2

Arg Gly Leu Tyr Gln Trp Lys Pro Asn Cys Glu Gly Ile Val Leu Tyr  
165 170 175

Val Lys Thr Cys  
180

5 <210> 5  
<211> 333  
<212> ДНК  
<213> пестивірус типу 2  
<400> 5

10 tctgactggg sagatcaggt agaaaaacag gagaagaaga gcccccaaaa accacagcgg 60  
ccaccaaggc gagaccsacg aaaaggggta caaccacaag tccccaaaga gactgaggtc 120  
acagaaaaga agagacaacc tagtgtcacc ttagtatacgg gggggcagaa ggccaagtc 180  
atctacaaag gcaggaccaaa aaacaaaaag accccggatg gagtctatag ataccagga 240  
gctaaagaag gggacgtagt aaaggtcagg aagatgctga agaattggca tatagcctta 300  
15 gtgatgtacc tgatacatat cataactcca ggc 333  
<210> 6  
<211> 111  
<212> Білок  
<213> пестивірус типу 2  
<400> 6

20 Ser Asp Trp Ala Asp Gln Val Glu Lys Gln Glu Lys Glu Ser Pro Pro  
1 5 10 15  
Lys Pro Gln Arg Pro Pro Arg Arg Asp Pro Arg Lys Gly Leu Gln Pro  
20 25 30

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

35 <210> 7  
<211> 627  
<212> ДНК  
<213> пестивірус типу 2  
<400> 7

40 cttgccaagg tccagtgggt cttaaaagat gaaaactcga cggggatcaa ccagatactg 60  
tggcaaacag agatcaacag atccttacat ggagaatggc ctaaccagat ctgccacggc 120  
atgcccaatg aaactatcac ggatgaggaa ttacgcagtc tgggaatggg agatacaagc 180  
cctagaacaa actacacctg ttgccagttg caatatcatg agtggaaaga acatggttgg 240  
tgcaactatc sacaaaaaca ggcgtggatc acgaggataa cggccctaca agctaacctt 300  
45 accgggcctt atgagggacc tgagtgcgcc gtcactctgcc gatttaacgg cagctacaac 360  
atcgtaaaac aggccagaga tgaggtgagt ccaactgacag ggtgcaagga agggcatcct 420  
tttctattct ctggtgaaag atccgacacc tcatgcctaa ggcccccttc cactagttgg 480  
gtaagaccag tgaaaatgga cgaggcatca atggccgatg gctttgcca tggggttgat 540  
aaggcgataa tactaatcag gaagggggca tcaggaataa tcaatttctt agacactatt 600  
50 gggaggtggc taccggtagc tgaagca 627  
<210> 8  
<211> 209  
<212> Білок  
<213> пестивірус типу 2  
<400> 8

55 Leu Ala Lys Val Gln Trp Phe Leu Lys Asp Glu Asn Ser Thr Gly Ile  
1 5 10 15  
Asn Gln Ile Leu Trp Gln Arg Gln Ile Asn Arg Ser Leu His Gly Glu  
20 25 30

60 Trp Pro Asn Gln Ile Cys His Gly Met Pro Asn Glu Thr Ile Thr Asp  
35 40 45

UA 124140 C2

Glu Glu Leu Arg Ser Leu Gly Met Val Asp Thr Ser Pro Arg Thr Asn  
50 55 60  
Tyr Thr Cys Cys Gln Leu Gln Tyr His Glu Trp Lys Lys His Gly Trp  
65 70 75 80  
5 Cys Asn Tyr Pro Gln Lys Gln Ala Trp Ile Thr Arg Ile Thr Ala Leu  
85 90 95  
Gln Ala Asn Leu Thr Gly Pro Tyr Glu Gly Pro Glu Cys Ala Val Ile  
100 105 110  
10 Cys Arg Phe Asn Gly Ser Tyr Asn Ile Val Lys Gln Ala Arg Asp Glu  
115 120 125  
Val Ser Pro Leu Thr Gly Cys Lys Glu Gly His Pro Phe Leu Phe Ser  
130 135 140  
Gly Glu Arg Ser Asp Thr Ser Cys Leu Arg Pro Pro Ser Thr Ser Trp  
145 150 155 160  
15 Val Arg Pro Val Lys Met Asp Glu Ala Ser Met Ala Asp Gly Phe Ala  
165 170 175  
His Gly Val Asp Lys Ala Ile Ile Leu Ile Arg Lys Gly Ala Ser Gly  
180 185 190  
20 Ile Ile Asn Phe Leu Asp Thr Ile Gly Arg Trp Leu Pro Val Ala Glu  
195 200 205  
Ala  
<210> 9  
<211> 600  
25 <212> ДНК  
<213> пестивірус типу 2  
<400> 9  
actatagtac catattgtga tacttacact gtgacagggga tgtatgtcca tgtaaagaat 60  
tgctcccta gagggttacc taagcattca aaaataatct ccccgacaat gatatatctg 120  
30 ggagaaggag acccgccca taatatccag cacttatttg gctcaggat agcaaagtgg 180  
gtcctagttc tactcgggat tctgggtgag tggatggag aattggcttc cacaaatatac 240  
ttactactag aatacgggtc tgagtgggtg gaacatgaaa gcttgggtcac ggaagggttg 300  
attcctggca ttaatattac aatagaactc ccagctagtc atacagtgcc tggttgggtg 360  
tgggtcgcag gccagtgggt atgctggaag ccagactggg ggcctacaca gatttggatt 420  
35 gaaaccgtgg tggcagagac ctggcatata ctaaaaatat tggcgtcagc cctgggtgaac 480  
atagttgcag cgttcgtaaa cctggaattg gtttatctgg tcataatact agtcaaaata 540  
tcaaaagga acctgatagg tgccatatta tgggtgcttg tactgtcagg cgctgaaggc 600  
<210> 10  
<211> 200  
40 <212> Білок  
<213> пестивірус типу 2  
<400> 10  
Thr Ile Val Pro Tyr Cys Asp Thr Tyr Thr Val Thr Gly Met Tyr Val  
1 5 10 15  
45 His Val Lys Asn Cys Leu Pro Arg Gly Leu Pro Lys His Ser Lys Ile  
20 25 30  
Ile Ser Pro Thr Met Ile Tyr Leu Gly Glu Gly Asp Pro Ala His Asn  
35 40 45  
50 Ile Gln His Leu Phe Gly Ser Gly Ile Ala Lys Trp Val Leu Val Leu  
50 55 60  
Leu Gly Ile Leu Gly Glu Trp Tyr Gly Glu Leu Ala Ser Thr Ile Tyr  
65 70 75 80  
Leu Leu Leu Glu Tyr Gly Ser Glu Trp Leu Glu His Glu Ser Leu Val  
85 90 95  
55 Thr Glu Gly Leu Ile Pro Gly Ile Asn Ile Thr Ile Glu Leu Pro Ala  
100 105 110  
Ser His Thr Val Pro Gly Trp Val Trp Val Ala Gly Gln Trp Val Cys  
115 120 125  
60 Val Lys Pro Asp Trp Trp Pro Thr Gln Ile Trp Ile Glu Thr Val Val  
130 135 140  
Ala Glu Thr Trp His Ile Leu Lys Ile Leu Ala Ser Ala Leu Val Asn

UA 124140 C2

145 150 155 160  
 Ile Val Ala Ala Phe Val Asn Leu Glu Leu Val Tyr Leu Val Ile Ile  
 165 170 175  
 Leu Val Lys Ile Ser Lys Gly Asn Leu Ile Gly Ala Ile Leu Trp Cys  
 5 180 185 190  
 Leu Leu Leu Ser Gly Ala Glu Gly  
 195 200  
 <210> 11  
 <211> 1116  
 10 <212> ДНК  
 <213> пестивірус типу 2  
 <400> 11  
 tcgtgctaca aaagacaaga ctattacaac acccaactag tcgtcgaaga aaaaacagggc 60  
 gtagaaaaac gatctataat gggcaagtgg accgtgataa ccaggggaagg tcgggagcca 120  
 15 agattaatgg agcaataaaa tatggatttg aatgatagcc tgtcagaaac ctactgctat 180  
 aataggctaa acaccagcac ttggggggcgg caaccggcaa gacaaagagg gtgtgggtcaa 240  
 accgtgacctt attggcctgg tgacaatggt ctagaagaac aatactacag cacagggttac 300  
 tgggtgaatg taacaggcgg ttgccagctg agagaaggcg tatggctatc aagaaaggggt 360  
 aacgtacagt gtcagcgtaa cggctcatcc ttgatgctgc aattggcgat aaaagaagag 420  
 20 aatgacacta tggaaatacc atgtgaccca gtggaaactg aaagtatggg tccagttgca 480  
 cagggcactt gtgtgtacag ctgggcattc gcccgaagag ggtggtacta taacaggaag 540  
 gatggttatt ggctccagta cataaagaaa aacgactacc agtattggac aaaaatgcct 600  
 actgctcctg ccgccgcaac catgtaccgc cacttgctcc cttactgggt ggctgcctc 660  
 atgggcggtg ggatatcggg gtggtttgtg gcaatgctcc tgtctctaca ggtggaagct 720  
 25 agtgaagtag gactaaaca actggctgtc acgctaacc tgtggaaaat ggactggaca 780  
 gaactacttt tctatattgt cttgatgcta gccgttaagg aagaacttat aaaaaaatt 840  
 gtgaccgcta gccttggtggc cttaaaaaat agtccagtag ccttgagttt tcttattgta 900  
 ctacagactg tggggggcag tgaagcactc ccagtagggt tattattaga aaaaatgtgc 960  
 atagaccaac cggagtttgg aactcctttc ctgatctacc tatgggacaa ctggaagtgg 1020  
 30 actgtgtagg tcagcttctc cgcactgaac catgaaaaaa ctataaaaact ggcaagaaaa 1080  
 ctgttgtagg caacacatat aacagcgtc acattg 1116  
 <210> 12  
 <211> 372  
 <212> Білок  
 35 <213> пестивірус типу 2  
 <400> 12  
 Ser Cys Tyr Lys Arg Gln Asp Tyr Tyr Asn Thr Gln Leu Val Val Glu  
 1 5 10 15  
 40 Glu Lys Thr Gly Val Glu Lys Arg Ser Ile Met Gly Lys Trp Thr Val  
 20 25 30  
 Ile Thr Arg Glu Gly Arg Glu Pro Arg Leu Met Glu Gln Ile Asn Met  
 35 40 45  
 Val Leu Asn Asp Ser Leu Ser Glu Thr Tyr Cys Tyr Asn Arg Leu Asn  
 50 55 60  
 45 Thr Ser Thr Trp Gly Arg Gln Pro Ala Arg Gln Arg Gly Cys Gly Gln  
 65 70 75 80  
 Thr Val Pro Tyr Trp Pro Gly Asp Asn Val Leu Glu Glu Gln Tyr Tyr  
 85 90 95  
 50 Ser Thr Gly Tyr Trp Val Asn Val Thr Gly Gly Cys Gln Leu Arg Glu  
 100 105 110  
 Gly Val Trp Leu Ser Arg Lys Gly Asn Val Gln Cys Gln Arg Asn Gly  
 115 120 125  
 Ser Ser Leu Met Leu Gln Leu Ala Ile Lys Glu Glu Asn Asp Thr Met  
 130 135 140  
 55 Glu Ile Pro Cys Asp Pro Val Glu Thr Glu Ser Met Gly Pro Val Ala  
 145 150 155 160  
 Gln Gly Thr Cys Val Tyr Ser Trp Ala Phe Ala Pro Arg Gly Trp Tyr  
 165 170 175  
 Tyr Asn Arg Lys Asp Gly Tyr Trp Leu Gln Tyr Ile Lys Lys Asn Asp  
 60 180 185 190  
 Tyr Gln Tyr Trp Thr Lys Met Pro Thr Ala Ser Ser Ala Ala Thr Met



	acggaggcta	aagaactgcg	caccagagga	attaacgcca	cctactacta	ttcaggtata		2040
	gaccctaaga	ctctggaaca	tgggatgacc	aatcagccat	actgtattgt	agctaccaat		2100
	gccattgaat	caggtataac	ctgtcctgac	ttggatgtgg	tcatagacac	catgcagaag		2160
	tacgaaaaag	tagtgaattt	ctcggcaaa	atgcccttga	ttgtcacttc	attagtaaag		2220
5	aaaaaatca	ccaggaaga	acagggccag	aggaaaggtc	gagtgggcag	gcaaaagaaa		2280
	ggaaaatact	actaccctc	gggggtggta	ccgaatgggt	caaaagacct	aagctattta		2340
	atcctacagg	ccaagaata	tgggtgtctt	gaacaagtca	atataacaga	gtacttcatc		2400
	ataatgaatg	aggactgggg	tctctatgac	gtagatgaag	tagaagtgag	aatacttgag		2460
	agaatgaaca	aggaaatctt	gctaccacta	ggtattgtgg	agaagcaaat	cttggaaga		2520
10	agtactacc	cggaaaaagt	ggcactgttg	tataacaaat	tagtgcagaa	aaatcctata		2580
	gtatacccta	gagtacagga	aggtgaggtc	agcaaggaat	acaataccta	taatctggcc		2640
	gtatatgaca	agctaaaaga	tgtcaaccca	caagccattt	atgttctagc	agaagaggag		2700
	agagccacag	aatgatggg	tctcgagttt	gaacaagacc	catctgactt	acaggattcg		2760
	gtagttcagc	tttgtgaaga	tatcaagagg	tatacaaac	tc			2802
15	<210>	14						
	<211>	934						
	<212>	Білок						
	<213>	пестивірус типу 2						
	<400>	14						
20	Thr Gly Leu Ser Asp Ser Ile Phe Tyr Met Met Leu Ile Thr Thr Asn							
	1		5		10		15	
	Leu Leu Ile Lys Thr Phe Ile Tyr Leu Leu Gly Ala Ser Met Asn Trp							
		20		25		30		
25	Val Glu Arg Glu Lys Lys Lys Leu Val Lys Arg Arg Leu Ile Tyr							
		35		40		45		
	Lys Lys Ala Val Thr Cys Ser Gln Asp Glu Asn Val Leu Glu Asn Lys							
		50		55		60		
	Phe Asn Lys Ile Thr Val Asn Ala Asp Phe Thr Pro Cys Lys Leu Glu							
		65		70		75		80
30	Leu Leu Gln Leu Leu Arg Ala Phe Leu Val Ser Leu Cys Phe Ser Tyr							
			85		90		95	
	Tyr Lys Pro Leu Leu Tyr Ala Glu Thr Thr Leu Thr Val Ile Val Ile							
		100		105		110		
	Gly Val Gln Glu Tyr Asn Val Ala Met Ala Arg Gly Arg Ser Val Val							
		115		120		125		
35	His Arg Leu Leu Ala Met Ala Tyr Tyr Ile Tyr Gly Arg Ile Gln Gly							
		130		135		140		
	Asp Met Phe Gln Leu Ala Thr Ile Gln Cys Leu Leu Ser Ser Pro Arg							
		145		150		155		160
40	Lys Ile Met Lys His Met Val Glu Asn Pro Thr Leu Lys Lys Leu Trp							
			165		170		175	
	Gln Gly Glu Thr Glu Leu Phe Asn Gln Gly Val Ser Gln Ser Lys Ile							
		180		185		190		
	Val Asn Pro Lys Lys Ile Gly Leu Glu Glu Leu His Lys Gly Met Cys							
		195		200		205		
45	Gly Leu Pro Thr Val Val Gln Asn Leu Val Ile Tyr Ala Lys Lys Asn							
		210		215		220		
	Asp Ser Leu Ile Leu Gly Glu Leu Gly Tyr Pro Pro Gly Asp Leu Thr							
		225		230		235		240
50	Ser Asp Gly Trp Glu Ile Leu Gly Pro Gly Arg Ile Pro Lys Ile Thr							
			245		250		255	
	Asn Val Glu Ser Ala Lys Met Asp Leu Leu Ser Lys Leu Met Thr Phe							
			260		265		270	
	Leu Gly Ile Glu Ser Ser Arg Val Pro Arg Thr Pro Val His Ser Thr							
		275		280		285		
55	Arg Lys Leu Leu Lys Ile Val Arg Gly Leu Glu Thr Gly Trp Gly Tyr							
		290		295		300		
	Thr His Ala Gly Gly Ile Ser Ser Ala Lys His Val Thr Gly Glu Lys							
		305		310		315		320
60	Asn Leu Met Thr His Met Glu Gly Arg Lys Gly Lys Tyr Ile Leu Gln							
			325		330		335	

UA 124140 C2

Ser Gln Glu His Gly Ala Asp Glu Val Glu Tyr Gly Val Lys Thr Asp  
340 345 350  
Gln Lys Ala Pro Asp Asn Ala Leu Cys Tyr Cys Phe Asn Pro Glu Ala  
355 360 365  
5 Thr Asn Ile Lys Gly Glu Thr Gly Ala Met Val Phe Met Lys Lys Ile  
370 375 380  
Gly Lys Lys Trp Thr Leu Val Thr Ser Asp Gly Asn Lys Ala Tyr Tyr  
385 390 395 400  
10 Asn Val Asn Asn Leu Lys Gly Trp Ser Gly Leu Pro Ile Met Leu His  
405 410 415  
Ser Thr Gly Ala Ile Val Gly Arg Ile Lys Ser Ala Tyr Ser Asp Glu  
420 425 430  
Asn Asp Leu Val Glu Glu Leu Ile Asp Ser Arg Thr Ile Ser Lys Ser  
435 440 445  
15 Asn Glu Thr Asn Leu Asp His Leu Ile Lys Glu Leu Ala Asp Met Arg  
450 455 460  
Arg Gly Glu Phe Arg Ser Ile Thr Leu Gly Thr Gly Ala Gly Lys Thr  
465 470 475 480  
20 Thr Glu Leu Pro Arg Gln Tyr Leu Thr Thr Val Gly Ala His Lys Ser  
485 490 495  
Val Leu Val Leu Val Pro Leu Lys Ala Pro Ala Glu Ser Val Cys Arg  
500 505 510  
Phe Met Arg Ser Lys Tyr Pro Thr Ile Asn Phe Ser Leu Arg Val Gly  
515 520 525  
25 Glu Arg Lys Glu Gly Asp Val Ser Ser Gly Ile Thr Tyr Ala Thr Tyr  
530 535 540  
Gly Phe Cys Cys Gln Leu Asn Leu Val Gln Leu Lys Glu Trp Ile Ser  
545 550 555 560  
30 Arg Tyr Ser Met Val Phe Phe Asp Glu Tyr His Thr Ala Thr Pro Glu  
565 570 575  
Gln Ile Ala Ile Ile Ser Lys Ile His Ala Leu Lys Val Lys Thr Arg  
580 585 590  
Ile Val Ala Met Ser Ala Thr Pro Pro Gly Thr Val Thr Thr Glu Gly  
595 600 605  
35 Arg Lys Phe Asp Ile Glu Glu Val Gly Val Ala Thr Ile Glu Lys Gly  
610 615 620  
Glu Glu Pro Lys Arg Gly Arg Ile Ala Val Ala Gly Met Gln Val Pro  
625 630 635 640  
40 Leu Glu Asp Leu Thr Gly Lys Asn Cys Leu Val Phe Val Ala Thr Lys  
645 650 655  
Glu Ala Ala Glu Thr Glu Ala Lys Glu Leu Arg Thr Arg Gly Ile Asn  
660 665 670  
Ala Thr Tyr Tyr Tyr Ser Gly Ile Asp Pro Lys Thr Leu Glu His Gly  
675 680 685  
45 Met Thr Asn Gln Pro Tyr Cys Ile Val Ala Thr Asn Ala Ile Glu Ser  
690 695 700  
Gly Ile Thr Cys Pro Asp Leu Asp Val Val Ile Asp Thr Met Gln Lys  
705 710 715 720  
50 Tyr Glu Lys Val Val Asn Phe Ser Ala Lys Met Pro Leu Ile Val Thr  
725 730 735  
Ser Leu Val Lys Lys Lys Ile Thr Arg Glu Glu Gln Gly Gln Arg Lys  
740 745 750  
Gly Arg Val Gly Arg Gln Lys Lys Gly Lys Tyr Tyr Tyr Pro Ser Gly  
755 760 765  
55 Val Val Pro Asn Gly Ser Lys Asp Leu Ser Tyr Leu Ile Leu Gln Ala  
770 775 780  
Gln Glu Tyr Gly Val Leu Glu Gln Val Asn Ile Thr Glu Tyr Phe Ile  
785 790 795 800  
Ile Met Asn Glu Asp Trp Gly Leu Tyr Asp Val Asp Glu Val Glu Val  
805 810 815  
60 Arg Ile Leu Glu Arg Met Asn Lys Glu Ile Leu Leu Pro Leu Gly Ile

UA 124140 C2

		820		825		830													
	Val	Glu	Lys	Gln	Ile	Leu	Glu	Arg	Ser	Thr	His	Pro	Glu	Lys	Val	Ala			
			835					840					845						
5	Leu	Leu	Tyr	Asn	Lys	Leu	Val	Gln	Lys	Asn	Pro	Ile	Val	Tyr	Pro	Arg			
			850					855					860						
	Val	Gln	Glu	Gly	Glu	Val	Ser	Lys	Glu	Tyr	Asn	Thr	Tyr	Asn	Leu	Ala			
	865					870					875				880				
	Val	Tyr	Asp	Lys	Leu	Lys	Asp	Val	Asn	Pro	Gln	Ala	Ile	Tyr	Val	Leu			
				885						890					895				
10	Ala	Glu	Glu	Glu	Arg	Ala	Thr	Glu	Met	Met	Gly	Leu	Glu	Phe	Glu	Gln			
				900					905					910					
	Asp	Pro	Ser	Asp	Leu	Gln	Asp	Ser	Val	Val	Gln	Leu	Cys	Glu	Asp	Ile			
			915					920					925						
	Lys	Arg	Tyr	Thr	Lys	Leu													
15			930																
	<210>		15																
	<211>		2061																
	<212>		ДНК																
	<213>		пестивірус типу 2																
20	<400>		15																
	ggtcctggca	gaatccsaaa	gatcactaac	gtcagagtctg	ctaagatgga	cttactctcc													60
	aaacttatga	cctttctggg	gattgaaagc	tcgagggtcc	ccaggacccc	agtccactca													120
	acaaggaaat	tattgaagat	agtaaggggc	ttggaacag	gatgggggta	cactcacgca													180
	gggggggataa	gtagcgcgaaa	acacggttaca	ggtgaaaaga	acttaatgac	ccacatggag													240
25	ggtaggaagg	gaaaaatata	cctacaatct	caagaacatg	gtgctgacga	ggtagagtac													300
	ggagtaaaaa	ctgatcaaaa	agctcccgc	aatgccttat	gctactgttt	taaccctgaa													360
	gctacaaaaca	taaaaaggaga	gacgggagcc	atgggtttca	tgaagaagat	aggaaaaaag													420
	tggactctcg	taacatcaga	cggcaataaa	gcctattata	atgtaaaca	tttgaagggg													480
	tggctctggac	taccaataat	gctgcactcc	accggggcca	tagtggggag	gattaaatca													540
30	gcgtattcag	atgaaaacga	cctggtggag	gaacttattg	actctagaac	tattagtaag													600
	agcaatgaga	caaacctgga	ccaccttatc	aaggaattgg	cagacatgcg	gaggggggag													660
	ttccgctcaa	ttacccttgg	aacgggagcc	gggaaaacca	cagaactgcc	taggcaatac													720
	ctcacaacag	taggtgccca	taaatccgtg	ctggtcttag	ttccccttaa	agcacctgct													780
	gaaagtgttt	gccgctttat	gaggtctaaa	taccctacca	tcaacttttc	cttaagagtg													840
35	ggggaacgga	aagagggaga	tgtgagcagc	ggcatcacct	acgctactta	cggattttgc													900
	tgccagctaa	acctagtcca	acttaaagaa	tggatatcca	ggtactcaat	ggtttttttt													960
	gatgaatc	acacagcaac	tccagaacaa	atagccataa	taagcaagat	tcatgactg													1020
	aaagttaaga	ccaggatagt	ggctatgtca	gcaaccccc	cgggtaccgt	gacgactgaa													1080
	ggcaggaagt	ttgacattga	agaggtaggg	gttgctacca	tagagaaagg	agaggaacca													1140
40	aaaagggggc	gcatagcggg	cgctggtatg	cagggtcccat	tagaagactt	aacaggaaag													1200
	aactgcctgg	tgttcgtggc	aaccaaagaa	gccgcggaga	cggaggctaa	agaactgctc													1260
	accagaggaa	ttaacgccac	ctactactat	tcaggatatag	accctaagac	tctggaacat													1320
	gggatgacca	atcagccata	ctgtattgta	gctaccaatg	ccattgaatc	aggataacc													1380
	tgtcctgact	tggatgtggg	catagacacc	atgcagaagt	acgaaaaagt	agtgaatttc													1440
45	tcggcaaaaga	tgcccttgat	tgtcacttca	ttagtaaaga	aaaaaatcac	cagggaaaga													1500
	cagggccaga	gaaaaggctc	agtgggcagg	caaaaagaa	gaaaatacta	ctaccctc													1560
	gggggtgtac	cgaatgggtc	aaaagaccta	agctatttaa	tcctacaggc	ccaagaatat													1620
	ggtgtcttgg	aacaagtcaa	tataacagag	tacttcatca	taatgaatga	ggactggggg													1680
	ctctatgacg	tagatgaagt	agaagtgaga	atacttgaga	gaatgaaca	ggaaatcttg													1740
50	ctaccactag	gtattgtgga	gaagcaaatc	ttggaaagaa	gtactcacc	ggaaaaagtg													1800
	gcaactgttg	ataacaaatt	agtgcaagaa	aatcctatag	tataccctag	agtacaggaa													1860
	ggtgagggtca	gcaaggaata	caatacctat	aatctggccg	tatatgaca	gctaaaagat													1920
	gtcaaccsc	aagccattta	tgttctagca	gaagaggaga	gagccacaga	aatgatgggt													1980
	ctcgagtttg	aacaagacc	atctgactta	caggattcgg	tagttcagct	ttgtgaagat													2040
55	atcaagagg	atacaaaact	c																2061
	<210>		16																
	<211>		687																
	<212>		Білок																
	<213>		пестивірус типу 2																
60	<400>		16																
	Gly	Pro	Gly	Arg	Ile	Pro	Lys	Ile	Thr	Asn	Val	Glu	Ser	Ala	Lys	Met			

UA 124140 C2

	1				5					10				15			
	Asp	Leu	Leu	Ser	Lys	Leu	Met	Thr	Phe	Leu	Gly	Ile	Glu	Ser	Ser	Arg	
				20					25					30			
5	Val	Pro	Arg	Thr	Pro	Val	His	Ser	Thr	Arg	Lys	Leu	Leu	Lys	Ile	Val	
			35					40					45				
	Arg	Gly	Leu	Glu	Thr	Gly	Trp	Gly	Tyr	Thr	His	Ala	Gly	Gly	Ile	Ser	
		50				55					60						
	Ser	Ala	Lys	His	Val	Thr	Gly	Glu	Lys	Asn	Leu	Met	Thr	His	Met	Glu	
		65				70					75					80	
10	Gly	Arg	Lys	Gly	Lys	Tyr	Ile	Leu	Gln	Ser	Gln	Glu	His	Gly	Ala	Asp	
				85					90					95			
	Glu	Val	Glu	Tyr	Gly	Val	Lys	Thr	Asp	Gln	Lys	Ala	Pro	Asp	Asn	Ala	
				100					105					110			
	Leu	Cys	Tyr	Cys	Phe	Asn	Pro	Glu	Ala	Thr	Asn	Ile	Lys	Gly	Glu	Thr	
15			115					120					125				
	Gly	Ala	Met	Val	Phe	Met	Lys	Lys	Ile	Gly	Lys	Lys	Trp	Thr	Leu	Val	
		130					135					140					
	Thr	Ser	Asp	Gly	Asn	Lys	Ala	Tyr	Tyr	Asn	Val	Asn	Asn	Leu	Lys	Gly	
		145			150						155					160	
20	Trp	Ser	Gly	Leu	Pro	Ile	Met	Leu	His	Ser	Thr	Gly	Ala	Ile	Val	Gly	
				165						170					175		
	Arg	Ile	Lys	Ser	Ala	Tyr	Ser	Asp	Glu	Asn	Asp	Leu	Val	Glu	Glu	Leu	
			180						185					190			
	Ile	Asp	Ser	Arg	Thr	Ile	Ser	Lys	Ser	Asn	Glu	Thr	Asn	Leu	Asp	His	
25			195					200					205				
	Leu	Ile	Lys	Glu	Leu	Ala	Asp	Met	Arg	Arg	Gly	Glu	Phe	Arg	Ser	Ile	
		210					215					220					
	Thr	Leu	Gly	Thr	Gly	Ala	Gly	Lys	Thr	Thr	Glu	Leu	Pro	Arg	Gln	Tyr	
				230							235				240		
30	Leu	Thr	Thr	Val	Gly	Ala	His	Lys	Ser	Val	Leu	Val	Leu	Val	Pro	Leu	
				245						250					255		
	Lys	Ala	Pro	Ala	Glu	Ser	Val	Cys	Arg	Phe	Met	Arg	Ser	Lys	Tyr	Pro	
			260						265					270			
	Thr	Ile	Asn	Phe	Ser	Leu	Arg	Val	Gly	Glu	Arg	Lys	Glu	Gly	Asp	Val	
35			275					280					285				
	Ser	Ser	Gly	Ile	Thr	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Gly	Phe	Cys	Cys	Gln	Leu	Asn	
		290					295					300					
	Leu	Val	Gln	Leu	Lys	Glu	Trp	Ile	Ser	Arg	Tyr	Ser	Met	Val	Phe	Phe	
				310							315				320		
40	Asp	Glu	Tyr	His	Thr	Ala	Thr	Pro	Glu	Gln	Ile	Ala	Ile	Ile	Ser	Lys	
				325						330					335		
	Ile	His	Ala	Leu	Lys	Val	Lys	Thr	Arg	Ile	Val	Ala	Met	Ser	Ala	Thr	
			340						345					350			
	Pro	Pro	Gly	Thr	Val	Thr	Thr	Glu	Gly	Arg	Lys	Phe	Asp	Ile	Glu	Glu	
45			355					360					365				
	Val	Gly	Val	Ala	Thr	Ile	Glu	Lys	Gly	Glu	Glu	Pro	Lys	Arg	Gly	Arg	
		370					375					380					
	Ile	Ala	Val	Ala	Gly	Met	Gln	Val	Pro	Leu	Glu	Asp	Leu	Thr	Gly	Lys	
				390							395				400		
50	Asn	Cys	Leu	Val	Phe	Val	Ala	Thr	Lys	Glu	Ala	Ala	Glu	Thr	Glu	Ala	
				405						410					415		
	Lys	Glu	Leu	Arg	Thr	Arg	Gly	Ile	Asn	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Gly	
			420						425					430			
	Ile	Asp	Pro	Lys	Thr	Leu	Glu	His	Gly	Met	Thr	Asn	Gln	Pro	Tyr	Cys	
55			435					440					445				
	Ile	Val	Ala	Thr	Asn	Ala	Ile	Glu	Ser	Gly	Ile	Thr	Cys	Pro	Asp	Leu	
		450					455					460					
	Asp	Val	Val	Ile	Asp	Thr	Met	Gln	Lys	Tyr	Glu	Lys	Val	Val	Asn	Phe	
		465				470					475				480		
60	Ser	Ala	Lys	Met	Pro	Leu	Ile	Val	Thr	Ser	Leu	Val	Lys	Lys	Lys	Ile	
				485						490					495		

UA 124140 C2

Thr Arg Glu Glu Gln Gly Gln Arg Lys Gly Arg Val Gly Arg Gln Lys  
500 505 510  
Lys Gly Lys Tyr Tyr Tyr Pro Ser Gly Val Val Pro Asn Gly Ser Lys  
515 520 525  
5 Asp Leu Ser Tyr Leu Ile Leu Gln Ala Gln Glu Tyr Gly Val Leu Glu  
530 535 540  
Gln Val Asn Ile Thr Glu Tyr Phe Ile Ile Met Asn Glu Asp Trp Gly  
545 550 555 560  
10 Leu Tyr Asp Val Asp Glu Val Glu Val Arg Ile Leu Glu Arg Met Asn  
565 570 575  
Lys Glu Ile Leu Leu Pro Leu Gly Ile Val Glu Lys Gln Ile Leu Glu  
580 585 590  
Arg Ser Thr His Pro Glu Lys Val Ala Leu Leu Tyr Asn Lys Leu Val  
595 600 605  
15 Gln Lys Asn Pro Ile Val Tyr Pro Arg Val Gln Glu Gly Glu Val Ser  
610 615 620  
Lys Glu Tyr Asn Thr Tyr Asn Leu Ala Val Tyr Asp Lys Leu Lys Asp  
625 630 635 640  
20 Val Asn Pro Gln Ala Ile Tyr Val Leu Ala Glu Glu Glu Arg Ala Thr  
645 650 655  
Glu Met Met Gly Leu Glu Phe Glu Gln Asp Pro Ser Asp Leu Gln Asp  
660 665 670  
Ser Val Val Gln Leu Cys Glu Asp Ile Lys Arg Tyr Thr Lys Leu  
675 680 685  
25 <210> 17  
<211> 201  
<212> ДНК  
<213> пестивірус типу 2  
<400> 17  
30 tctgggatca ctgagaaact gctagtaggt acgatggtgg ggtatattgg atacaaagcc 60  
ttaaccagaa accacgtgcc ctgggtcagc aaagagtatt gttatgagct gaccgattca 120  
ccggatactt acgaaaactc attcgcacct ttggacgtcg acgtccaaaa ctccggtgaa 180  
ggaaaaacacc sagagsaact g 201  
<210> 18  
35 <211> 67  
<212> Білок  
<213> пестивірус типу 2  
<400> 18  
Ser Gly Ile Thr Glu Lys Leu Leu Val Gly Thr Met Val Gly Tyr Ile  
40 1 5 10 15  
Gly Tyr Lys Ala Leu Thr Arg Asn His Val Pro Trp Val Ser Lys Glu  
20 25 30  
Tyr Cys Tyr Glu Leu Thr Asp Ser Pro Asp Thr Tyr Glu Asn Ser Phe  
35 40 45  
45 Ala Pro Leu Asp Val Asp Val Gln Asn Ser Gly Glu Gly Lys His Pro  
50 55 60  
Glu Gln Leu  
65  
<210> 19  
50 <211> 2433  
<212> ДНК  
<213> пестивірус типу 2  
<400> 19  
gcagaccatc aattgaggca actactggag actgggagag acaaggcaat tgatttccta 60  
55 aaaggaatcc gcgagttcac tagtggggcc ataaacagtc caaaggcact aagtatatgg 120  
gagaaaatat atcagtattt gaagaagcat cagggcgaga tcatctcatc agcagcgtgg 180  
ggcagtgcca cggcccttca cgacagtatt aatctagac taggagatga ggctcgtact 240  
gcagtaataa tctcaagta ttagcattt ggtgaaagag aactgtctgg gctaactagg 300  
caagttctaa ttgacatcat agtatattat atagttaaca agccccggtt cgaaggagac 360  
60 gactacgcaa agagaaaagg aagaaggcta gtcacgaag tcctgatggg ggcactggcg 420  
acttatgchg tgtccaattt ttggggtgtg tccattaata agatactgca accaatttct 480

```

gattatctac cctatgccac cgccactttg gctttttcttc gcccaacctt catggaatca      540
gcagtggtgg tcgcttcctc tatctataga gctttttctct ccattaagca tgcggaaaac      600
aggagtcttg tcacgcaggt cgcttctgcc gccctcgaag tcatgggcct gaccccagta      660
tcggctggcc taggcgtctt gctggggcct ggggttgtgtg tgctccatat gaacattgac      720
5 aagaatgagg agaaaaggac acttatactg aaaatgtttg tcaaaaactt tatagaccag      780
gcggcactag acgagttgga taaactggag ccagaaaaaa taatcctctc attggttgag      840
ggtatccaaa cctgcacaaa cccgattaga gcaatcatga ttttgtacag ggtgtactac      900
aagggagaaa ctttcacaga agctttgtct aagatggccg gcaagtctct cattgtgatg      960
gtcatagtcg agttcctgga attgacaggc caaacccaag gagggtatat agatcttagt     1020
10 gctaatttgc tgacctttct cctcgagaaa ctaaaaaaaa tgactaacct cgccatcggg     1080
gaagctagaa aggtcttgct ccccatccca tacttgtact gtgaaacctg gcagctcgac     1140
gccagaatca aggccctga atcctacgac caagtggtag tggaatgcaa atgtggcgct     1200
tcagcgaggt attccttccg cgatggagtt catgagatat tggaagaaaa aaggactaat     1260
tggtgcaaga acttcttctt atggggacc cacttccaca atccggatcc aaaaaggatg     1320
15 acattctatg aatacggcca agcaaaaaag tgtcctgtta tcataattgg tgaagacata     1380
accttcggca aatatggcat atatatcaaa tttggccata ggcctgatgg agggaggtta     1440
ataaggggta ccaccacgc tactatcagt agggaggaat tgctggaaat cctaacagcc     1500
ccaagccaag tggccatagg caaggtcaag ctaaccgatt actgtaatca aaaaggaata     1560
atagacagga aattggccgt acttgaaggt gacaaaatac atttttggaa agcacaccgt     1620
20 ggatccaaaa tcacagacca actcactatt gagaatctga cagatgattt ggggtcagaa     1680
atcagggaca tcacatggga gctgtacaca ggtggaacgt gcaccgtaaa aggggtgtcc     1740
cttagatcat gcgcaccagg tcatagaact aaggctatgg tcttgtgtga ttgactgat     1800
gtgcttagcc cctgttacct aataaacggc aggagacat ccccatttga cgtcggcgaa     1860
ggttatgaat gtcaccaccg gaagccccga gcgacgatag aagacctaga aatggaggaa     1920
25 atactaaaga gacgagtccc tgtctacgat cctctgtgtt tgtttgacac tgatagtaaa     1980
ctgctacctc ccgacaccta ctacttggaa gaagatcaag aggactttga gtacgcattg     2040
agatgctggg gcctcggggg ttatgtagca gacgggcctg tcacttcccc cccggacata     2100
agaatacacc atagttcggg attactactg ctgacacctg gagtaaactc agagtgtgcc     2160
ttacagtaca tacgttggtta ccctcatcag gcagaggtgg acatctacat taggagtcag     2220
30 cttttggagg aggaagacac tgctacggag gtggaaggct cccaggaaga tgggtgatgaa     2280
gggatgggcg atgcggtaat agaggatgag gatacatcgt ccacaacaga atcaataccc     2340
ccactagaag aggaggaagg gggcgaagag ccaatcacct atgtggtcat aaggggatta     2400
caagaagaaa gatacgccag ccatcttaaa cta
2433

```

```

<210> 20
35 <211> 811
    <212> Білок
    <213> пестивірус типу 2
    <400> 20

```

```

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

```

UA 124140 C2

				180					185				190			
	Leu	Ser	Ile	Lys	His	Ala	Glu	Asn	Arg	Ser	Leu	Val	Thr	Gln	Val	Ala
				195					200				205			
5	Ser	Ala	Ala	Leu	Glu	Val	Met	Gly	Leu	Thr	Pro	Val	Ser	Ala	Gly	Leu
				210					215				220			
	Gly	Val	Leu	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Cys	Val	Leu	His	Met	Asn	Ile	Asp
	225						230					235				240
	Lys	Asn	Glu	Glu	Lys	Arg	Thr	Leu	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Val	Lys	Asn
					245						250				255	
10	Phe	Ile	Asp	Gln	Ala	Ala	Leu	Asp	Glu	Leu	Asp	Lys	Leu	Glu	Pro	Glu
				260					265					270		
	Lys	Ile	Ile	Leu	Ser	Leu	Leu	Glu	Gly	Ile	Gln	Thr	Cys	Thr	Asn	Pro
				275					280				285			
15	Ile	Arg	Ala	Ile	Met	Ile	Leu	Tyr	Arg	Val	Tyr	Tyr	Lys	Gly	Glu	Thr
		290					295					300				
	Phe	Thr	Glu	Ala	Leu	Ser	Lys	Met	Ala	Gly	Lys	Ser	Leu	Ile	Val	Met
	305					310					315					320
	Val	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Glu	Leu	Thr	Gly	Gln	Thr	Gln	Gly	Gly	Tyr
					325					330					335	
20	Ile	Asp	Leu	Ser	Ala	Asn	Leu	Leu	Thr	Phe	Leu	Leu	Glu	Lys	Leu	Lys
				340					345					350		
	Lys	Met	Thr	Asn	Leu	Ala	Ile	Gly	Glu	Ala	Arg	Lys	Val	Leu	Leu	Pro
				355				360					365			
25	Ile	Pro	Tyr	Leu	Tyr	Cys	Glu	Thr	Trp	Gln	Ser	Asp	Ala	Arg	Ile	Lys
		370					375					380				
	Ala	Pro	Glu	Ser	Tyr	Asp	Gln	Val	Val	Val	Glu	Cys	Lys	Cys	Gly	Ala
	385					390					395					400
	Ser	Ala	Arg	Tyr	Ser	Phe	Arg	Asp	Gly	Val	His	Glu	Ile	Leu	Glu	Glu
					405					410					415	
30	Lys	Arg	Thr	Asn	Trp	Cys	Lys	Asn	Phe	Phe	Leu	Trp	Gly	Pro	Asn	Phe
				420					425					430		
	His	Asn	Pro	Asp	Pro	Lys	Arg	Met	Thr	Phe	Tyr	Glu	Tyr	Gly	Gln	Ala
				435				440					445			
35	Lys	Lys	Cys	Pro	Val	Ile	Ile	Ile	Gly	Glu	Asp	Ile	Thr	Phe	Gly	Lys
		450					455					460				
	Tyr	Gly	Ile	Tyr	Ile	Lys	Phe	Gly	His	Arg	Pro	Asp	Gly	Gly	Arg	Leu
	465					470					475					480
	Ile	Arg	Gly	Thr	Thr	His	Ala	Thr	Ile	Ser	Arg	Glu	Glu	Leu	Leu	Glu
					485					490					495	
40	Ile	Leu	Thr	Ala	Pro	Ser	Gln	Val	Ala	Ile	Gly	Lys	Val	Lys	Leu	Thr
				500					505					510		
	Asp	Tyr	Cys	Asn	Gln	Lys	Gly	Ile	Asp	Arg	Lys	Leu	Ala	Val	Leu	
			515					520				525				
45	Glu	Gly	Asp	Lys	Ile	His	Phe	Trp	Lys	Ala	His	Arg	Gly	Ser	Lys	Ile
		530					535					540				
	Thr	Asp	Gln	Leu	Thr	Ile	Glu	Asn	Leu	Thr	Asp	Asp	Leu	Gly	Ser	Glu
	545					550					555					560
	Ile	Arg	Asp	Ile	Thr	Trp	Glu	Leu	Tyr	Thr	Gly	Gly	Thr	Cys	Thr	Val
					565					570					575	
50	Lys	Gly	Val	Ser	Leu	Arg	Ser	Cys	Ala	Pro	Gly	His	Arg	Thr	Lys	Ala
				580					585					590		
	Met	Val	Leu	Cys	Asp	Cys	Thr	Asp	Val	Leu	Ser	Pro	Cys	Tyr	Leu	Ile
			595					600					605			
55	Asn	Gly	Arg	Arg	Pro	Ser	Pro	Phe	Asp	Val	Ala	Glu	Gly	Tyr	Glu	Cys
		610					615					620				
	His	His	Arg	Lys	Pro	Arg	Ala	Thr	Tyr	Glu	Asp	Leu	Glu	Met	Glu	Glu
	625					630					635					640
	Ile	Leu	Lys	Arg	Arg	Val	Pro	Val	Tyr	Asp	Pro	Leu	Cys	Leu	Phe	Asp
					645					650					655	
60	Thr	Asp	Ser	Lys	Leu	Leu	Pro	Pro	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Leu	Glu	Glu	Asp
				660					665					670		

UA 124140 C2

	Gln	Glu	Asp	Phe	Glu	Tyr	Ala	Leu	Arg	Cys	Trp	Gly	Leu	Gly	Val	Tyr	
			675					680					685				
	Val	Ala	Asp	Gly	Pro	Val	Thr	Ser	Pro	Pro	Asp	Ile	Arg	Ile	His	His	
		690					695					700					
5	Ser	Ser	Val	Leu	Leu	Leu	Leu	Thr	Pro	Gly	Val	Asn	Ser	Glu	Leu	Pro	
	705					710					715					720	
	Leu	Gln	Tyr	Ile	Arg	Cys	Tyr	Pro	His	Gln	Ala	Glu	Val	Asp	Ile	Tyr	
					725					730					735		
	Ile	Arg	Ser	Gln	Leu	Leu	Glu	Glu	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Glu	Val	Glu	
10					740					745					750		
	Gly	Ser	Gln	Glu	Asp	Gly	Asp	Glu	Gly	Met	Gly	Asp	Ala	Val	Ile	Glu	
			755					760						765			
	Asp	Glu	Asp	Thr	Ser	Ser	Thr	Thr	Glu	Ser	Ile	Pro	Pro	Leu	Glu	Glu	
		770					775						780				
15	Glu	Glu	Gly	Gly	Glu	Glu	Pro	Ile	Thr	Tyr	Val	Val	Ile	Arg	Gly	Leu	
	785					790					795					800	
	Gln	Glu	Glu	Arg	Tyr	Ala	Ser	His	Leu	Lys	Leu						
					805						810						
	<210>	21															
20	<211>	2256															
	<212>	ДНК															
	<213>	пестивірус типу 2															
	<400>	21															
	aatgactgga	tcagtgaaaa	catttcagag	ccacacagag	tccaaattat	gctagatggg										60	
25	acagtgagag	tcacaataaa	agagggcaaa	gtgaaacatt	tgtttgggggt	ctatagaata										120	
	gaaaaactccc	tggaagcaat	gtttaaagag	accatagctg	acctccccgt	agctacccaa										180	
	ccgccccag	ggcagctcta	tacggctaaa	gagctggccc	aagggaacat	cgccccggtc										240	
	saacctgcag	cgaattatta	cggaatgata	gaggggagag	gcgaccaat	gacggcattc										300	
	gaagccttat	cagtcttgcg	gtcacaaaa	gtcttagcca	aggacgtgaa	ggtgaacacc										360	
30	cgcagggcgc	aggttttttt	aaataaagtc	aggagaattg	ctgaggtcag	agcgtcggaa										420	
	ctgacattaa	aatgcttacc	gatacttggc	aaagtaaattg	ggaggaaatt	gattagagag										480	
	gaaaccaaca	tccccaacca	aaggttggca	tcaataatga	cctcaatagg	aattagacta										540	
	gaaaaactgc	cagtggttag	agcaaacact	tccggctcta	agttcagaca	gtcaatctta										600	
	gaaaaaatgg	ataagtatga	aaatgaacaa	gtcccaggggt	tacatgaaaa	gatgtgggca										660	
35	gcgttcctgg	caactgccag	gcaagattta	agaaatacct	atgaggaagt	aacttatctt										720	
	gaattagagg	ccggaatcaa	tcggaagga	gccccaggtt	tctttgaaaa	agaaagctca										780	
	ataggagaag	tgctggaaaa	aaaagaaaa	attgacgtca	caatccaaga	gattgaaaaa										840	
	ggcaaccact	tatactatga	aacagccatg	ccaaaaaatg	agaaaagaga	tgtgcttgat										900	
	gattggttgt	cagaggattt	cgtcacttat	aagaaaccac	gtgtgataca	gtaccctgag										960	
40	gcagtcaccc	ggttggccat	cacaaaata	atgtataagt	gggtgaagca	aaagcctata										1020	
	gtgattcccg	gttatgaggg	aaaaaccccg	atctttgaaa	tatttgaaaa	agtcagtgca										1080	
	gattgggctc	agttcaaaaa	tccggtagcc	gtcagcttcg	acaccagagc	ctgggacact										1140	
	caagtaacaa	gagaagacct	caggctggta	gggaggatag	agaaatacta	ttacaaaaaa										1200	
	aaatattgga	agttcattga	caatttgaca	gccatgatgg	aggaagtgcc	tgtaactact										1260	
45	gtagaaggag	atatgttcct	cagagttgga	cagcgcggat	ccggacagcc	tgatacctca										1320	
	gcaggcaatt	ccatgctaaa	tgtgctgact	atggttgtag	ctttctctga	atccacaaat										1380	
	ctgcccatag	cggctgcctg	gaaggcctgt	cggatccacg	tctgtggtga	cgacggtttc										1440	
	ttaatcacag	aatcggaatt	agggaggaag	tttgctgaaa	aagggtgttc	tctgttagct										1500	
	gcatttgcca	aacccccaaa	aattacagag	ggagcgagcc	taaaggtaac	cagcaacttt										1560	
50	gacggaatag	agttttgtag	tcatacccct	atcagagtcc	aaacaccaa	catcaggtgg										1620	
	atgccagcga	gaccaacagc	aacaatccta	ggcaaaatga	gtaccaggct	gggtgaggggt										1680	
	gccaccagggt	cgggagaaga	atacgaaaa	caggtggcat	tcgcatatct	actgatgtac										1740	
	ccctggaacc	cgctggtcag	gagaatcagc	ctcctattgt	tatcgactac	tgacccaatg										1800	
	gggaaagagg	aaaccccatg	ctccgatgag	ggggtgaagt	atggtgggga	ccctatcgct										1860	
55	gcatacaggg	atgtatgggg	gcacaaatta	gaggatgtag	gccatggtga	tcaaccgcag										1920	
	ttatcccgga	tgaactatag	catgacttac	ttagggattt	ggaaaccaa	gacaagtcag										1980	
	cggctagtcg	aacagtgttg	tcgtctggcc	gagaaaagca	attgtgtggt	acgtgctgac										2040	
	tccctgataa	agaaaaaggt	caagatcact	tatgaccggg	ggataggagt	ggctcaggtc										2100	
	attcgtaggt	gggaagagct	tgagtggacc	agaaggaaac	ctgaactcac	caatgtaatt										2160	
60	gtagaagatg	atatcttcct	agtcctgtgg	aagagatttt	caaagtacat	ttttcagaaa										2220	
	atgaagttca	tgcaagaaat	gttcgcccct	tattaa												2256	

<210> 22  
 <211> 751  
 <212> Білок  
 <213> пестивірус типу 2  
 5 <400> 22  
 Asn Asp Trp Ile Ser Glu Asn Ile Ser Glu Pro His Arg Val Gln Ile  
 1 5 10  
 Met Leu Asp Gly Thr Val Arg Val Thr Ile Lys Glu Gly Lys Val Lys  
 20 30  
 10 His Leu Phe Gly Val Tyr Arg Ile Glu Asn Ser Leu Glu Ala Met Phe  
 35 40 45  
 Lys Glu Thr Ile Ala Asp Leu Pro Val Ala Thr Gln Pro Pro Gln Gly  
 50 55 60  
 Pro Val Tyr Thr Ala Lys Glu Leu Ala Gln Gly Asn Ile Ala Pro Val  
 15 65 70 75 80  
 Gln Pro Ala Ala Asn Tyr Tyr Gly Met Ile Glu Gly Arg Gly Asp Pro  
 85 90 95  
 Met Thr Ala Phe Glu Ala Leu Ser Val Leu Arg Ser Gln Lys Val Leu  
 100 105 110  
 20 Ala Lys Asp Val Lys Val Asn Thr Arg Arg Ala Gln Val Phe Leu Asn  
 115 120 125  
 Lys Val Arg Arg Ile Ala Glu Val Arg Ala Ser Glu Leu Thr Leu Lys  
 130 135 140  
 Cys Leu Pro Ile Leu Gly Lys Val Asn Gly Arg Lys Leu Ile Arg Glu  
 145 150 155 160  
 25 Glu Thr Asn Ile Pro Asn Gln Arg Leu Ala Ser Ile Met Thr Ser Ile  
 165 170 175  
 Gly Ile Arg Leu Glu Lys Leu Pro Val Val Arg Ala Asn Thr Ser Gly  
 180 185 190  
 30 Ser Lys Phe Arg Gln Ser Ile Leu Glu Lys Met Asp Lys Tyr Glu Asn  
 195 200 205  
 Glu Gln Val Pro Gly Leu His Glu Lys Met Trp Ala Ala Phe Leu Ala  
 210 215 220  
 Thr Ala Arg Gln Asp Leu Arg Asn Thr Tyr Glu Glu Val Thr Tyr Leu  
 225 230 235 240  
 35 Glu Leu Glu Ala Gly Ile Asn Arg Lys Gly Ala Pro Gly Phe Phe Glu  
 245 250 255  
 Lys Glu Ser Ser Ile Gly Glu Val Leu Glu Lys Lys Glu Lys Ile Asp  
 260 265 270  
 40 Val Thr Ile Gln Glu Ile Glu Lys Gly Asn His Leu Tyr Tyr Glu Thr  
 275 280 285  
 Ala Met Pro Lys Asn Glu Lys Arg Asp Val Leu Asp Asp Trp Leu Ser  
 290 295 300  
 Glu Asp Phe Val Thr Tyr Lys Lys Pro Arg Val Ile Gln Tyr Pro Glu  
 305 310 315 320  
 45 Ala Val Thr Arg Leu Ala Ile Thr Lys Ile Met Tyr Lys Trp Val Lys  
 325 330 335  
 Gln Lys Pro Ile Val Ile Pro Gly Tyr Glu Gly Lys Thr Pro Ile Phe  
 340 345 350  
 50 Glu Ile Phe Glu Lys Val Ser Ala Asp Trp Ala Gln Phe Lys Asn Pro  
 355 360 365  
 Val Ala Val Ser Phe Asp Thr Arg Ala Trp Asp Thr Gln Val Thr Arg  
 370 375 380  
 Glu Asp Leu Arg Leu Val Gly Arg Ile Gln Lys Tyr Tyr Tyr Lys Lys  
 385 390 395 400  
 55 Lys Tyr Trp Lys Phe Ile Asp Asn Leu Thr Ala Met Met Glu Glu Val  
 405 410 415  
 Pro Val Ile Thr Val Glu Gly Asp Met Phe Leu Arg Val Gly Gln Arg  
 420 425 430  
 60 Gly Ser Gly Gln Pro Asp Thr Ser Ala Gly Asn Ser Met Leu Asn Val  
 435 440 445

Leu Thr Met Leu Val Ala Phe Ser Glu Ser Thr Asn Leu Pro Ile Ala  
 450 455 460  
 Ala Ala Trp Lys Ala Cys Arg Ile His Val Cys Gly Asp Asp Gly Phe  
 465 470 475 480  
 5 Leu Ile Thr Glu Ser Glu Leu Gly Arg Lys Phe Ala Glu Lys Gly Val  
 485 490 495  
 Pro Leu Leu Ala Ala Phe Gly Lys Pro Gln Lys Ile Thr Glu Gly Ala  
 500 505 510  
 10 Ser Leu Lys Val Thr Ser Asn Phe Asp Gly Ile Glu Phe Cys Ser His  
 515 520 525  
 Thr Pro Ile Arg Val Gln Thr Pro Asn Ile Arg Trp Met Pro Ala Arg  
 530 535 540  
 Pro Thr Ala Thr Ile Leu Gly Lys Met Ser Thr Arg Leu Gly Glu Gly  
 545 550 555 560  
 15 Ala Thr Arg Ser Gly Glu Glu Tyr Glu Lys Gln Val Ala Phe Ala Tyr  
 565 570 575  
 Leu Leu Met Tyr Pro Trp Asn Pro Leu Val Arg Arg Ile Ser Leu Leu  
 580 585 590  
 20 Leu Leu Ser Thr Thr Asp Pro Met Gly Lys Glu Glu Thr Pro Cys Ser  
 595 600 605  
 Asp Glu Gly Val Lys Tyr Val Gly Asp Pro Ile Ala Ala Tyr Arg Asp  
 610 615 620  
 Val Trp Gly His Lys Leu Glu Asp Val Gly His Val Asp Gln Pro Gln  
 625 630 635 640  
 25 Leu Ser Arg Met Asn Tyr Ser Met Thr Tyr Leu Gly Ile Trp Lys Pro  
 645 650 655  
 Lys Thr Ser Gln Arg Leu Val Glu Gln Cys Cys Arg Leu Ala Glu Lys  
 660 665 670  
 30 Ser Asn Cys Val Val Arg Ala Asp Ser Leu Ile Lys Lys Lys Val Lys  
 675 680 685  
 Ile Thr Tyr Asp Pro Gly Ile Gly Val Ala Gln Val Ile Arg Arg Trp  
 690 695 700  
 Glu Glu Leu Glu Trp Thr Arg Arg Lys Pro Glu Leu Thr Asn Val Ile  
 705 710 715 720  
 35 Val Glu Asp Asp Ile Phe Leu Val Leu Trp Lys Arg Phe Ser Lys Tyr  
 725 730 735  
 Ile Phe Gln Lys Met Lys Phe Met Gln Arg Met Phe Ala Pro Tyr  
 740 745 750  
 <210> 23  
 40 <211> 17  
 <212> ДНК  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> синтезована в лабораторії послідовність ДНК  
 45 <400> 23  
 tgcctggtat tcgtggc 17  
 <210> 24  
 <211> 19  
 <212> ДНК  
 50 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> синтезована в лабораторії послідовність ДНК  
 <400> 24  
 tcatcccatg ttccagagt 19  
 55 <210> 25  
 <211> 21  
 <212> ДНК  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 60 <223> синтезована в лабораторії послідовність ДНК  
 <400> 25

	cctccgtctc cgcggctttg g	21
	<210> 26	
	<211> 143	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> синтезована в лабораторії послідовність ДНК	
	<400> 26	
	aacaggaag aactgcctgg tattcgtggc aaccsaaaga gccgcggaga cggaggctaa	60
10	agaactgcgc accagagga ttaacgccac ctattcaggt atagacccta agactctgga	120
	acatgggatg accaatcagc cat	143

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 15 1. Композиція, що містить інактивований пестивірус, який включає послідовність нуклеїнової кислоти, принаймні на 95 % ідентичну SEQ ID NO: 1.
2. Композиція, що містить інактивований пестивірус, який включає амінокислотну послідовність, принаймні на 95 % ідентичну SEQ ID NO: 2.
- 20 3. Композиція за п. 1 або п. 2, яка **відрізняється** тим, що пестивірус є хімічно інактивованим пестивірусом, і де пестивірус інактивовано обробкою інактивуючим агентом, вибраним із групи, яка складається з бінарного етиленіміну, етиленіміну, ацетилетиленіміну, бета-етиленіміну, бета-пропіолактону, глутаральдегіду, озону та формальдегіду.
4. Композиція за п. 1 або п. 2, яка **відрізняється** тим, що пестивірус є фізично інактивованим пестивірусом, і де пестивірус інактивовано обробкою УФ-випромінюванням, рентгенівським
- 25 випромінюванням, гамма-випромінюванням, заморожуванням-розморожуванням і/або нагріванням.
5. Композиція за п. 1 або п. 2, яка **відрізняється** тим, що додатково містить фармацевтично прийнятний носій і/або допоміжну речовину.
- 30 6. Композиція за п. 5, яка **відрізняється** тим, що фармацевтично прийнятний носій і/або допоміжна речовина являє собою ад'ювант.
7. Композиція за п. 6, яка **відрізняється** тим, що ад'ювант є ад'ювантом на основі емульсії олія-в-воді.
8. Композиція, що містить атенуйований пестивірус, який включає послідовність нуклеїнової кислоти, принаймні на 95 % ідентичну SEQ ID NO: 1.
- 35 9. Композиція, що містить атенуйований пестивірус, який включає амінокислотну послідовність, принаймні на 95 % ідентичну SEQ ID NO: 2.
10. Композиція за п. 8 або п. 9, яка **відрізняється** тим, що додатково містить фармацевтично прийнятний носій і/або допоміжну речовину.
- 40 11. Композиція за п. 10, яка **відрізняється** тим, що фармацевтично прийнятний носій і/або допоміжна речовина являє собою ад'ювант.
12. Композиція за п. 11, яка **відрізняється** тим, що ад'ювант є ад'ювантом на основі емульсії олія-в-воді.
13. Композиція за п. 8 або п. 9, яка **відрізняється** тим, що пестивірус перебуває у ліофільно висушеній формі.
- 45 14. Композиція за п. 8 або п. 9, яка **відрізняється** тим, що містить щонайменше приблизно  $10^4$  вірусних частинок.
15. Композиція, що містить вектор, який включає послідовність нуклеїнової кислоти, принаймні на 95 % ідентичну SEQ ID NO: 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 або 21.
- 50 16. Композиція, що містить вектор, який кодує амінокислотну послідовність, принаймні на 95 % ідентичну SEQ ID NO: 4, 6, 12, 14, 16, 18, 20 або 22 або принаймні на 98 % ідентичну SEQ ID NO: 8 або 10.
17. Композиція за п. 15 або п. 16, яка **відрізняється** тим, що вектор є бакуловірусним вектором експресії або вектором аденовірусу собак.
- 55 18. Спосіб захисту поросяти проти хвороби, пов'язаної з пестивірусом, де спосіб включає введення вагітній свиноматці або свинці чи свиноматці або свинці перед паруванням композиції за будь-яким з пп. 1, 2, 8, 9, 15 і 16 у ефективній для захисту поросяти кількості.
19. Спосіб за п. 18, який **відрізняється** тим, що хвороба являє собою вроджений тремор.
20. Спосіб за п. 18, який **відрізняється** тим, що спосіб включає введення композиції вагітній свиноматці або свинці.
- 60 21. Спосіб за п. 18, який **відрізняється** тим, що спосіб включає введення композиції свиноматці або свинці перед паруванням.

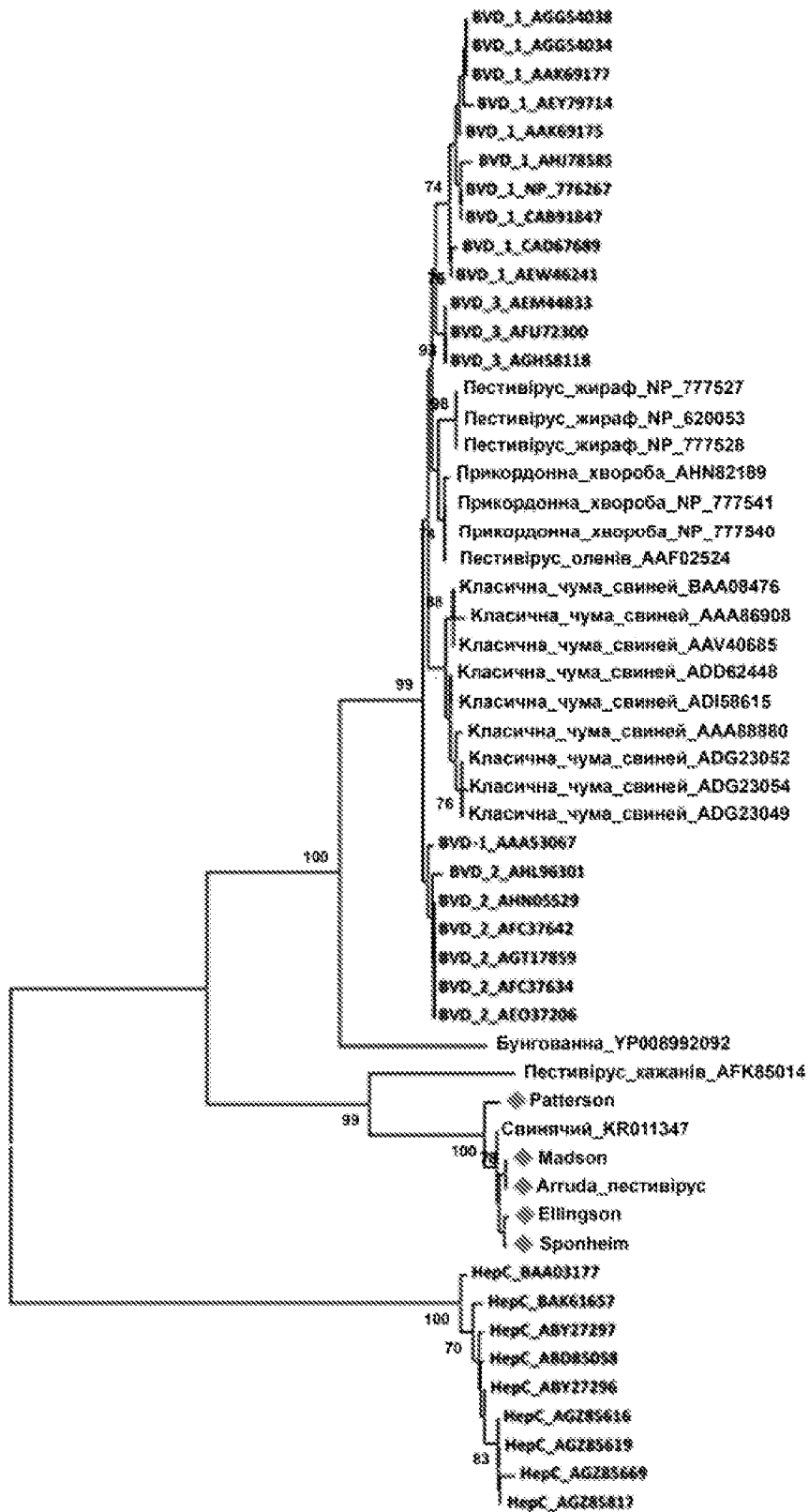
22. Спосіб за п. 18, який **відрізняється** тим, що спосіб включає внутрішньом'язове введення композиції свиноматці або свинці.

23. Спосіб за п. 18, який **відрізняється** тим, що введення є першим введенням, і де спосіб додатково включає друге введення через період від одного до трьох тижнів після першого введення.

5



ФІГ. 1



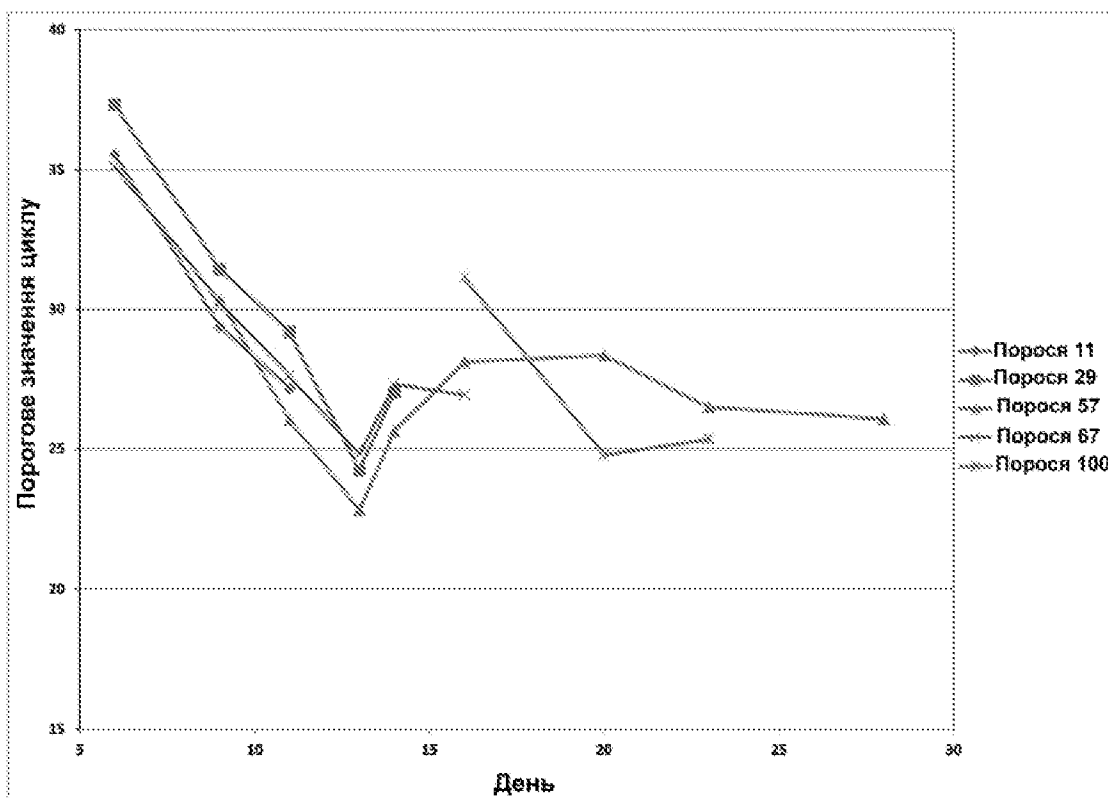
ФІГ. 2

Амінокислотна ідентичність

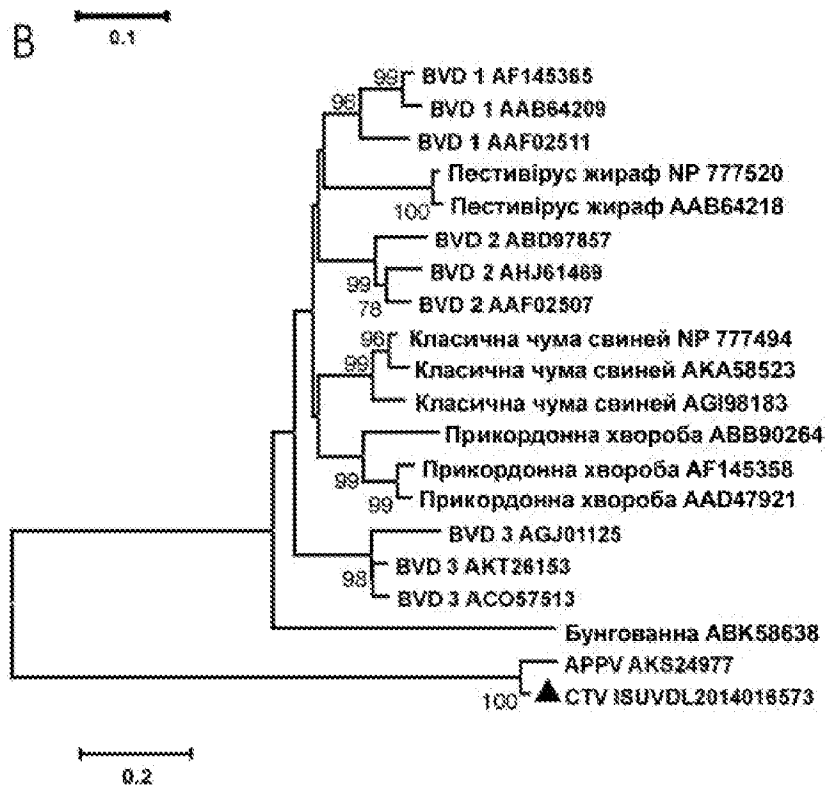
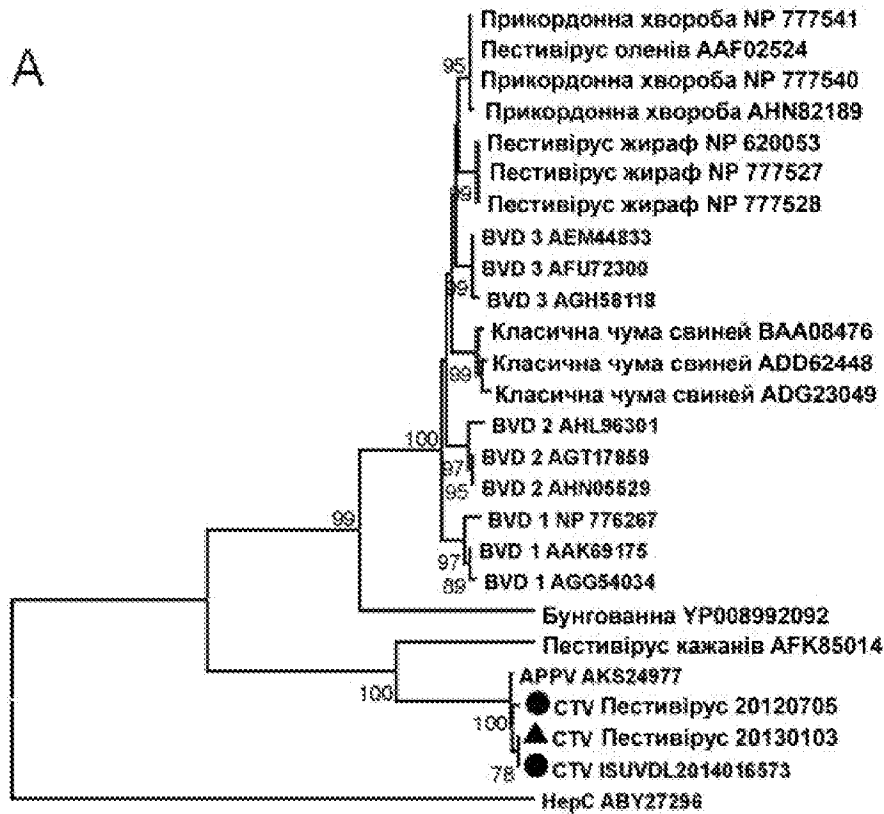
	Patterson	Sponheim	Madson	Ellingson	Arruda
Patterson		95,6%	95,1%	98,3%	95,6%
Sponheim	93,9%		98,3%	97,1%	98,6%
Madson	83,7%	89,2%		95,9%	100%
Ellingson	98,5%	93,4%	88,7%		97,5%
Arruda	88,1%	88,1%	99,1%	88,9	

Нуклеотидна ідентичність

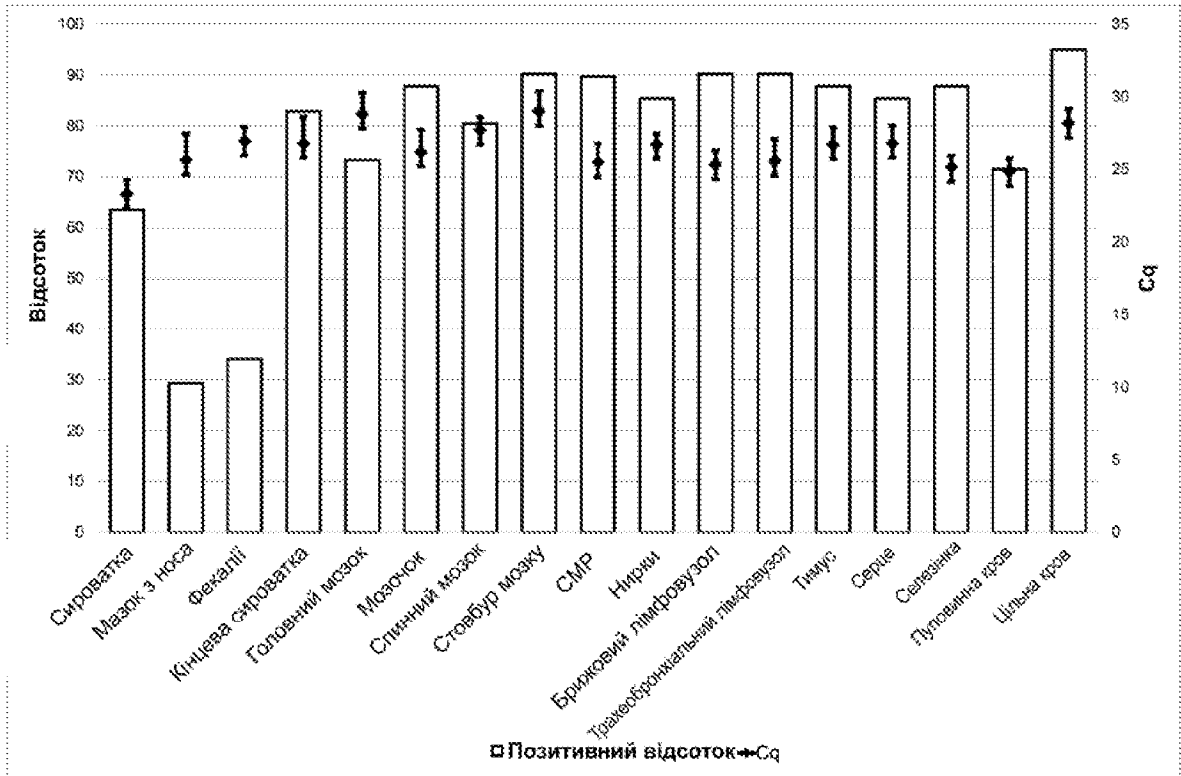
ФІГ. 3



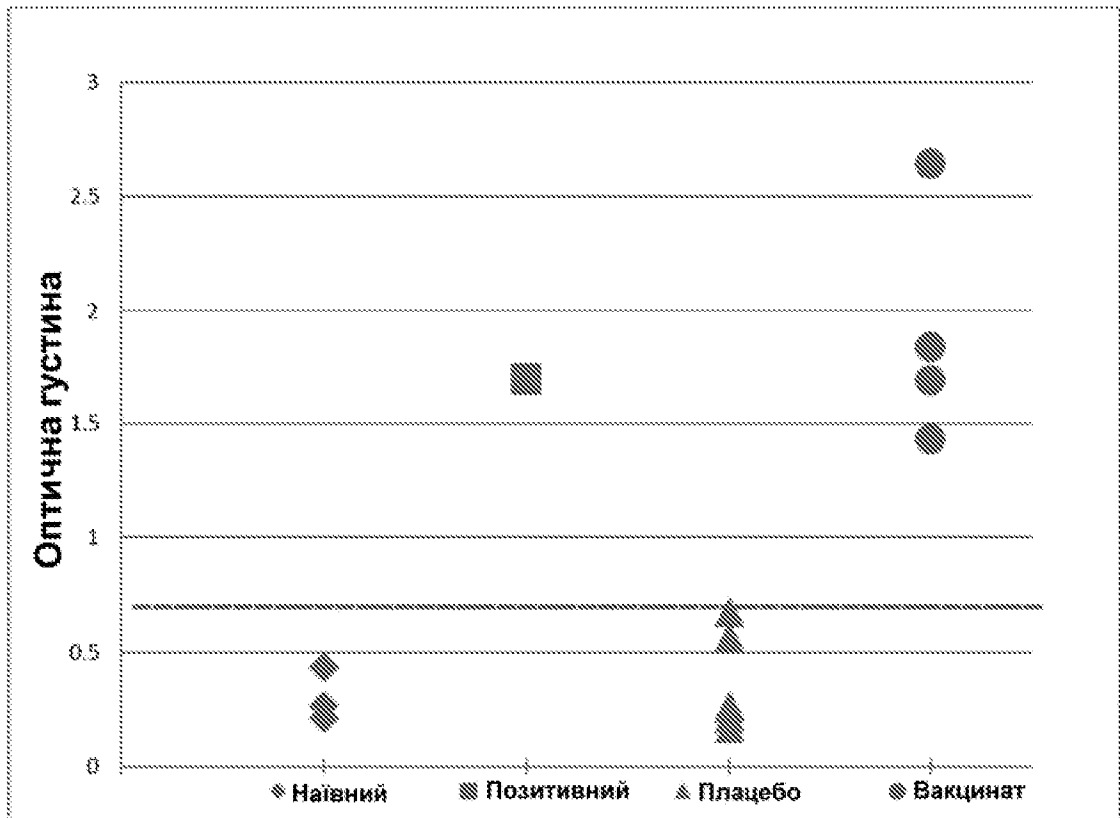
ФІГ. 4



ФІГ. 5А та 5В



ФІГ. 6



ФІГ. 7