



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 106475

(13) C2

(51) МПК

A61K 39/12 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2011 03422

(22) Дата подання заявки: 24.08.2009

(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 10.09.2014

(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 61/091,614

(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 25.08.2008

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

(41) Публікація відомостей про заявку: 25.06.2011, Бюл.№ 12

(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.09.2014, Бюл.№ 17

(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/US2009/054775, 24.08.2009

(72) Винахідник(и):

Руф Майкл Б. (US),
Вон Ерік (US)

(73) Власник(и):

БЬОРІНГЕР ІНГЕЛЬХАЙМ ВЕТМЕДІКА,
ІНК.,
2621 North Belt Highway, St. Joseph, MO
64506-2002, United States of America (US)

(74) Представник:

Петров Андрій Володимирович, реєстр.
№139

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:

US 2004009190 A1, 15.01.2004.

UA 200708834 A, 10.12.2007.

UA 39991 C2, 16.07.2001.

UA 47433 C2, 15.07.2002.

UA 68326 C2, 16.08.2004.

CANO ET AL.: "Impact of a modified-live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine intervention on a population of pigs infected with a heterologous isolate", VACCINE, ELSEVIER LTD, GB, vol. 25, no. 22, 6 May 2007 (2007-05-06), pages 4382-4391.

LV ET AL.: 'An infectious cDNA clone of a highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus variant associated with porcine high fever syndrome' JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY vol. 89, 28 May 2008, pages 2075 - 2079.

TIAN ET AL.: 'Emergence of Fatal PRRSV Variants: Unparalleled Outbreaks of Atypical PRRS in China and Molecular Dissection of the Unique Hallmark' JOURNAL OF PLOS ONE vol. 2, no. 6, 13 June 2007, pages 1 - 10.

(54) СПОСІБ ВАКЦИНАЦІЇ СВИНІ ПРОТИ ВИСОКОПАТОГЕННОГО РЕПРОДУКТИВНО-РЕСПІРАТОРНОГО СИНДРОМУ СВИНЕЙ (HP PRRS)

(57) Реферат:

Винахід належить до способу вакцинації свиней від захворювання під впливом форми PRRS, що відрізняється високою температурою і викликається вірусом HP PRRS, який полягає у введенні свині імуногенної композиції, що містить в ефективній кількості ослаблену форму вірусу PRRS типу II, штам якого зареєстрований під № ATCC VR-2332.

UA 106475 C2

Перелік послідовностей

У дану заявку входить перелік послідовностей у паперовій версії й електронній версії, сутність і зміст яких включені у даний опис як посилання.

Передумови створення винаходу

5 Область техніки, до якої відноситься винахід

Даний винахід відноситься у цілому до вакцин проти інфекційних хвороб. Більше конкретно він відноситься до вакцин проти високопатогенного репродуктивно-респіраторного синдрому свиней (HP PRRS), вірусного захворювання, що вражає свиней.

Опис відомого рівня техніки

10 Репродуктивно-респіраторний синдром свиней (PRRS) являє собою серйозне захворювання свиней, і воно характеризується або розладом органів відтворення порослих свиней, або порушенням дихального шляху, насамперед у порослят-сисунців. Це вірусне захворювання було вперше виявлене у Сполучених Штатах у 1987 р., потім воно було виявлене в Європі й ідентифіковане в Азії на початку 1990-х років. До теперішнього часу PRRS поширився по всьому світу, характеризуючись ендемічністю для країн, в яких вирощують свиней, приводячи щороку до значних економічних втрат. Збудником PRRS є вірус репродуктивно-респіраторного синдрому свиней (PRRSV), що поряд із вірусом підвищення рівня лактатдегідрогенази мишей (LDEV), вірусом артеріїту коней (EAV) і мав'ячим вірусом геморагічної лихоманки (SHFV) належить до сімейства Arteriviridae загону Nidovirales.

20 PRRSV, що є представником невеликих покритих оболонкою вірусів, має геном, що представлений одним позитивним ланцюгом (ssPHK) розміром приблизно 15,1-15,5 т.п.н., що містить щонайменше 8 відкритих рамок зчитування (BP3), які кодують приблизно 20 передбачуваних білків. Геном містить також дві нетрансльовані області (UTR) на 5'- і на 3'-кінцях. Так, BP31 (BP31a і BP31b) локалізована у прямому напрямку відносно 5'- UTR і на її частку доводиться більше 2/3 повного генома. BP31a транслюється безпосередньо, у той час як BP31b транслюється зі зрушенням рибосомної рамки зчитування, що приводить до утворення великого поліпротеїну BP31ab, з якого у результаті протеолітичного розщеплення утворюються продукти, пов'язані з системою транскрипції й реплікації вірусу. BP3 2-7, локалізовані у зворотньому напрямку відносно 3'-UTR, кодують ряд вірусних структурних білків, асоційованих з віріоном, таких як оболонковий білок (E) і нуклеокапсидний білок (N). Всі ці білки транслюються з 3'-котермінального блоку субгеномних мPHK (sgmPHK).

30 Філогенетичний аналіз ізолятів PRRSV з різних географічних регіонів у світі чітко продемонстрував наявність двох основних генотипів: тип I представлений європейським прототипом (вірус Лелістада, (LV), а тип II представлений північно-американським штамом ATCC VR2332 (геномна послідовність VR2332 перебуває у GenBank, реєстраційний № AY150564) як прототип (Murtaugh та ін., Arch Virol. 140, 1995, ss. 1451-1460). Крім того, у деяких дослідженнях встановлено, що BP35 і ген (nsp2), що кодує неструктурний білок 2 (NSP2), можуть являти собою найбільше генетично варіабельні області у геномі PRRSV (див. SwissProt, реєстраційний № Q9WJB2 або SEQ ID NO:2, в якій представлена послідовність NSP2 VR2332).

40 Відомо також, що штами PRRSV значно відрізняються за патогенністю.

У 2006 р. відбувся великомасштабний спалах, що не має собі рівних, раніше невідомого, але позначеного у цілому як "як супроводжується сильною лихоманкою (відрізняється високою температурою) форма" захворювання з симптомами PRRS, що поширилася більше ніж у 10 провінціях і вразила понад 2000000 свиней, з яких загинуло приблизно 400000. На відміну від типової форми PRRS "формою, що відрізняється високою температурою" уражалось також багато дорослих свиней. Ця пандемія атипового PRRS спочатку була ідентифікована як захворювання свиней, що нагадує холеру, для якого характерні неврологічні симптоми (наприклад, тремтіння), висока температура (40–42 °C), ериматозна зникаюча висипка тощо. Аутопсії у сполученні з імунологічними аналізами чітко продемонстрували ураження високопатогенними PRRSV багатьох органів, в яких були виявлені серйозні патологічні зміни (Tian та ін., PLoS ONE., 2(6), 2007, e526). Аналіз усього генома виділених вірусів дозволив установити, що ці ізоляти PRRSV відносяться до типу II і мають високий рівень гомології з HB-1, китайським штамом PRRSV (ідентичність на рівні нуклеотидної послідовності 96,5 %) і з JX143 (Yuan та ін., International PRRS Symposium, Chicago, (Міжнародний симпозіум по PRRS, Чикаго) 2007 р.). Геномна послідовність JX143 представлена у SEQ ID NO:1 або в EMBL/GenBank, реєстраційний № EU708726. Встановлено також, що ці вірусні ізоляти містять унікальну молекулярну відмітну ознаку, а саме переривчасту делецію 30 амінокислот у неструктурному білку 2 (NSP2) (Tian та ін., PLoS ONE., 2(6), 2007, e526). Форму PRRS, "що відрізняється високою температурою", у цей час позначають також як "високопатогенний PRRS" або HP PRRS.

Виділення вірусу PRRS (PRRSV) і виготовлення вакцин проти PRRS, які містять або модифікований живий (ослаблений), або інактивований PRRSV, описане у численних публікаціях (WO 92/21375, WO 93/06211, WO 93/03760, WO 93/07898, WO 96/36356). Зокрема, у WO 93/03760 описані методи виділення, культивування, ослаблення вірусу PRRS, а також виготовлення відповідних вакцин і, насамперед ізоляту прототипу PRRS типу II ATCC VR-2332. У WO 96/36356 описано, зокрема, придатне для застосування ослаблене потомство вищевказаного ізоляту, отримане шляхом серійних пасажів у клітинах мавп, що депоновано під реєстраційним номером ATCC VR-2495. Відповідний продукт у вигляді модифікованої живої вакцини (MLV) надходить у продаж від фірми Boehringer Ingelheim під маркою Ingelvac® PRRS MLV. Інша MLV-вакцина на основі ізоляту типу II надходить у продаж під маркою Ingelvac® PRRS ATP.

Придатною стратегією попередження PRRS є вакцинація. Однак поки не відомо, чи буде мати ефективність вакцинація проти HP PRRS, і який тип вакцини можна застосовувати.

Опис винаходу

При створенні винаходу зненацька було встановлено, що ослаблені штами вірусу PRRS типу II можна застосовувати для вакцинації й захисту свиней від форм хвороби, що відрізняються високою температурою, які асоційовані з репродуктивно-респіраторним синдромом свиней. Ідентифікація профілактичних властивостей ослаблених штамів вірусів PRRS типу II може дозволити лікувати свиней, що мають високий ризик зараження, наприклад, HP PRRS. Зазначена програма вакцинації або лікування може сприяти зниженню ймовірності виникнення інших спалахів HP PRRS, аналогічних тому, який розорив свинарство Китаю у 2006 р. і привів до відбраковування грубо 20 мільйонів свиней, або зниженню їх впливу.

Одним із об'єктів даного винаходу є спосіб профілактичного захисту свиней від впливу форми хвороби, що відрізняється високою температурою, який полягає у тому, що вводять свині, яка має потребу у цьому, імуногенну композицію, що містить в ефективній кількості вірус PRRS типу II, переважно ослаблений вірус PRRS типу II. Композиція може містити також фармацевтично прийнятний носій. Композиція може містити також ад'ювант. Спосіб можна застосовувати в якості превентивної або лікувальної міри. Крім того, введення в ефективній кількості такої імуногенної композиції приводить до зниження коефіцієнта захворюваності або серйозності клінічних симптомів форм захворювання PRRS, що відрізняються високою температурою.

У винаході запропонований також спосіб вакцинації свиней від форми хвороби, що відрізняється високою температурою, який полягає у тому, що вводять свині імуногенну композицію, що містить в ефективній кількості вірус PRRS типу II, переважно ослаблений вірус PRRS типу II. Композиція може містити також фармацевтично прийнятний носій. Композиція може містити також ад'ювант. Крім того, введення в ефективній кількості такої імуногенної композиції приводить до зниження коефіцієнта захворюваності або серйозності клінічних симптомів форми захворювання PRRS, що відрізняється високою температурою.

Хвороба, що відрізняється високою температурою, може являти собою форму, асоційовану з репродуктивно-респіраторним синдромом свиней. Репродуктивно-респіраторний синдром свиней може являти собою високопатогенний ("HP PRRS"). HP PRRS або форму хвороби, що відрізняється високою температурою, можна виявляти у свині за наявності одного або декількох наступних клінічних симптомів: гіперемія шкіри, плями крові, петехіальний крововилив, ериматозна зникаюча висипка й папули, часто присутні у вухах, ротовій порожнині, носовій порожнині, на спині й внутрішній поверхні стегон. Інші звичайні симптоми можуть включати високу температуру (температура більше 40 °C), депресію, анорексію, кашель, астму, кульгавість, тремтіння, порушення дихального шляху й діарею. HP PRRS викликається вірусом HP PRRS.

Іншим об'єктом винаходу є спосіб профілактичного захисту свині від інфекції, що викликається вірусом HP PRRS, який полягає у тому, що вводять свині, що має потребу у цьому, імуногенну композицію, що містить в ефективній кількості вірус PRRS типу II, переважно ослаблений вірус PRRS типу II.

Присутність вірусу HP PRRS, відкритого у 2002 р. у Китаї як представника генотипу 2 PRRS, корелює з так званою формою хвороби, що відрізняється високою температурою. Після цього було встановлено, що вірус HP PRRS став домінантним у деяких провінціях Китаю, що свідчить про його виборчу перевагу при поширенні в уражених популяціях свиней у порівнянні з іншими вірусами PRRS.

Поняття "вірус HP PRRS" означає (але, не обмежуючись тільки ними) штам вірусу PRRS, що має нуклеотидну послідовність, практично ідентичну послідовності, представлений у SEQ ID NO: 1. Переважно вірус HP PRRS являє собою штам вірусу PRRS, що має нуклеотидну

послідовність, практично ідентичну послідовності, представлений у SEQ ID NO: 1. Практично ідентична послідовності, представлений у SEQ ID NO: 1, означає, що нуклеотидна послідовність штаму вірусу PRRS переважно містить послідовність, ідентичну на 85-100 % послідовності, представлений у SEQ ID NO: 1, переважно за умови, що вірус HP PRRS не являє собою вірус PRRS типу II, зазначений у даному описі, наприклад, нуклеотидна послідовність BP35 менше ніж на 91 %, переважно менше ніж на 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % гомологічна послідовності BP35 VR2332, референс-ізоляту вірусу. Нуклеотидна послідовність штаму вірусу HP PRRS переважно більше ніж на 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 % або 89 % ідентична послідовності, представлений у SEQ ID NO: 1, також за умови, що вірус HP PRRS не являє собою вірус PRRS типу II, зазначений у даному описі, наприклад, нуклеотидна послідовність BP35 менше ніж на 91 %, переважно менше ніж на 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % гомологічна послідовності BP35 VR2332, референс-ізоляту вірусу. Ще більше переважно нуклеотидна послідовність штаму вірусу PRRS більше ніж на 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або більше 99 % ідентична послідовності, представлений у SEQ ID NO: 1, переважно за умови, що вірус HP PRRS не являє собою вірус PRRS типу II, зазначений у даному описі, наприклад, нуклеотидна послідовність BP35 менше ніж на 91 %, переважно менше ніж на 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % гомологічна послідовності BP35 VR2332, референс-ізоляту вірусу.

Поняття "вірус HP PRRS" може означати також будь-які штами вірусу PRRS, які мають певну модифікацію у білку NSP2. Відповідно до цього визначення штам вірусу HP PRRS являє собою штам вірусу PRRS, що кодує білок NSP2, в якому амінокислота, що відповідає лейцину у положенні 482 амінокислотної послідовності, представленої у SEQ ID NO: 2, вилучена у результаті делеції, і який викликає клінічний симптом у вигляді високої температури. Як альтернатива або у доповнення до делеції лейцину у зазначеному положенні в амінокислотній послідовності, представлений у SEQ ID NO: 2, амінокислоти, що відповідають амінокислотам 534-562 послідовності, представлений у SEQ ID NO: 2, можуть бути вилучені у результаті делеції з білка NSP2, що кодується вірусом PRRS. У цьому контексті послідовність, представлену у SEQ ID NO: 2, варто розглядати як приклад, і поняття білок NSP2 не обмежене білком NSP2, послідовність якого представлена у SEQ ID NO: 2. На основі зазначених вище відомостей фахівець у даній області може легко ідентифікувати будь-яку відповідну модифікацію у штаммах вірусу PRRS, які мають послідовність білка NSP2, що відрізняється від послідовності, представлений у SEQ ID NO: 2, але мають таку ж модифікацію, тобто делецію лейцину, що відповідає лейцину у положенні 482 послідовності, представлений у SEQ ID NO: 2, і/або делецію амінокислот, що відповідають амінокислотам 534-562 послідовності, представлений у SEQ ID NO: 2.

Крім того, вірус HP PRRS може означати також штам вірусу PRRS, що має нуклеотидну послідовність, практично ідентичну послідовності, представлений у SEQ ID NO: 1 (як вона описана вище) і кодує білок NSP2, в якому амінокислота, що відповідає лейцину у положенні 482 амінокислотної послідовності, представленої у SEQ ID NO: 2, і/або амінокислоти, що відповідають амінокислотам послідовності, представленої у 534-562 SEQ ID NO: 2, вилучені у результаті делеції з білка NSP2, що кодується вірусом PRRS.

Крім того, поняття "вірус HP PRRS" відноситься до вірусу HP PRRS, який являє собою штам вірусу PRRS, що має нуклеотидну послідовність, яка практично ідентична послідовності, представлений у SEQ ID NO: 1, за умови, що вірус HP PRRS не являє собою вірус PRRS типу II, зазначений у даному описі, наприклад, нуклеотидна послідовність BP35 менше ніж на 91 %, переважно менше ніж на 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % гомологічна послідовності BP35 VR2332, референс-ізоляту вірусу (як описано вище), і кодує білок NSP2, в якому амінокислота, що відповідає лейцину у положенні 482 амінокислотної послідовності, представленої у SEQ ID NO: 2, і/або амінокислоти, що відповідають амінокислотам 534-562 послідовності, представленої у SEQ ID NO: 2, вилучені у результаті делеції з білка NSP2, що кодується вірусом PRRS.

Крім того, поняття "вірус HP PRRS" відноситься до вірусу HP PRRS, який являє собою штам вірусу PRRS, що має нуклеотидну послідовність, яка практично ідентична послідовності, представлений у SEQ ID NO: 1, за умови, що вірус HP PRRS не являє собою вірус PRRS типу II, зазначений у даному описі, наприклад, нуклеотидна послідовність BP35 менше ніж на 91 %, переважно менше ніж на 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % гомологічна послідовності BP35 VR2332, референс-ізоляту вірусу (як описано вище), і кодує білок NSP2, при цьому антитіла, що мають реактивність до пептидів, що відповідають амінокислотам (ак) у положеннях 536-550 або 546-560, або 476-490, не мають до нього реактивність.

Крім того, відомо, що зазначені нижче ізоляти вірусу PRRS являють собою штами вірусу HP

PRRS. Таким чином, поняття "штам вірусу HP PRRS" у контексті даного опису повинно включати також будь-які зі зазначених штамів вірусів, а також будь-яке їхнє потомство: штам вірусу HP PRRS AH-1; AHCFSH; AHCFZC; BB07; BD-8; BQ07; CL07; CX07; CZ07; FY060915; FY080108; GC-2; GCH-3; GD1; GD2; GD2007; GD3; GD4; GDSD1; GDY1-2007; GDY2-2007; 5 GDYF1; GS2008; GXHZ12; GXHZ13; GXHZ14; GXHZ16; GXHZ19; GXHZ2; GXHZ21; GXHZ4; GXLZ5; GXLZ7; GY; GZCJ; GZDJ; GZHW1; GZHW2; GZHX; GZJS; GZKB; GZKY; GZLJ1; GZWB; GZWM; GZZB; Hainan-1; Hainan-2; HB1; HB2; HB3; HB-Tsh1; HB-Xt1; HEN46; HeN-KF; HeN-LH; HeN-LY; HLJDF; HLJMZ1; HLJMZ2; HLJMZ3; HLJZY; HM-1; HN2; HN2007; HN3; HNld; HNly; HNLY01; HNNX01; HNPJ01; HNsp; HNXT1; HNYy; HNYz; HQ-5; HQ-6; HUB; HuN; HUN1; HUN11; 10 HUN15; HUN16; HUN17; HUN2; HUN3; HUN4; HUN5; HUN6; HUN7; Hunan-1; Hunan-2; Hunan-3; HUNH2; HUNH4; HuNhl; HUNL1; HUNX4; HZ061226; HZ070105; Jiangsu-1; Jiangsu-2; Jiangsu-3; Jiangxi-2; Jiangxi-4; JLYS; JN; JX1; JX143; JX2; JX-2; JX2006; JX3; JX4; JX5; JXA1; KS06; LC07; LJ; LS06; LS-4; LY07; NB070319; SC07; SD; SD14; SDWF2; SH02; ST-7; SX2007; SY0608; TJDMJ; TJZHJ2; TJZHJ3; TQ; TQ07; TW07; WF07; XJ07; XL2008; YN2008; YNBS; YNDL; YNMG; YNWS; 15 YNYS; YNYX1; YNYX3; ZJ06; ZJCJ; ZJWL; ZX07; ZS070921. Поняття "потомство" не повинно бути обмежене ізолятом вірусу, отриманим з будь-якого батьківського вірусу, зазначеного вище, і що має нуклеотидну послідовність, яка ідентична більше ніж на 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % і 99 % нуклеотидної послідовності відповідного батьківського штаму вірусу.

Поняття "вірус PRRS типу II" означає (але, не обмежуючись тільки ним) штам вірусу PRRS, практично ідентичний ізоляту вірусу, що депонований як ATCC-VR2332, або будь-якому потомству ізоляту вірусу, що депонований як ATCC-VR2332. Практично ідентичний у контексті даного опису означає, що нуклеотидна послідовність, яка кодує білок BP35, ідентична на 85-100 % нуклеотидної послідовності ізоляту вірусу, що депонований як ATCC-VR2332, і 25 представленої у SEQ ID NO: 3. Нуклеотидна послідовність BP35 переважно більше ніж на 86 %, 87 %, 88 % або 89 % ідентична послідовності, представленої у SEQ ID NO: 3. Ще більше переважно нуклеотидна послідовність BP35 більше ніж на 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або більше ніж на 99 % ідентична послідовності, представленої у SEQ ID NO: 3. Переважно вірус PRRS типу II у контексті даного опису означає штам вірусу PRRS, який практично ідентичний ізоляту вірусу, що депонований як ATCC-VR2332, або будь-якому 30 потомству ізоляту вірусу, що депонований як ATCC-VR2332 (описаному вище), але в якому відсутня делеція у гені NSP2, який кодує амінокислоту, що відповідає амінокислотам 534-562 послідовності, представленої у SEQ ID NO: 2. Повна послідовність вірусу PRRS ATCC-VR2332 перебуває у GenBank під реєстраційним номером U87392.

Поняття "вірус PRRS типу II" повинно також включати будь-який ослаблений вірус, отриманий з кожного з перерахованих вище штамів вірусу PRRS типу II. Наприклад, поняття "вірус PRRS типу II" повинно також включати ослаблений вірус PRRS типу II, що депонований як ATCC-VR2495. Крім того, ослаблений вірус PRRS типу II може являти собою будь-яке 40 ослаблене потомство ізоляту вірусу, що депонований як ATCC-VR2332. У деяких кращих варіантах вірус PRRS типу II у сполученні з фармацевтично прийнятними носіями може являти собою вакцину Ingelvac® PRRS MLV (серійний № JA-A64A-149) фірми Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. (Сент-Джозеф, шт. Міссурі). Поняття "вірус PRRS типу II" може включати також ізоляти, позначені як HB-1; BJ-4; CH-1a; CH-1R; CH-1R01; HB-2; HN1; HT06; HZ07; LS05; LY03; NH04; PL97-1; S1; SH061130; SX071226; TW07-1; WF03; XX03; ZJJ04; ZJJ05; ZJJ07, які не 45 являють собою штамів HP PRRS китайського походження.

Іншим об'єктом даного винаходу є спосіб профілактики зараження свиней HP PRRS, який полягає у тому, що вводять свині, яка має потребу у цьому, імуногенну композицію, що містить в ефективній кількості вірус PRRS типу II, переважно ослаблений вірус типу PRRS типу II, де вірус PRRS типу II являє собою штам вірусу PRRS, який практично ідентичний ізоляту вірусу, що 50 депонований як ATCC-VR2332, або будь-якому потомству ізоляту вірусу, що депонований як ATCC-VR2332. Переважно вірус PRRS типу II не несе делецію в амінокислотах, що кодуються геном NSP2, які відповідають амінокислотам 534-562 послідовності, представленої у SEQ ID NO: 2. Ще більше переважно вірус PRRS типу II являє собою ослаблений вірус PRRS типу II, що депонований як ATCC-VR2495. Крім того, вірус PRRS типу II являє собою вакцину Ingelvac® 55 PRRS MLV (серійний № JA-A64A-149).

Ефективна кількість вірусу PRRS типу II може являти собою кількість вірусу, що викликає або має здатність викликати імунну відповідь у тварини, якій вводять вірус в ефективній дозі. Кількість, що є ефективною, може залежати від інгредієнтів вакцини й схеми введення. Якщо застосовують препарат інактивованого вірусу або модифікованого живого вірусу, то можна 60 рекомендувати застосовувати вакцину у кількості, що містить від $10^{2.0}$ до приблизно $10^{9.0}$ TCID₅₀.

(середня цитопатогенна доза (що інфікує 50 % клітин)), більше переважно від $10^{3,0}$ до приблизно $10^{4,0}$ TCID₅₀ і ще більше переважно від приблизно $10^{4,0}$ до приблизно $10^{8,0}$ TCID₅₀ на дозу.

Згідно з даним описом вірус PRRS типу II можна застосовувати у вигляді інактивованого повністю вбитого вірусу або у вигляді ослабленої форми вірусу PRRS типу II з метою профілактики свині для захисту від форми хвороби, що відрізняється високою температурою, зазначеної у даному описі. Крім того, субодиноци, включаючи імуногенні фрагменти або фракції вірусу PRRS типу II, можна застосовувати також з метою профілактики свині для захисту від форми хвороби, що відрізняється високою температурою.

Згідно з даним описом ослаблений вірус PRRS типу II можна застосовувати також у вигляді модифікованої живої вакцини (MLV), що містить один або декілька зазначених вище живих штамів у фармацевтично прийнятному носії. В іншому або додатковому варіанті інактивованій вірус можна застосовувати для одержання вбитої вакцини (KV), описаної вище. Можна використовувати препаративні форми MLV, які дозволяють вводити від 10^1 до 10^7 вірусних часток, переважно від 10^3 до 10^5 часток на дозу, більше переважно від 10^4 до 10^5 часток на дозу. Препаративні форми KV можна створювати на основі титру до інактивації, що становить від 10^3 до 10^{10} , від 10^4 до 10^9 , від 10^5 до 10^8 або від 10^6 до 10^7 вірусних часток на дозу.

Вірус PRRS типу II, переважно ослаблений вірус PRRS типу II, можна вводити свині перед обробкою свині штамом вірусу PRRS, який викликає HP PRRS, у вигляді профілактичної міри, одночасно з обробкою свині штамом вірусу PRRS, який викликає HP PRRS, або після обробки досліджуваної свині штамом вірусу PRRS, який викликає HP PRRS. Досліджувана свиня може мати одну або декілька клінічних ознак або загальних симптомів HP PRRS або форми хвороби, що відрізняється високою температурою, які описані вище. Досліджувана свиня може мати дуже високу чутливість до форми хвороби, що відрізняється високою температурою, яка асоційована з HP PRRS. Досліджувана свиня може мати дуже високу чутливість до HP PRRS. Досліджувана свиня може мати чутливість до HP PRRS через імунодефіцит. Досліджувана свиня може мати чутливість до HP PRRS залежно від того, на якій фермі вона вирощується. Чутлива свиня може вирощуватися на фермі у Китаї. Чутлива свиня може вирощуватися в провінції у Китаї, такий як провінція Цзянси, провінція Хебей або у місті Шанхай (див. Tian та ін., PLoS ONE, 2(6), 2007, e526, зміст зазначеної публікації включений у даний опис як посилання). Ослаблений вірус PRRS типу II можна вводити шляхом ін'єкції, інгаляції або за допомогою імплантата, при цьому ін'єкція є кращою. Залежно від необхідної тривалості й ефективності вакцинації або обробки вірус PRRS типу II, переважно ослаблений вірус PRRS типу II, можна вводити один або декілька разів, а також періодично, наприклад, на добовій основі протягом декількох днів, тижнів або місяців і у різних дозах. При цьому кращим є введення однієї дози. Ін'єкцію можна здійснювати у периферичну або центральну вену у необхідній кількості або в іншому варіанті застосовують безперервну інфузію. Вірус PRRS типу II, переважно ослаблений вірус PRRS типу II можна вводити орально, парентерально, підшкірно, внутрішньом'язово, внутрішньошкірно, під'язиково, трансдермально, ректально, через слизову оболонку, місцево або шляхом інгаляції, за допомогою трансбуккального введення або використовувати їх комбінацію. Вірус PRRS типу II, переважно ослаблений вірус PRRS типу II, можна застосовувати також у формі імплантата, що може забезпечувати повільне вивільнення ослабленого вірусу. Для внутрішньом'язового введення можна використовувати об'єм, що становить від 0,5 до 3 мл, більше переважно від 1 до 2,5 мл, ще більше переважно від 1,5 до 2 мл. Найбільше кращим є внутрішньом'язове введення 2 мл. Для внутрішньошкірного введення застосовують об'єм, що становить від 0,05 до 1 мл, більше переважно від 0,1 до 0,8 мл, ще більше переважно від 0,1 до 0,5 мл, ще більше переважно від 0,2 до 0,4 мл. Найбільше переважно для внутрішньошкірної ін'єкції можна використовувати 0,2 мл вірусу PRRS типу II можна використовувати об'єми, що становлять від 0,5 до 5 мл, більше переважно від 1 до 4 мл, ще більше переважно від 2 до 3 мл. Для внутрішньоносового введення найбільше переважно варто використовувати об'єм, що становить 3 мл.

Фармацевтично прийнятний носій може являти собою будь-який і всі такі агенти, як розчинники, диспергуючі середовища, матеріали для нанесення покриття, стабілізатори, розріджувачі, консерванти, антибактеріальні й протигрибкові засоби, агенти для надання ізотонічності, агенти, що сповільнюють адсорбцію, тощо.

"Ад'юванти" у контексті даного опису можуть являти собою гідроксид алюмінію й фосфат алюмінію, сапоніни, наприклад, Quil A, QS-21 (фірма Cambridge Biotech Inc., Кембрідж, шт. Массачусетс), GPI-0100 (фірма Galenica Pharmaceuticals, Inc., Бірмінгем, шт. Алабама), емульсію типу вода-у-маслі, емульсію типу масло-у-воді, емульсію типу вода-у-маслі-у-воді. Основою емульсії може бути легке рідке парафінове масло (типу тих масел, які входять в Європейську фармакопею); ізопреноїдне масло, таке як скваланове або скваленове масло,

отримане у результаті олігомеризації алкенів, зокрема ізобутену або децену; ефіри кислот або спиртів, що містять лінійну алکیلну групу, більше переважно рослинні масла, етилолеат, ди(каприлат/капрат) пропіленгліколя, три(каприлат/капрат) гліцерину або діолеат пропіленгліколя; ефіри розгалужених жирних кислот або спиртів, зокрема, ефір ізостеаринової

5 кислоти. Для одержання емульсії масло застосовують у сполученні з емульгаторами. Емульгатори переважно являють собою неіонні поверхнево-активні речовини, зокрема, ефіри сорбітану, маніду (наприклад, ангідроманітолеат), гліколя, полігліцерину, пропіленгліколя й олеїнової, ізостеаринової, рицинолової або гідроксистеаринової кислоти, які необов'язково є етоксильованими, і блок-співполімери поліоксипропілену-поліоксietiлену, зокрема продукти

10 типу Pluronic, насамперед L121 (див. Hunter та ін., *The Theory and Practical Application of Adjuvants*, під ред. Stewart-Tull D. E. S., вид-в JohnWiley and Sons, NY, 1995, сс. 51-94 і Todd та ін., *Vaccine* 15, 1997, сс. 564-570).

Наприклад, можна застосовувати емульсію фірми SPT, що описана на с. 147 у "*Vaccine Design, The Subunit and Adjuvant Approach*", під ред. M. Powell і M. Newman, вид-в Plenum Press, 1995, та емульсію MF59, описану на с. 183 у цій же книзі.

Іншим прикладом ад'юванту є сполука, вибрана з полімерів акрилової й метакрилової кислоти й співполімерів малеїнового ангідриду й похідного алкенілу. Кращими ад'ювантами є зшиті полімери акрилової й метакрилової кислоти, що насамперед зшиті з простими поліалкеніловими ефірами цукрів або поліспиртів. Ці сполуки відомі за назвою карбомер

20 (Phameugora, т. 8, №. 2, червень 1996 р.). Фахівці у даній області можуть ознайомитися також з US 2909462, в якому описані такі акрилові полімери, що зшиті з полігідроксильованою сполукою, що має щонайменше 3 гідроксильні групи, переважно не більше 8, атоми водню щонайменше трьох гідроксилів можуть бути заміщені ненасиченими аліфатичними радикалами, які мають щонайменше 2 атоми вуглецю. Кращими є радикали, які містять від 2 до 4 атомів вуглецю, наприклад, вініли, аліли й інші ненасичені етиленом групи. Ненасичені радикали можуть самі

25 включати замісників, таких як метил. Найбільше прийнятними є продукти, що надходять у продаж під назвою Карбопол; (фірма BF Goodrich, шт. Огайо, США). Вони зшиті з алілсахарозою або з аліппентаеритритолом. Серед них варто згадати Карбопол 974P, 934P і 971P. Найбільше переважно застосовують Карбопол 971P. Зі співполімерів малеїнового ангідриду й алкенільного похідного варто згадати співполімери ЕМА (фірма Monsanto), які являють собою співполімери малеїнового ангідриду й етилену. Розчинення цих полімерів у воді приводить до одержання кислого розчину, який треба нейтралізувати, переважно до фізіологічного значення pH, для одержання розчину ад'юванту, в який можна включати імуногенну, імунологічну композицію або

30 саму композицію вакцини.

Крім того, прийнятними ад'ювантами серед багатьох інших є (але, не обмежуючись тільки ними), ацетат α -токоферолу, система ад'ювантів RIBI (фірма Ribic Inc.), блок-співполімер (CytRx, Атланта, шт. Джорджія), SAF-M (Хірон, Емерівілл, шт. Каліфорнія), монофосфорил ліпиду А, ад'ювант на основі ліпиду авридину-аміну, термолабільний ентеротоксин з *E. coli* (рекомбінатний або будь-який інший), холерний токсин, IMS 1314 або мураміддипептид.

Переважно ад'ювант додають у кількості від приблизно 100 мкг до приблизно 10 мг на дозу. Ще більше переважно ад'ювант додають у кількості від приблизно 100 мкг до приблизно 10 мг на дозу. Ще більше переважно ад'ювант додають у кількості від приблизно 500 мкг до приблизно 5 мг на дозу. Ще більше переважно ад'ювант додають у кількості від приблизно 750 мкг до приблизно 2,5 мг на дозу. Найбільше переважно ад'ювант додають у кількості приблизно

45 1 мг на дозу.

Винахід відноситься також до способу одержання ослабленого вірусу PRRS типу II, який можна застосовувати для лікування або імунізації досліджуваної свині від HP PRRS. Спосіб може полягати у тому, що здійснюють одну або декілька наступних стадій: (а) здійснюють пасаж ATCC-VR2332 або будь-якого вірусу PRRS типу II, практично ідентичного ATCC-VR2332, відповідно до описаного нижче процесу для модифікації вірусу й надання йому авірулентності й здатності імунізувати досліджувану свиню проти HP PRRS, (б) збирають отримані клітини або клітинну культуру вірусу, (в) додають стабілізатор в отриману культуру вірусу; і/або (г) ліофілізують отриману культуру вірусу. Пасаж вірусу може передбачати застосування класичних методів розмноження й селекції; наприклад, тривале розмноження у прийнятних

50 клітинах-хазяїнах для посилення ослабленого фенотипу. Пасажі можуть приводити до одержання вірусного штаму, що несе придбані мутації, багато хто з яких можуть не змінювати істотно властивості батьківського штаму. Ослаблений вірус PRRS типу II можна одержувати на основі ATCC-VR2332 або будь-якого іншого вірусу PRRS типу II, практично ідентичного ATCC-VR2332, пасажі якого у клітини-хазяїні здійснювали щонайменше 60, 65, 70, 75, 80 або більше разів. Ослаблений вірус PRRS типу II можна одержувати з ATCC-VR2332 або будь-якого вірусу

60

PRRS типу II, практично ідентичного ATCC-VR2332, після пасажів у клітині-хазяїні від 50 до 100 разів, від 60 до 90 разів, від 70 до 80 разів або від 65 до 75 разів. Ослаблений вірус PRRS типу II можна одержувати з ATCC-VR2332 або будь-якого вірусу PRRS типу II, практично ідентичного ATCC-VR2332, після пасажів у клітині-хазяїні від 70 до 75 разів. Прийнятна клітина-хазяїн може являти собою мавпячу клітинну лінію, клітини Vero або альвеолярні свинячі макрофаги. Кращою мавпячою клітинною лінією є MA-104. Клітина-хазяїн може являти собою культуру клітин. Клітинна лінія може бути заражена вірусом, що підлягає пасируванню. При здійсненні кожного пасажу може вимагатися інкубація клітинної лінії, що утворилася зараженою вірусом, або культури клітин при температурі від 34 °C до 40 °C, більше переважно від 35 °C до 39 °C, ще більше переважно від 36 °C до 38 °C і ще більше переважно від 35 °C до 37 °C. Найбільше переважно при здійсненні кожного пасажу може вимагатися інкубація клітинної лінії, що утворилася зараженою вірусом, або культури клітин при температурі 37 °C. Стадія збору може включати заморожування зараженої вірусом клітинної культури. Ліофілізація може включати сублімацію вологи із замороженого зразка зараженої вірусом клітинної культури.

Для одержання ослабленого вірусу PRRS типу II можна використовувати також модифікацію вірусу й для цієї мети можна застосовувати спрямовану мутацію нуклеотидної послідовності штаму вірусу за допомогою придатних методів генної інженерії. Зазначені методи можна застосовувати для створення повнорозмірної нуклеотидної копії вірусного геному, що може бути модифікований за допомогою методів рекомбінації нуклеїнових кислот і маніпуляції ними. У таких методах можна застосовувати сайтнаправлений мутагенез. Потім можна модифікувати антигенні центри або ферментативні властивості вірусних білків.

Винахід відноситься також до набору, призначеному для здійснення будь-якого з вищевказаних методів. Набір може включати контейнер, імуногенну композицію, що переважно містить ослаблений вірус PRRS типу II, фармацевтично прийнятний носій, ад'ювант та інструкції з введення імуногенної композиції тварині, що має потребу у цьому, з метою зниження коефіцієнта захворюваності або серйозності клінічних симптомів або впливів зараження PRRS і переважно форм PRRS або HP-PRRS, що відрізняються високою температурою. Набір може містити також засоби для здійснення ін'єкції й/або засоби для інших форм введення. Набір може містити також розчинник. Вакцину на основі ослабленого вірусу можна сушити виморожувановим та її можна відновлювати за допомогою розчинника, одержуючи розчин, призначений для ін'єкції й/або інгаляції. Розчинник може являти собою воду, фізіологічний розчин, буфер або розчин ад'юванту. Набір може включати різні контейнери для ослабленого вірусу, розчинника й/або фармацевтично прийнятного носія. Інструкції можуть являти собою листівку й/або етикету, прикріплену до одного або декількох контейнерів.

Короткий опис креслень

На кресленнях показано:

на фіг. 1 - схема, відповідно до якої здійснювали бальну оцінку стану легенів і визначали відсоток площі легені, що має видимі неозброєним оком ознаки пневмонії;

на фіг. 2 - графік, на якому представлене порівняння ректальної температури свиней у вакцинованих і невакцинованих групах;

на фіг. 3 - графік, на якому представлене порівняння середніх значень співвідношення S/P для свиней у вакцинованих і невакцинованих групах; середнє значення S/P, визначене методом ELISA, застосовували як критерій серологічної відповіді відповідній групі на PRRSV;

на фіг. 4 - графік, на якому продемонстроване порівняння групових середніх клінічних балів у свиней у вакцинованих і невакцинованих групах при реєстрації балів респіраторного захворювання у свиней у вакцинованих і невакцинованих групах;

на фіг. 5 - графік, на якому продемонстроване порівняння середнього добового приросту маси (тіла) (ADG) свиней у вакцинованих і невакцинованих групах;

на фіг. 6 - графік, на якому продемонстрований сумарний відсоток PRRSV-позитивної за даними ЗТ-ПЛР сироватки у вакцинованих MLV свиней і невакцинованих/підданих контрольному зараженню свиней.

Докладний опис винаходу

Визначення

Застосовувана у контексті даного опису термінологія дана тільки з метою опису конкретних варіантів здійснення винаходу й не спрямована на обмеження його обсягу. У даному описі й у прикладній формулі винаходу згадування поняття в однині має на увазі також його вживання у множині, якщо з контексту ясно не впливає інше.

При вказівці чисельних діапазонів мається на увазі, що кожне чисельне значення, яке перебуває всередині діапазону характеризується тим же самим ступенем точності. Наприклад, під діапазон значень 6-9 підпадають крім 6 і 9 чисельні значення 7 і 8, і очевидно, що під

діапазон значень 6,0-7,0 підпадають чисельні значення 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 і 7,0.

У контексті даного опису поняття "ослаблений вірус" може означати авірулентний вірус, який не викликає клінічних симптомів захворювання PRRS, але має здатність індукувати імунну відповідь у досліджуваного свавця, і воно може означати також, що клінічні симптоми знижені за частотою або серйозністю у тварин, заражених ослабленим вірусом, у порівнянні з "контрольною групою тварин", заражених неослабленим вірусом PRRS і не підданих впливу ослабленого вірусу. У цьому контексті "знижен/знижений" означає, що зниження становить щонайменше 10 %, переважно 25 %, ще більше переважно 50 %, найбільше переважно більше 100 % у порівнянні з контрольними групами, зазначеними вище.

У контексті даного опису "імуногенний фрагмент" може означати частину пептиду або поліпептиду або нуклеотидної послідовності вірусу PRRS типу II, що може формувати імунну відповідь у хазяїна, включаючи клітинно- і/або антитіло-опосередковану імунну відповідь на PRRSV.

У контексті даного опису поняття "ідентичні" або "ідентичність" двох або більшої кількості поліпептидних або нуклеотидних послідовностей можуть означати, що послідовності мають певний відсоток однакових залишків або нуклеотидів у конкретній області. Відсоток можна розраховувати шляхом оптимального вирівнювання двох послідовностей, порівняння двох послідовностей у конкретній області з визначенням кількості положень, в яких перебувають ідентичні залишки в обох послідовностях, одержання кількості співпадаючих положень, розподілу кількості співпадаючих положень на загальну кількість положень у конкретній області й множення результату на 100, одержуючи тим самим відсоток ідентичності послідовностей. У випадку, коли дві послідовності мають різну довжину або коли у результаті вирівнювання одержують один або декілька виступаючих кінців, і конкретна область, для якої здійснюють порівняння, включає тільки одну послідовність, то при розрахунку залишки однієї послідовності включають у знаменник, але не у чисельник дробу.

Ізолят PRRS ATCC VR-2332 депонований відповідно до Будапештського договору в Американській колекції типових культур, Роквілл, шт. Меріленд 7 липня 1992 р. і йому привласнений реєстраційний № ATCC VR-2332.

Ізолят PRRS VR-2495 депонований відповідно до Будапештського договору в Американській колекції типових культур, Роквілл, шт. Меріленд 28 січня 1995 р. і йому привласнений реєстраційний № ATCC VR-2495.

У контексті даного опису "імуногенна композиція" або "вакцина" означає композицію, що містить вірус PRRS типу II (MLV або вбитий вірус) або його будь-який імуногенний фрагмент або фракцію, переважно ослаблений вірус PRRS типу II, таку як Ingelvac PRRS MLV або Ingelvac PRRS ATP, що викликає "імунологічну відповідь" у хазяїна, включаючи клітинно- і/або антитіло-опосередковану імунну відповідь на PRRSV. Переважно зазначена імуногенна композиція може забезпечувати захисний імунітет проти зараження PRRSV і асоційованих із ним клінічних симптомів.

У контексті даного опису поняття "викликає імунологічну відповідь або імунну відповідь" означає здатність викликати будь-який клітинно- і/або антитіло-опосередковану імунну відповідь на імуногенну композицію або вакцину, введену тварині, яку обробляють імуногенною композицією або вакциною. Як правило "імунна відповідь" включає (але, не обмежуючись тільки ними) одну або декілька з наступних реакцій: виробництво або активацію антитіл, В-клітин, Т-клітин-хелперів, Т-клітин-супресорів і/або цитотоксичних Т-клітин і/або $\gamma\delta$ -Т-клітин, специфічно спрямованих на антиген або антигени, включений(і) у композицію, що представляє інтерес, або вакцину. Переважно хазяїн повинен виробляти або терапевтичну, або захисну імунологічну (вторинну імунну) відповідь так, щоб підвищувалася стійкість до нової інфекції й/або знижувалася клінічна серйозність захворювання у порівнянні з контрольними тваринами, яким не вводили імуногенну композицію або вакцину. Таку захисну дію можна виявляти або за зниженням ймовірності або серйозності захворювання, аж до відсутності симптомів, асоційованих із зараженням хазяїна, як описано вище.

У контексті даного опису "захисний імунітет" означає стійкість групи тварин до зараження PRRS, переважно HP PRRS, може бути підвищена у порівнянні з контрольною групою тварин, заражених HP PRRS, але не оброблених імуногенною композицією або вакциною, що містить вірус PRRS, переважно вірус PRRS типу II.

У контексті даного опису поняття "підвищена стійкість" означає, що менше ніж у 10 %, переважно менше ніж у 20 %, ще більше переважно менше ніж у 30 %, ще більше переважно менше ніж у 40 %, ще більше переважно менше ніж у 50 %, ще більше переважно менше ніж у 75 %, ще більше переважно менше ніж у 100 % тварин, яких обробляли імуногенною

композицією або вакциною, запропонованою у винаході, розвився один або декілька клінічних симптомів, асоційованих із формою захворювання, що відрізняється високою температурою, переважно викликану HP PRRS, як зазначено у даному описі, у порівнянні з групою тварин, заражених PRRS, але не оброблених імуногенною композицією або вакциною.

5 У контексті даного опису поняття "практично комплементарна" означає, що перша послідовність щонайменше на 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична комплементу другої послідовності в області, що складається з 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 або більшої кількості нуклеотидів, або що дві послідовності гібридизуються у суворих умовах гібридизації.

10 У контексті даного опису "практично ідентичні" означає, що перша й друга послідовність ідентичні щонайменше на 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % або 99 % в області, що складається з 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 або більшої кількості нуклеотидів або амінокислот, або відносно нуклеїнових кислот, якщо перша послідовність практично комплементарна комплементу другої послідовності.

"Свиня", "молода свиня" і "порося" у контексті даного опису застосовують взаємозамінно.

"Вакцинація" відноситься до введення імуногенної композиції або вакцини, представленої у даному описі, перед впливом форм захворювання PRRS або HP-PRRS, що відрізняються високою температурою.

20 "Захищати" або "захист" відноситься до зниження серйозності або зустрічальності клінічних симптомів зараження HP-PRRS або форм захворювання PRRS, що відрізняються високою температурою, у результаті введення імуногенної композиції, запропонованої у даному винаході. Зниження серйозності або зустрічальності оцінюють у порівнянні з твариною або групою тварин, яку(их) не обробляли імуногенною композицією, запропонованою у даному винаході.

Кращі варіанти здійснення винаходу

Нижче у прикладах представлені кращі матеріали й процедури, застосовувані у даному винаході. Хоча при втіленні на практиці й перевірці даного винаходу можна застосовувати будь-які матеріали й методи, аналогічні або еквівалентні представленим у даному описі, нижче описані кращі методи, пристрої й матеріали. Однак варто розуміти, що ці приклади дані тільки з метою ілюстрації й не спрямовані на обмеження загального обсягу винаходу.

Приклади

35 Нижче у прикладах проілюстрована високовірулентна природа ізоляту PRRSV JX143. У свиней, яких вакцинували за допомогою Ingelvac® PRRS MLV, виявлена 100 %-а виживаність та істотна більше висока гуморальна імунна відповідь, більше низьке співвідношення клінічних симптомів PRRS і віремії, менше серйозне ураження легенів, менша кількість, більше слабкі й більше короткі клінічні симптоми й більше короткий період наявності високої ректальної температури у порівнянні з невакцинованими свинями після з контрольного зараження високовірулентним штамом PRRSV.

Матеріали й методи

1.1. Вакцини й вірус

45 Вакцину Ingelvac® PRRS MLV (серійний № JA-A64A-149) одержували від фірми Boehringer Ingelheim Vetmedica. Високовірулентний ізолят PRRSV JX143 був виділений у Шанхайському дослідницькому інституті ветеринарії (Shanghai Veterinary Research Institute). Для інокуляції свиней тканинну культуру, що містить PRRSV JX143 (105,2 TCID₅₀/мл) розводили у п'ять разів за допомогою середовища DMEM.

1.2. Праймери й реагенти

50 Полімерази, що ініціює зворотну транскрипцію, і ДНК-схеми купували у компанії Tiangen biotechnology. Дворазову (2×) ПЛП-суміш купували у компанії Dongsheng. Використовували Trizol® і праймери компанії Invitrogen.

Таблиця 1

Праймери, що застосовують для ЗТ-ПЛП-ампліфікації

Назва праймера	Послідовність
SF14413	5'-CTGATCGACCTCAAAAGAGTTGTGCTTG-3" (SEQ ID NO: 4)
SR15497	5'-CAATTAAATCTTACCCCCACACGGTCG-3" (SEQ ID NO: 5)
Qst	5'-gagtgacgaggactcgagcgcatataTTTTTTTTTTTTT-3" (SEQ ID NO: 6)

1.3 Джерело використовуваних тварин і їх поділ на групи

П'ятдесят (50) свиней 29-денного віку купували для досліду на племінній свинарській фермі Hengan Muayan. За допомогою ЗТ-ПЛР (для PRRSV і PCV2) і ELISA (набір анти-PRRSV, фірма IDEXX Laboratory, Inc.) шляхом трикратного аналізу зразків сироватки, зібраних у момент прибуття, було підтверджено, що тварини були PRRSV- і PCV2-негативними. Свиней зважували й довільно розділяли на групи 1, 2 і 3, у кожну з яких входило 22, 14 і 14 свиней відповідно. Потім кожну групу свиней тримали окремо у різних приміщеннях.

1.4 Вакцинація й контрольне зараження вірусом

У день 0 22 свині у групі 1 (V/C) вакцинували внутрішньом'язово однією дозою вакцини Ingelvac® PRRS MLV в об'ємі 2 мл. 14 свиням у групі 2 (не-V/C) ін'єкували по 2 мл ЗФР у день 0. Контрольне зараження свиней з групи 1 і групи 2, що здійснювали у день 28, проводили шляхом внутрішньоносового введення 3 мл розведеного штаму PRRSV JX143. Свиней у групі 3 (не-V/не-C) не вакцинували й не піддавали контрольному зараженню, вони являли собою суворий негативний контроль, їм ін'єкували по 3 мл середовища DMEM у день 28. По дві свині з кожної групи піддавали аутопсії у день 14 і 42 відповідно для проведення обстеження. Інших свиней піддавали аутопсії у день 49.

1.5 Ректальна температура

Ректальну температуру визначали в один й той же час щодня у період від дня 0 до дня 49 (21 день після контрольного зараження).

1.6 Серологічне обстеження

Зразки сироватки всіх свиней одержували у дні 0, 7, 14, 21, 28, 32, 42 і 49 і аналізували відносно антитіла до PRRSV за допомогою набору IDEXX PRRSV ELISA.

1.7. Клінічне обстеження

У період від дня 0 і по день 49 здійснювали щоденний моніторинг свиней і оцінювали у балах серйозність змін поведінки (зовнішніх реакцій) і клінічні респіраторні показники, включаючи подих і кашель. Бальна система оцінки клінічних симптомів представлена у таблиці 2.

Таблиця 2

Бальна система клінічних симптомів

Серйозність клінічних симптомів	Бальна оцінка		
	Подих*	Поводження (зовнішні реакції)*	Кашель*
Норма	1	1	1
Слабкий	2	2	2
Серйозний	3	3	3
Смерть	4	4	4

*Подих: Бал 2 (слабкий) відповідає поверхневому подиху, виділенням із носа, абдомінальному "важкому (гучному)" подиху при стимуляції. Бал 3 (серйозний) відповідає швидкому й поверхневому подиху, виділенням із носа, подиху відкритим ротом, абдомінальному "важкому (гучному)" подиху.

*Поводження: 1. На шкірі ротової порожнини, носа, вух і внутрішньої частини ніг з'являються червоність, гіперемія, червоні точки, папули 2. Депресія, грубий волосяний покрив. 3. Анорексія 4. Кульгавість, тремор, конвульсії 5. Виснаження. Бал 2 відповідає наявності одного або двох з описаних вище симптомів. Бал 3 відповідає наявності трьох або більшої кількості з описаних вище симптомів.

*Кашель: Бал 2 відповідає непродуктивному кашлю. Бал 3 відповідає продуктивному кашлю.

1.8 Оцінка продуктивності

Масу всіх свиней оцінювали у день 0 (перед вакцинацією), день 28 (перед контрольним зараженням), день 49 (через 21 день після контрольного зараження).

1.9 Ефективність Ingelvac® PRRS MLV оцінювали, визначаючи клінічні симптоми, бал ураження легенів і ректальну температуру після контрольного зараження вакцинованих свиней у порівнянні з контрольною групою, що піддавали контрольному зараженню, і групою, що представляє собою негативний контроль. Свиней розглядали як таких, що мають ознаки клінічного ураження PRRS у тих випадках, коли: 1) висока ректальна температура (41 °C)

зберігалася протягом більше 3 днів, 2) виявлена депресія, анорексія, кон'юнктивіт, кашель, респіраторне захворювання, і 3) виявлена пневмонія.

1.10 Ураження легені

Аутопсію здійснювали у день 49 (через 21 день після контрольного зараження PRRSV). У легені кожної свині оцінювали методом наосліп відсоток площі (від 0 до 100 %), ураженої сильними видимими ознаками пневмонії (набряк, гіперемія, крововилив, м'ясиста і тверда фіброзна структура).

1.11 Виявлення й кількісна оцінка РНК PRRSV

Одержували зразки сироватки у свиней групи 1 (V/C) у дні 0, 7, 14, 21, 28, 32, 35, 42 і у свиней групи 2 (не-V/C) у дні 28, 32, 35 і 42. Екстракцію РНК з індивідуальних зразків сироватки об'ємом 140 мкл здійснювали за допомогою міні-набору для вірусної РНК QIAamp (фірма QIAGEN). Потім здійснювали ЗТ-ПЛР за допомогою комбінації праймерів-зондів (фірма Invitrogen) (таблиця 1), специфічних для консервативної області РНК PRRSV (Genbank).

Для кожної ВД-реакції використовували 12,5 мкл РНК-матриці, 4 мкл дНТФ, 2 мкл 10×буфера, 0,5 мкл праймера Qst і 1 мкл зворотної транскриптази Quant. Суміш інкубували при 37 °С у водяній лазні протягом 1 год. і зберігали при -20 °С. Потім здійснювали ПЛР, використовуючи 1 мкл суміші для ВД-реакції, по 1 мкл праймерів SF14413 і SR1549, 2 мкл 10×буфера, 2 мкл дНТФ, 5 од. rTaq-полімерази й воду до доведення загального об'єму до 20 мкл. У реакційному планшеті проводили послідовну реакцію з використанням ідентифікуючої системи у специфічних умовах (94 °С протягом 5 хв; потім 40 циклів при 94 °С протягом 30 с, 65 °С протягом 30 с, 72 °С протягом 75 с, 40 циклів; і нарешті при 72 °С протягом 10 хв). Ампліфікований ПЛР-фрагмент розділяли на агарозному гелі, і виявлення проводили в ультрафіолетовому світлі.

1.12 Імуногістохімічний аналіз для виявлення антигену PRRSV

Імуногістохімічний аналіз із метою виявлення специфічного для PRRSV антигену здійснювали на фіксованих у формаліні й залитих у парафін зрізах тканини легені, які готували у період часу до 48 год. після здійснення аутопсії з використанням моноклонального антитіла до N-білка PRRSV (SR30 або SDOW17) і вторинного кон'югованого антитіла.

2. Результати

2.1. Зміна ректальної температури після контрольного зараження

Після інокуляції високовірулентним штамом PRRSV JX143 ректальна температура у свиней як у вакцинованій, так і у невакцинованій групі швидко підвищувалася. Найбільше висока температура становила 41 °С і у 75 % свиней виявлена лихоманка відразу ж після інокуляції застосовуванням для контрольного зараження вірусом. У вакцинованих тварин ректальна температура знижувалася до рівнів, що мали місце до контрольного зараження, через 10 днів, у той час як для групи не-V/C був характерний більше тривалий період лихоманки, і підвищена ректальна температура зберігалася протягом істотно більше тривалого періоду (фіг. 2).

2.2. Серологічна реакція.

Середнє значення величини S/P у групі, визначене за даними ELISA, застосовували як міру серологічної реакції відповідної групи на PRRSV (фіг. 3). Застосовувані як негативний контроль свині залишалися негативними відносно антитіл до PRRSV протягом дослідження. У V/C-групі антитіло вперше виявлене через 10-14 днів після вакцинації й співвідношення S/P становило $\geq 0,4$ через 14 днів після інокуляції (p.i.), при цьому у V/C-групі 8 з 20 свиней виявилися позитивними, а через 21 день p.i., 13 з 20 свиней виявилися позитивними. Найбільше високе значення співвідношення S/P у V/C-групі виявлено після контрольного зараження й зберігалася на високому рівні до кінця досліду (ELISA, $S/P \approx 2$). У свиней у не-V/C-групі видозміна серологічної специфічності після контрольного зараження відбувалася швидко; через 7 днів після p.i. 9 з 12 свиней виявилися позитивними, при цьому співвідношення S/P становило $\geq 0,4$.

2.3. Клінічні симптоми

Оцінювали у балах респіраторне захворювання для V/C-групи й не-V/C-групи (фіг. 4). Після контрольного зараження 5 з 20 свиней у V/C-групі мали клінічні симптоми респіраторного захворювання й кашель, а у 2 свиней виявлений абдомінальний "важкий (гучний)" подих. Вісім з 12 свиней у не-V/C-групі загинули до 21 дня p.i., а свині, що залишилися, у не-V/C-групі мали симптоми серйозного респіраторного захворювання й кашель з абдомінальним "важким (гучним)" подихом. У свиней у не-V/C-групі бал, що перевищує 6, виявлений протягом 10 днів і найвищий бал досягав 7. Свині у V/C-групі не мали виражених клінічних симптомів і найбільше високий бал, що характеризує захворювання, досягав 4-5 протягом 7 послідовних днів. У застосовуваних як суворо негативний контроль свиней не-V/не-C-групи не було виявлено клінічних симптомів і середній бал для них становив 3 (норма).

2.4. Середній добовий приріст маси до й після контрольного зараження

Дані про середній добовий приріст маси (ADG) узагальнені на фіг. 5. З дня 0 по день 28 не виявлено істотного розходження у величині ADG між вакцинованими свинями ($0,3301 \pm 0,0414$ кг) і невакцинованими свинями ($0,3008 \pm 0,0653$ кг). З дня 28 (перед днем контрольного зараження) до дня 49 величина ADG для вакцинованих свиней була аналогічна величині для контрольних свиней з не-V/не-C-групи ($0,3373 \pm 0,0800$ кг проти $0,3484 \pm 0,0890$ кг), у той час як у свиней з не-V/C-групи була виявлена істотно більша низька величина ADG ($0,0392 \pm 0,2398$ кг).

2.5. Ефективність вакцинації

Після контрольного зараження у вакцинованих MLV свиней виявлені клінічні симптоми відразу після контрольного зараження, при цьому середній клінічний бал становив 5, і більше ніж у 3 свиней виявлена висока ректальна температура (41°C) і ушкодження у легенях. Відповідно до критеріїв, викладених у розділі "Методи", 25 % (5/20) вакцинованих MLV свиней мали PRRS, а 75 % (15/20) свиней виявилися захищеними від хвороби. На противагу цьому всі невакциновані свині мали PRRS після контрольного зараження й 8 свиней загинули до здійснення аутопсії.

Таблиця 3

Ефективність MLV-вакцинації

Група				
	Піддані контрольному зараженню свині	Загиблі свині	Хворі свині	Результат контрольного зараження
MLV-V	20	0	5 (25 %)	Вживаність 100 %
Невакциновані/ піддані контрольному зараженню	12	8	12 (100 %)	Вживаність 33 %

2.6 Макроскопічні ушкодження

При аутопсії чотирьох свиней, що вижили, з не-V/C-групи виявлені макроскопічні ушкодження, такі як недостатність/колапс легенів, рудувато-коричнева плямистість, гіперемія, збільшення лімфатичних залоз у паховій області, у щелепній області, набряк і гіперемія брижі й у деяких випадках некроз печінки. Деякі свині у V/C-групі мали подібні, але менше серйозні ушкодження. У контрольній не-V/не-C групі у свиней не виявлені макроскопічні ушкодження.

2.7 Ступінь макроскопічних ушкоджень легенів

Ступінь ушкодження легенів у вакцинованих MLV свиней була істотно меншою, ніж у свиней з не-V/C-групи, це дозволяє припустити, що MLV забезпечує надійний захист при інокуляції високопатогенним штамом PRRSV (таблиця 4, в якій ступінь макроскопічних ушкоджень легенів оцінювали у відсотках від 0 до 100 %).

Таблиця 4

Порівняння серйозності макроскопічних ушкоджень легенів у свиней з різних груп

День після вакцинації	Група		
	MLV-V/C	не-V/C	не-V/не-C
14	$0,500 \pm 2,00$	$0,30 \pm 2,30$	
42	$28,58 \pm 16,15$	$75,25 \pm 7,27$	$0,25 \pm 1,00$
49	$19,12 \pm 8,37$	$69,6 \pm 12,97$	$0,30 \pm 0,50$

2.8 Визначення віремії

Дані про відсоток позитивної у відношенні PRRSV сироватки, отримані за допомогою ЗТ-ПЛР, узагальнені на фіг. 6. Віремія виявлена у 60 % вакцинованих MLV свиней через 7 днів після вакцинації, вона знижувалася до 20 % перед контролним зараженням. Після контрольного зараження у 70 % вакцинованих свиней виявлена віремія, що знижувалася до 60 % до дня 7 р.і., і у 20 % свиней виявлена віремія до дня 21 р.і. На відміну від цього віремія виявлена у 100 % свиней з не-V/C-групи після контрольного зараження, віремія зберігалася на високому рівні після контрольного зараження, і у 70 % свиней з не-V/C-групи віремія виявлена через 21 день після контрольного зараження.

2.9 Виявлення антигену за допомогою імуногістохімічного аналізу

Під мікроскопом оцінювали мікроскопічні ушкодження легенів. Інфіковані PRRSV клітини

виявлені у всіх підданих контрольному зараженню свиней. У свиней з MLV-V/C-групи виявлена менша кількість інфікованих PRRSV клітин. Загальну кількість клітин і кількість інфікованих PRRSV клітин визначали у різних областях. Рівень інфікованих клітин істотно різнився між групами: $23,34 \pm 4,691$ у свиней з не-V/C-групи, $9,36 \pm 8,069$ у свиней з V/C-групи й $0,24 \pm 0,114$ у свиней з не-V/не-C-групи (таблиця 5).

Таблиця 5

Кількість інфікованих PRRSV клітин за даними імуногістохімічного аналізу залитих у парафін блоків легень свиней

Рівень інфікованих PRRSV клітин	Групи		
	MLV-V	не-V/контрольне зараження	не-V/не-C
%	$9,36 \pm 8,069$	$23,34 \pm 4,691$	$0,24 \pm 0,114$

Послідовності:

SEQ ID NO: 1 (Послідовність JX143, GenBank EU708726)

```

1 atgacgtata ggtgttggt ctatgccacg gcatttgat tgtcaggagc tgtgaccatt
61 ggcacagccc aaaacttgct gcacgggaac accctcctgt gacagccctc ttcaggggga
121 tttaggggtct gtccttaaca ccttgcttcc ggagttgcaac tgttttacgg tctctccacc
181 cctttaacca tgtctgggat acttgatcgg tgcacgtgta cccccaatgc taggggtgtt
241 gtggcggagg gccaggtcta ctgcacacga tgtctcagtg cacggtctct ccttcctctg
301 aatctccaag ttcctgagct tgggggtgctg ggtctatttt ataggcccgga agagccactc
361 cgggtggacgt tgccacgtgc attccccact gtcgagtgtc ccccgccggg ggcctgttgg
421 ctttctcgga tttttccgat tgcacgaatg actagtggaa acctgaactt tcaacaaaga
481 atggtgcggg tcgacagtga aatctacaga cccggccaac tcaccctac agttctaaag
541 actctacaag tttatgaacg ggggtgtgcg tggtagccca ttgtcggggc cgtccctggg
601 gtgggcgttt acgccaactc cctgcatgtg agtgacaaac ctttccggg agcaactcat
661 gtgttaacca acttgccgct cccgcagagg cccaaacctg aggacttttg cctttttgag
721 tgtgctatgg ctgacgtcta tgacattggt cgtggcgtg tcatgtatgt ggcggaggga
781 aaggtctctt gggccctcgt tgggtgggat gaagtgaat ttgaacctgt tcccaaggag
841 ttgaagtggg ttgcgaaccg actccacacc tccttccgcg cccatcacgt agtgacatg
901 tccgagttaa cttcatgac ccctgggagt ggtgtctcca tgcgggttga gtaccaatac
961 ggctgcctcc ctgctgacac tgtccctgaa ggaaactgct ggtggcgctt gtttgaactc
1021 ctcccaccgg aagttcagta caaagaaatt cgccatgcta accaatttgg ctatcaaacc
1081 aagcatggtg tccctggcaa gtacctacag cggaggctgc aagttaatgg tcttcgggca
1141 gtgaccgaca cacatggacc tatcgtcata cagtacttct ctgttaagga gagttggatc
1201 cgccacctga agttgggtga agaaccacgc ctcccgggtt ttgaggatct cctcagaatc
1261 aggggttgagc ccaatacgtc accactggct agaaaggatg agaagatttt ccggtttggc
1321 agtcataagt ggtacgggtc cggaaagaga gcaaggaaaa cacgctctgg tgcgactact
1381 atggtcgctc atcacgcttc gtccgctcat gaaacccggc aggccacgaa gcacgagggg
1441 gccggcgcta acaaggccga gcatctcaag cgctactctc cgctgcccga agggaaactgt
1501 ggttgcaact gcatttccgc catcgccaac cggatggtga attccaact tgagaccacc
1561 cttcctgaaa gggtaaggcc ttcagatgac tggggccactg acgaggatct tgtgaacacc
1621 atccaaatcc tcaggtctcc tgcggccttg gacaggaacg gcgcttgcgg tagcgccaag
1681 tacgtgctta aactggaggg tgagcattgg actgtctctg tgatccctgg gatgtccctt
1741 actttgctcc ccttgaatg tgttcagggt tgttgtgagc ataaggcgcg tcttgtttcc
1801 ccggatgcgg tcgaaatttc cggatttgat cctgcctgcc ttgaccgact ggctaaggta
1861 atgcacttgc ctacagtag catcccagcc gctctggcgg aattgtccga cgaactcaac
1921 cgtccgggtt ccccgccgcg tactacgtgg actgtttcgc aattctatgc tcgtcataga
1981 ggaggagatc atcatgacca ggtgtgctta gggaaaatca tcagcctttg tcaagtattt
2041 gaggattgct gctgccatca gaataaaacc aaccgggcta ctccggaaga ggtcgcggca
2101 aagattgac agtacctcgg tggcgcaaca agtcttgagg aatgcttggc caaacttgag
2161 agagtttccc cgccgagcgc tgcggacacc tcctttgatt ggaatgttgt gcttcctggg
2221 gttgaggcgg cgaatcagac aaccgaacaa cctcacgtca actcatgctg caccctggtc
2281 cctcccgtga ctcaagagcc ttggggcaag gactcggtec ctctgaccgc cttctcactg
2341 tccaattgct attaccctgc acaaggtagc gaggttcac accgtgagag gttaaattcc
2401 gtactctcta agttggaaga ggttgtctg gaagaatatg ggctcatgtc cactggactt
2461 gggccgcgac ccgtgctgcc gagcgggctc gacgagctta aagaccagat ggaggaggat
2521 ctgctaaaaac tagccaacac ccaggcgact tcagaaatga tggcctgggc agctgagcag

```


2581 gtcgatttaa aagcttgggt caaaagctac ccgcggtgga cacctccacc ccctccacca
 2641 agagttcaac ctgcagaaac aaagtctgtc aaaagcttgc cagaggacaa gcctgtccct
 2701 gctccgcgca ggaaggtcag atccgattgc ggacgcccgg ttttgatggg cgacaatgtc
 2761 cctaaccggt cggaagaaac tgtcgggtgt cccctcaatt ttccgacacc atccgagccg
 2821 atgacaccta tgagtgcgc cgtactgtgt ccgcggtcgc gacgtgtccc caagctgatg
 2881 acacctttga gtgggtcggc accagttcct gcaccgcgta gaactgtgac aacaacgctg
 2941 acgacaccag atgagcctct ggatttgtct gcgtcctcac agacggaata tgaggctttc
 3001 cccctagcac cgtgcagaaa catgggcata ctggaggcgg gggggcaaga agctgaggaa
 3061 gtctcgagt aaatctcgga tatactaaat gacaccaacc ctgcacctgt gtcacaaagc
 3121 agtccctgt caagtgttaa gatcacacgc ccaaaatact cagctcaagc catcatcgac
 3181 tctggcgggc ttgacgtgg gcactctcaa aaggaaaaag aagcatgcct cagcatcatg
 3241 cgtgaggctt gtgatgcgtc caagcttagt gatcctgcta cgcaggagtg gctctctcgc
 3301 atgtgggata gggttgacat gctgacttgg cgcaacacgt ctgcttacca ggcgtttcgc
 3361 atcttaaatg gcaggtttga gtttctccca aagatgattc tcgagacacc gccgccccac
 3421 ccgtgcgggt ttgtgatgtt acctcacacg cctgcacctt ccgtgagtgc agagagtgat
 3481 ctacacattg gttcagtggc caccgaggat gttccacgca tcctcgggaa aataggagac
 3541 actgacgagc tgcttgaccg gggtcctcgt gcacctcca agggagaacc ggtctgtgac
 3601 caacctgcca aagatccccc gatgtcgcgg cgggagtctg acgagagcat aatagctccg
 3661 cccgcagata cagggtggtg cggctcattc actgatttgc cgtcttcaga tgggtgggat
 3721 gtggacgggg gggggccgtt aagaacggtg aaaaacaaa caggaaaggct cttagaccaa
 3781 ctgagctgcc aggtttttag cctcgtttcc catctcccta tttctctctc acacctcttc
 3841 aaatctgaca gtggttattc tccgggtgat tggggttttg cagcttttac tctattttgc
 3901 ctctttctat gttacagtta cccattcttc ggttttgctc cctcttggg tgtattttct
 3961 gggctctctc ggcgtgtcgc aatgggggtt ttggtgctg ggttgcttt tgcgttggtg
 4021 ctgttcaagc ctgtgtccga ccagtcggc actgcttgtg agtttgactc gccagagtgt
 4081 aggaacgtcc ttcattcttt tgagcttctc aaacctggg acctgttcc cagccttggt
 4141 gtgggccccg tcggtctcgg ccttgccatt cttggcagg tattggcgcg ggcacgctac
 4201 atctggcact ttttgcctag gcttgccatt gttgcagact gtatcttggc tggagcttat
 4261 gtgctttctc aaggtagggt taaaaagtgc tggggatctt gtgtaagaac tgctccta
 4321 gagatcgct tcaacgtgtt cccttttaca cgtgcgacca ggtcgtcact catcgacctg
 4381 tgcgacgct tttgcgcacc aaaaggcatg gacccattt ttctcgcacc tgggtggcgt
 4441 ggggtgctga cgggcccggg tcccattgag caaccttctg aaaaacccat cgcgttcgcc
 4501 cagctggatg agaagaggat tacggctaga actgtgtctg ctacgcctta tgatcccaac
 4561 caggccgtaa agtgcttgcg ggtattacag gcgggtgggg cgatggtggc cgaggcagtc
 4621 ccaaaagtgg tcaaagtctc cgctattcca ttccgagctc ctttctttcc cgctggagtg
 4681 aaagttagtc ctgagtgtag aatcgtggtt gatcccgata cttttactac agccctccgg
 4741 tctggctatt ccaccgcgaa cctcgtcctt ggtacggggg actttgcccc gctgaatgga
 4801 ctaaagatca ggcaaatct caagccttca gggggaggcc cacacctcat tgcgtccttg
 4861 catgttgctt gctcgatggc gttacacatg cttgctgtgt tttatgtaac tgcagtgggg
 4921 tctgcgggta ccggtaccaa cgatccgtgg tgcactaacc cgtttgccgt ccctggctac
 4981 ggacctggct ctctttgcac gtctagattg tgcactctcc aacacggcct caccttgccc
 5041 ttgacagcac ttgtggcggg attcggcctt caagagattg ccttggtcgt tttgattttt
 5101 gtctccatcg gaggcattgc tcataggttg agttgtaagg ctgacatgtt gtgcacttta
 5161 ctgcgaatcg ctagtattgt ttgggtacct cttacctggt tgccttgggt gtttccttgt
 5221 tggttgcgct gtttctcttt gcacccctc accatcctat ggttggtgtt tttcttgatt
 5281 tctgtaaata taccctcagg agtcttgccc gtggtgttgt tgatttctct ctggctttta

5341 ggtcgttata ctaacgttgc tggctctgtc actccctatg acattcatca ttacaccagt
 5401 ggcccccgcg gtgttgccgc cttggctacc gcaccagatg ggacctactt ggccgctgtc
 5461 cgccgcgctg cgctgactgg tcgtacctatg ctgttcaccc cgtctcagct cgggtccctc
 5521 cttgagggcg ctttcagaac tcaaaagccc tcaactgaaca ccgtcaatgt ggtcgggtcc
 5581 tccatgggct ctggcggagt gttcactatt gacgggaaaa tcaagtgcgt gactgcgcga
 5641 catgtcctta cgggtaactc agctagggtt tccggggctg gcttcaatca aatgcttgac
 5701 tttgatgtaa aaggggactt cgccatagct gattgcccga attggcaagg ggttgctccc
 5761 aagggccagt tctgcgagga tgggtggact ggtcgcgcct attggtgac atcctctggc
 5821 gttgaaccgc gtgttattgg gaatgggttc gccttctgct tcaccgcgtg tggcgattct
 5881 ggatccccag tgattaccga agccggtgag cttgtcggcg ttcacacagg atcaaacaaa
 5941 caaggaggag gcattgtcac gcgccctca ggccagtttt gtaatgtgaa gcccatcaag
 6001 ctgagcgagt tgagtgaatt cttcgtgga cctaaggctc cgctcgggtg tgtgaaaatt
 6061 ggcagtcaca taattaaaga cacatgcgag gtgccttcag atctttgtgc cctgcttgtc
 6121 gccaaacccc aactggaagg aggcctttcc acagttcaac ttctgtgtgt gtttttctc
 6181 ctgtggagaa tgatggggca tgcctggacg cccttggttg ctgtggggtt ttcatcctg
 6241 aatgagattc tcccagctgt cctggtcgag agtggtttct cctttgggat gtttggtcta
 6301 tcttggtcca caccatggtc tgcgcaagtc ctgatgatca ggctctgac agcagccctt
 6361 aacagaaaca gatgtctctt tgggttttac agccttggtg cagtaaccag ttttgcgca
 6421 gatcttgccg taactcaagg gcacccgta caggtggtaa tgaacttaag cacctatgcc
 6481 ttctgcccc ggatgatggt tgtgacctcg ccagtcacga tgatcgcgtg tgggtgtgtg
 6541 cactccttg ccataathtt gtacttgttt aagtaccgct gccttcaaa tgccttgtt
 6601 ggcgatgggg tgttctcttc ggctttcttc ttgcgatact ttgccgaggg aaagttaggg
 6661 gaaggggtgt cgcaatcctg cgggatgagt catgagtcgc tgactggtgc cctcgccatg
 6721 agactcactg acgaggactt ggatttctct acgaaatgga ctgattttaa gtgctttgtt
 6781 tctgcgtcca acatgaggaa tgcagcgggc caatttatcg aggtgctta tgcaaaagca
 6841 ctaagaattg aacttgctca gttggtacag gttgataagg tccgaggtag catggccaaa
 6901 ctcgaggctt ttgccgatac cgtggcaccg caactctcgc ccggtgacat tgttgttgc
 6961 cttggccaca cgctgtttgg cagcatcttc gacctaaagg ttggtagcac caagcactt
 7021 ctccaagcca ttgagactag agtccttgcc ggttccaaaa tgactgtggc gcgtgtcgtt
 7081 gacccaaccc ccgcaccccg acccgtaact gtgccatcc ctctccacc gaaagtctg
 7141 gagaacggtc ccaatgcctg gggggatgag gaccgtttga acaagaagaa gaggcgcagg
 7201 atggaagccg tcggcathtt tgtcatggac gggaagaagt accagaaatt ttgggacaag
 7261 aattccgggt atgtgtttta tgaggaggtc catattagca cagacgagtg ggagtgcctt
 7321 agaactggcg accctgtcga ctttgatcct gagacaggga ttcaagtgtg gcatacacc
 7381 attgaagaca aggtttacaa tgtcttcacc tccccatctg gtaggagatt cttggtcccc
 7441 gccaaacccc agaatagaag agtcagtggt gaagccgcca agctttccgt ggagcaagcc
 7501 cttggcatga tgaacgtcga cggcgaactg actgccaaag aactggagaa actgaaaaga
 7561 ataattgaca aactccaggg cctgactaag gagcagtgtt taaactgcta gccgccagcg
 7621 gcttgacccg ctgtggctcg ggcggttag ttgttactga gacagcggtg aaaatagtca
 7681 aatttcacaa ccggaccttc accctaggac ctgtgaactt aaaagtggcc agtgagggtg
 7741 agctaaaaga cgcggttgag cacaaccaac atccggttgc cagaccggtt gatggtggtg
 7801 ttgtgctcct gcgctctgca gttccttcgc ttatagatgt cttgatctcc ggcgctgatg
 7861 catctcctaa gttactcgcc cgccacgggc cgggaaacac tgggattgat ggcacgcttt
 7921 gggattttga ggccgaggtc actaaagagg aagttgcact cagtgcgcaa ataatacagg
 7981 cttgtgatat taggcgcgcc gacgcgcctg aaattggtct cccttataag ttgtaccctg
 8041 ttaggggcaa ccctgagcgg gtaaaaggag ttttacagaa tacaagggtt ggagacatac

8101 cttacaaaac cccagtgac actggaagcc cgggtgcacgc ggctgcctgc ctcacgccta
 8161 atgctactcc ggtgactgat gggcgctccg tcttggtac aacctgccc tctggctttg
 8221 agttgtatgt gccgaccatt ccagcgtccg tccttgatta tcttgattct aggcctgact
 8281 gccctaaaac gttaacagag cacggttggt aggatgctgc attaagagac ctctccaagt
 8341 atgtattgtc cacccaaggc tttgttttgc ctggagtctc tcgcctcgtg cggaagtacc
 8401 tgttcgcca cgtgggtaag tgcccgcgcg ttcacgcggc ttcacttac cctgctaaga
 8461 attctatggc tggaataaat gggaacaggt ttccaacca ggacattcag agcgtccctg
 8521 aaatcgacgt tctgtgcgca caggctgtgc gagaaaactg gcaaactgtt accccttgta
 8581 cccctcaagaa acagtactgt gggaagaaga agactaggac aatacttggc accaataact
 8641 tcattgcgtt ggcccatcgg gcagcgttga gtggtgttac ccagggcttc atgaaaaaag
 8701 cgttcaactc gcccatcgcc ctccggaaaa acaaatttaa ggagctacaa gccccggtcc
 8761 taggcaggtg ccttgaagct gatcttgcgt cctgcgatcg atccacacct gcaattgtcc
 8821 gctggtttgc cgccaatctt ctttatgaac tcgcctgtgc tgaggagcat ctaccgtcgt
 8881 acgtgctgaa ctgctgcac gacttactgg tcacgcagtc cggcgcggtg actaagaagg
 8941 gtggcctgtc gtctgcgcac ccgattacct ctgtgtcaaa caccatttac agcttagtga
 9001 tatatgcaca gcacatgggt ctcagttact tcaaaagtgg tcacctcat ggccttctgt
 9061 ttctgcaaga ccagctaaa gttgaggaca tgcctcaagg tcaacctcgt atcgtctatt
 9121 cggacgacct tgtgctgtat gccgagctcc cctccatgcc aaactaccac tgggtgggtg
 9181 aacatctgaa tcttatgctg ggtttccaga cggaccctaa gaagacaacc atcacagact
 9241 caccatcatt cctaggttgc aggataataa atggcgccca gctagtcctt aaccgtgaca
 9301 ggatcctcgc ggccctcgcc taccacatga aggcaagtaa tgtttctgaa tactacgcct
 9361 cggcggtgct aatactcatg gacagctgtg cttgtttaga gtatgatcct gaatggttg
 9421 aagagctcgt ggttgggatg gcgcagtcgc ccgcgaagga cggctacagc ttctcggcc
 9481 caccgttctt cttgtccatg tgggaaaaac tcaggctcaa tcatgagggg aagaagtcca
 9541 gaatgtgcgg gtactgcggg gccccggctc cgtacgccac tgcctgtggt ctcatgtct
 9601 gtgtttacca caccacttc caccagcatt gtcctgttat aatctggtgt ggcaccccg
 9661 cgggttctg tcttctgtgt gagtgcgaac cccccctag aaaaggcaca agccctctag
 9721 atgaggtgtt agaacaagtt ccgtacaagc ctcccgccac tgtgatcatg catgtggagc
 9781 agggctctac cctcttgac ccaggtagat accagactcg ccgcggatta gtctccgtta
 9841 ggcgtggcat taggggaaat gaagtgcacc taccagacgg tgattacgct agcacgcct
 9901 tgctccctac ttgtaagag atcaacatgg tcgctgtcgc ctctaactg ttgcgcagca
 9961 ggtttatcat cggccaccac ggtgctggga aaacacactg gcttcttcaa caagtccagg
 10021 atggtgatgt catttacacg ccaactcacc agaccatgct cgacatgatt agggctttgg
 10081 ggacgtgccg gttcaacgtt ccagcaggtc caacgctgca attccctgcc cctcccgtta
 10141 ccggcccatg gtttcgcac ttggccggcg gttggtgtcc tggcaagaac tcttctctgg
 10201 atgaagcgcc gtattgcaat caccctgatg tcttgaggct tctcagtaa acaactctca
 10261 cttgcctagg agacttcaaa caactccacc ctgtgggttt tgactcccat tgctatgtat
 10321 ttgacatcat gcctcagacc caattaaaga ccactcggag gttcgggcag aatatctgtg
 10381 atgccattca accagattac agggacaaac ttatgtccat ggtcaacacg acccgtgtga
 10441 cctacgtgga aaaacctgct aggtatggc aagtcctcac cccctaccac agggaccgag
 10501 aggcggcgcc cattactatc gactccagtc aaggcgccac atttgatgtg gttacactgc
 10561 atttgccac taaagattca ctcaacagc aaagagctct tgttgctatc accagggcaa
 10621 gacatgctat cttcgtgtat gaccacaca ggcaattgca gagcatgtt gatcttccc
 10681 cgaaaggcac acccgtaac ctgcagtc accgtgacga acagctgac gtattagaca
 10741 gaaacaacag agaaatcacg gttgctcagg ctctaggcaa tggagataaa ttcagggcc
 10801 cagataagcg cgtttagat tctctccgc ctatttgcgc agacctggaa ggtcagact

10861 ccccgctccc caaggtcgcg cataacttgg gattctatct ctcacctgat ttgactcagt
 10921 ttgctaaact cccggcagaa cttgcgcccc actggcccgt ggtgacaacc cagaacaatg
 10981 aaaggtggcc agatcggtg gtagccagcc ttcgccctat ccataaatat agccgcgcgt
 11041 gcattggtgc cggctatatg gtgggcccct cgggtttttt aggcacccct ggggttgtgt
 11101 catactatct cacaaaaatt gttagaggcg aggctcaagt gcttcgggag acagtcttca
 11161 gcaccggccg aattgaggta gattgtcgag agtatcttga tgatcgggag cgagaagttg
 11221 ctgagtcctc cccacatgcc ttcacggcg atgtcaaagg taccaccgtt gggggatgtc
 11281 atcacgttac ctccaaatac cttccgcgct tccttcccaa ggaatcagtt gcggtggtcg
 11341 ggggtttcgag ccccgggaaa gccgcgaaag cagtttgac attgacggat gtgtacctcc
 11401 cagacctga agcgtacct caccagaga ccagtcag gtgctggaaa gtgatgttg
 11461 actttaagga ggttcgactg atggtatgga aagacaagac ggcctatttt caacttgaag
 11521 gccgccattt tacttggtat caacttgcaa gctacgcctc atacatccga gttcctgtta
 11581 attctactgt gtacttggac ccctgcatgg gccctgctct ttgcaacaga agggttgtcg
 11641 ggtccaccca ttggggagct gacctcgag tccccctta tgattacggt gccaaaaatta
 11701 ttctgtctag tgcataccat ggtgaaatgc ctccaggtta caaaattctg gcgtgcgcgg
 11761 agttctcgct tgatgacca gtaaggtaca aacacacctg gggatttgaa tcggatacag
 11821 cgtatctgta cgagtttact ggaatggtg aggactggga ggattacaat gatgctgttc
 11881 gggcgcgcca gaaagggaaa atttataaag ctaatgccac cagcatgagg ttctattttc
 11941 ccccgggccc tgcattgaa ccaactttag gcctgaattg aaatgaaatg gggctctatgc
 12001 aaagcctctt tgacaaaatt ggccaacttt ttgtggatgc ttccacgaa ttctgtgtgt
 12061 ccattgttga tatcatcata tttttggcca tttgttttg cttcacaaac gccggttggc
 12121 tgggtgtctt atgcatcaga ctggtttgct ccgcggtact ccgtgcgcgc tctaccgttc
 12181 accctgagca attacagaag atcttatgag gcctttcttt ctcatgttca ggtggacatt
 12241 cccacctggg gcgtcaaaca ccctttgggg gtgctttggc accataaggt gtcaaccctg
 12301 attgatgaaa tgggtgctcg tcgaatgtac cgcacatgag aaaaagcagg gcaggctgcc
 12361 tggaaacagg tggtagcgca ggctacattg tctcgatta gtggtttgga tgtggtggct
 12421 cactttcaac atcttgccgc tattgaagcc gagacttgta aatatttggc ctcccgcta
 12481 cccatgctgc acaacctgcg cttgacaggg tcaaatgtaa ccatagtga taatagtact
 12541 ttggatcagg tgtttgcat tttcccaacc cctggttccc ggccaaagct tcatgatatt
 12601 cagcaatggc taatagctgt acattctctc atattttctt ccgttgacgc ttctgtact
 12661 cttttgttg tgctgtggtt gcgaattcca atgtacggt ctgttttttg ttccgctgg
 12721 tttagggcaa cttttctttt gaactcatgg tgaattacac ggtatgccc ctttgccaa
 12781 cccggcaggc agccgctgag atccttgaac ccggcaagtc tttttgtgc aggatagggc
 12841 atgaccgatg tagtgagaac gatcatgacg aactagggtt catggttccg cctggccttt
 12901 ccagcgaagg ccacttgacc agtgtttacg cctggttggc gttcctgtcc ttcagctaca
 12961 cggcccagtt ccatcccag atattttgga tagggaatgt gagtcaagtt tatgttgaca
 13021 tcaagcacca attcatctgc gctgttcacg acggggataa cgccaccttg cctcgccatg
 13081 acaatatctc agccgtattt cagacctact accaacacca ggtcgacggc ggcaattggt
 13141 ttcacctgga atggctgcgc ctttctttt cctcttggtt ggttttaaat gtttcgtggt
 13201 ttctcaggcg ttgcctgca aacctgttt cagttcgagt ctttcggaca tcaaaaccaa
 13261 caccaccgca gcatcagact tcgttgtcct ccaggacatc agctgcctta ggcattggcg
 13321 ctgctcctct ccgacgattc gcaaaaagtt tcagtgcgcg acggcgatag ggacgccgt
 13381 gtacatcacc atcactgcca atgtcacaga tgaaaattat ctacattctt ctgatctcct
 13441 catgctttct tcttgctttt tctatgcttc cgagatgagt gaaaagggat tcaaaagtgt
 13501 gtttggaat gtgtcaggca tcgtggctgt gtgcgtcaac tttaccagct acgtccaaca
 13561 cgteaaggag tttaaccaac gctccttagt ggtcgatcat gtgcgactgc ttcatattcat

13621 gacacctgag accatgaggt gggcaaccgt ttttagcctgt ctttttgcca tcctactggc
 13681 aatttgaatg ttttaagtatg ttggggaagt gcttgaccgc gtgctgttgc tcgcgattgc
 13741 tttttttgtg gtgtatcgtg ccgttctatc ttgctgtgct cgtcaacgcc agcaacaaca
 13801 acagctctca tattcagttg atttataact taacgctatg tgagctgaat ggcacagatt
 13861 ggctggcaca aaaatttgac tgggcagtg agacttttgt catcttcccc gtgttgactc
 13921 acattgtttc ctatggggca ctcaccacca gccatttctc tgacacagtt ggtctggcca
 13981 ctgtgtccac cgccggatat tatcacgggc ggtatgtctt gagtagcatt tacgcagtct
 14041 gtgctctggc tgcgctgatt tgctttgtca ttaggcttgc gaagaactgc atgtcctggc
 14101 gctactcttg taccagatat accaacttcc ttctggacac taagggcaga ctctatcgtt
 14161 ggcggtcgcc cgtcattgtg gagaagggg gtaaggttga ggtcgaagg cactgatcg
 14221 acctcaagag agttgtgctt gatggttccg cgcaacccc ttaaccaga gtttcagcgg
 14281 aacaatgggg tctctctag acgacttctg caatgatagc acagctccac agaagggtgt
 14341 tttggcgttt tcattacct acacgccagt gatgatatat gctctaaagg taagtgcgg
 14401 ccgactgcta gggcctctgc accttttgat ctttctgaat tgtgctttta ccttcgggta
 14461 catgacattc gtgcactttg agagcacaaa tagggtcgcg ctactatgg gagcagtagt
 14521 tgcacttctt tggggagtgt actcagccat agaaacctgg aaattcatca cctccagatg
 14581 ccgttttgtg ttgctaggcc gcaagtacat tctggccctt gccaccacg tcgaaagtgc
 14641 cgcggtcttt catecgattg cggaacatga taaccacgca tttgtcgtcc ggcgtcccgg
 14701 ctccactacg gtcaacggca cattggtgcc cggttgaaa agcctcgtgt tgggtggcag
 14761 aaaagctgtt aagcagggag tggtaacct tgttaatat gccaaataac aacggcaagc
 14821 agcaaaagaa aaagaagggg aatggccagc cagtcaatca gctgtgcaa atgctgggta
 14881 agatcatcgc ccaacaaaac cagtcagag gcaaggacc ggggaagaaa aataggaaga
 14941 aaaacccgga gaagcccat ttccctctag cgactgaaga tgacgtcagg catcacttta
 15001 cccctagtga gcggcaattg tgtctgtcgt cgatccagac tgccttcaat cagggcgctg
 15061 gaacttgtgc cctgtcagat tcagggagga taagttacac tgtggagttt agtttgccga
 15121 cgcaacatac tgtgcgtctg atccgcgcca cagcatcacc ctacagatga tgggtgggca
 15181 ttcttttgca cctcagtgtt agaattggga gaatgtgtg tgaatggcac tgattgacac
 15241 tgtgcctcta agtcacctat tcaattaggg cgaccgtgtg ggggtaagt ttaattggcg
 15301 agaaccatgc ggcgtaatt aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
 15361 aaaaaaaaaa aaa

SEQ ID NO: 2 (послідовність NSP2 VR2332, SwissProt, реєстраційний номер Q9WJB2)

1 GAGKRARKAR SCATATVAGR ALSVRETRQA KEHEVAGANK AEHLKHYSP AEGNCGWHCI
 61 SAIANRMVNS KFETTLPERV RPPDDWATDE DLVNAIQILR LPAALDRNGA CTS AKYVLKL
 121 EGEHWTVTVT PGMSPSLLPL ECVQGCCG HK GGLGSPDAVE VSGFDPACLD RLA EVMHLPS
 181 SAIPAALAEM SGDSRSASP VTTVWTVSQF FARHSGGNHP DQVRLGKIIS LCQVIEDCCC
 241 SQNKTNRVTP EEVAAKIDLY LRGATNLEEC LARLEKARPP RVIDTSFDWD VVLP GVEAAT
 301 QTIKLPQVNO CRALVPVVTQ KSLDNNSVPL TAFSLANYYY RAQGDEVRRH ERLTAVLSKL
 361 EKVVREEYGL MPTEPGPRPT LPRGLDELKD QMEEDLLKLA NAQTSDMMA WAVEQVDLKT
 421 WVKNYPRWTP PPPPKVQPR KTKPVKSLPE RKPVPAPRRK VGSDCGSPVS LGGDVPNSWE
 481 DLAVSSPFDL PTPPEPATPS SELVIVSSPQ CIFRPATPLS EPAPIPAPRG TVSRPVTPLS
 541 EPIPVAPARR KFQQVKRLSS AAAIPPYQDE PLDLSASSQT EYEASPPAPP QSGGVLGVEG
 601 HEAEETLSEI SDMSGNIKPA SVSSSSSLSS VRITRPKYSA QAIIDSGGPC SGHLQEVKET
 661 CLSVMREACD ATKLDDPATQ EWL SRMWD RV DMLTWRTSV YQAICTLDGR LKFLPKMILE
 721 TPPPYPCEFV MMPHTPAPSV GAESDLTIGS VATEDVPRIL EKIENVGEMA NQGPLAFSED

781 KPVDQVLND PRISRRPDE STSAPSAGTG GAGSFTDLPP SDGADADGGG PFRTVKRKA
 841 RLFDQLSRQV FDLVSHLPVF FSRLFYPGGG YSPGDWGFPA FTLLCLFLCY SYPAFGIAPL
 901 LGVFSGSSRR VRMGVFGCWL AFAVGLFKPV SDPVGAACEF DSPECRNILH SFELLKPWDP
 961 VRSLVVGVPV LGLAILGRLG GGARCIWHFL LRLGIVADCI LAGAYVLSQG RCKKCWGSCI
 1021 RTAPNEVAFN VFPFTRATRS SLIDLCDRFC APKGMDPIFL ATGWRGCGWAG RSPIEQPSEK
 1081 PIAFAQLDEK KITARTVVAQ PYDPNQAVKC LRVLSGGAM VAKAVPKVVK VSAVPPRAPF
 1141 FPTGVKVDPD CRVVDPDTF TAALRSGYST TNLVLGVGDF AQLNGLKIRQ ISKPSG

SEQ ID NO: 3 Послідовність BP35 PRRS VR2332 (GenBank, реєстраційний номер U87392)

1 atgttgagaga aatgcttgac cgcgggctgt tgcgcgcgat tgctttcttt gtggtgtatc
 61 gtgcccgttct gttttgctgt gctcgccaac gccagcaacg acagcagctc ccatctacag
 121 ctgatttaca acttgacgct atgtgagctg aatggcacag attggttagc taacaaat
 181 gattgggcag tggagagtgt tgatcatctt cccgttttga ctcacattgt ctctatggt
 241 gccctcacta ccagccattt ccttgacaca gtcgcttttag tcaatgtgtc taccgccggg
 301 tttgttcacg ggcggtatgt cctaagtagc atctacgcgg tctgtgccct ggctgcgttg
 361 acttgcttcg tcattaggtt tgcaagaat tgcattgctt gccgctacgc gtgtaccaga
 421 tataccaact ttcttctgga cactaagggc agactctatc gttggcggtc gcctgtcatc
 481 atagagaaaa ggggcaaatg tgaggtcgaa ggtcatctga tcgacctcaa aagagttgtg
 541 ctgtatggtt ccgtggcaac cctataacc agagtttcag cggaacaatg gggctgctct
 601 tag

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> Бьорінгер Інгельхайм Ветмедіка, Інк

<120> Вакцина проти високопатогенного репродуктивно-респіраторного синдрому свиней (HP PRRS)

<130> P10-0115/WO/1

<150> US 61/091614

<151> 2008-08-25

<160> 3

<170> PatentIn версія 3.3

<210> 1

<211> 15373

<212> ДНК

<213> Штам вірусу PRRS JX143

<400> 1

atgacgtata ggtgttggt ctatgccacg gcatttgtat tgtcaggagc tgtgaccatt	60
ggcacagccc aaaacttgct gcacgggaac accctcctgt gacagccctc ttcaggggga	120
ttaggggtct gtccctaaca ccttgcttcc ggagttgcac tgttttacgg tctctccacc	180
cctttaacca tgtctgggat acttgatcgg tgcacgtgta ccccaatgc taggggtgtt	240
gtggcggagg gccaggctca ctgcacacga tgtctcagt cacggctctc ccttcctctg	300
aatctccaag ttcttgagct tgggggtgct ggtctattt ataggcccga agagccactc	360
cgggtggacgt tgccacgtgc attcccact gtcgagtgt ccccgccgg ggcctgttgg	420
ctttctgcga tttttccgat tgcacgaatg actagtggaa acctgaact tcaacaaaga	480
atgggtgcggg tcgcagctga aatctacaga cccggccaac tcacctac agttctaaag	540
actctacaag tttatgaacg gggttgtcgc tggtagccca ttgtcgggcc cgtccctggg	600
gtgggcgttt acgccaactc cctgcatgtg agtgacaaac ctttcccggt agcaactcat	660
gtgttaacca acttgccgct cccgcagagg cccaaacctg aggacttttg cccttttgag	720

tgtgctatgg ctgacgtcta tgacattggt cgtggcgctg tcatgtatgt ggccggagga	780
aaggtctctt gggcccctcg tgggtggaat gaagtgaat ttgaacctgt tcccaaggag	840
ttgaagttgg ttgcgaaccg actccacacc tccttcccgc cccatcacgt agtgacatg	900
tccgagttta ccttcacgac ccttgggagt ggtgtctcca tgcgggttga gtaccaatac	960
ggctgcctcc ctgctgacac tgtccctgaa ggaaactgct ggtggcgctt gtttgactcg	1020
ctcccaccg aagttcagta caaagaaatt cgccatgcta accaatttgg ctatcaaacc	1080
aagcatggtg tccctggcaa gtacctacag cggaggctgc aagttaatgg tcttcgggca	1140
gtgaccgaca cacatggacc tatcgctata cagtacttct ctgttaagga gagttggatc	1200
cgccacctga agttggtgga agaaccacgc ctccccgggt ttgaggatct cctcagaatc	1260
agggttgagc ccaatacgtc accactggct agaaaggatg agaagatttt ccggtttggc	1320
agtcataagt ggtacgggtg cggaagaga gcaaggaaaa cacgctcttg tgcgactact	1380
atggtcgctc atcacgcttc gtcgctcat gaaacccggc aggccacgaa gcacgagggt	1440
gccggcgcta acaaggccga gcatctcaag cgctactctc cgctgcccga agggaaactgt	1500
ggttggcact gcatttcgcg catcgccaac cggatggtga attccaactt tgagaccacc	1560
cttcctgaaa gggtaaggcc ttcatgatgac tgggccactg acgaggatct tgtgaacacc	1620
atccaaatcc tcagggtccc tgcggccttg gacaggaacg gcgcttgccg tagcgccaag	1680
tacgtgctta aactggaggg tgagcattgg actgtctctg tgatccctgg gatgtccct	1740
actttgctcc cccttgatg tgttcagggt tgttgtagc ataagggcgg tcttgtttcc	1800
ccggatgcgg tcgaaatttc cggatttgat cctgcctgcc ttgaccgact ggctaaggta	1860
atgcacttgc ctagcagtac catcccagcc gctctggccg aattgtccga cgactccaac	1920
cgtccggttt ccccgccgc tactacgtg actgtttcgc aattctatgc tcgtcataga	1980
ggaggagatc atcatgacca ggtgtgctta gggaaaatca tcagcctttg tcaagttatt	2040
gaggattgct gctgccatca gaataaaacc aaccgggcta ctccggaaga ggtcgcggca	2100

aagattgata agtacctccg tggcgcaaca agtcttgagg aatgcttggc caaacttgag 2160
 agagtttccc cgccgagcgc tgcggacacc tcctttgatt ggaatgttgt gcttctctggg 2220
 gttgaggcgg cgaatcagac aaccgaacaa cctcacgtca actcatgctg caccctggtc 2280
 cctcccgta ctcaagagcc tttgggcaag gactcgttc cctgaccgc cttctcactg 2340
 tccaattgct attaccctgc acaaggtag gaggttcac accgtgagag gttaaattcc 2400
 gtactctcta agttggaaga ggttgtcctg gaagaatatg ggctcatgtc cactggactt 2460
 ggcccgcgac ccgtgctgcc gagcgggctc gacgagctta aagaccagat ggaggaggat 2520
 ctgctaaaac tagccaacac ccaggcgact tcagaaatga tggcctgggc agctgagcag 2580
 gtcgatttaa aagcttgggt caaaagctac ccgcggtgga cacctccacc ccctccacca 2640
 agagttcaac ctgcgagaac aaagtctgtc aaaagcttgc cagaggacaa gcctgtccct 2700
 gctccgcgca ggaaggtcag atccgattgc ggcagcccg ttttgatggg cgacaatgtc 2760
 cctaacggtt cggaagaaac tgtcgggtgt cccctcaatt ttccgacacc atccgagccg 2820
 atgacaccta tgagttagcc cgtacttgtg cccgcgtcgc gacgtgtccc caagctgatg 2880
 acacctttga gtgggtcggc accagttcct gcaccgcgta gaactgtgac aacaacgctg 2940
 acgcaccagg atgagcctct ggatttgtct gcgtctctac agacggaata tgaggctttc 3000
 cccctagcac cgtcgcagaa catgggcac cctggaggcg gggggcaaga agctgaggaa 3060
 gtccctgagt aaatctcgga tatactaaat gacaccaacc ctgcacctgt gtcacaaac 3120
 agctccctgt caagtgttaa gatcacacgc ccaaaatact cagctcaagc catcatcgac 3180
 tctggcgggc tttgcagtgg gcatctccaa aaggaaaaag aagcatgcct cagcatcatg 3240
 cgtgaggctt gtgatgcgtc caagcttagt gatcctgcta cgcaggagtg gctctctcgc 3300
 atgtgggata gggttgacat gctgacttgg cgcaacacgt ctgcttacca ggcgtttcgc 3360
 atcttaaatg gcaggtttga gtttctccca aagatgattc tcgagacacc gccgccccac 3420
 ccgtgcgggt ttgtgatgtt acctcacacg cctgcacctt ccgtgagtgc agagagtgat 3480

ctcaccattg gttcagtggc caccgaggat gttccacgca tcttcgggaa aataggagac 3540

actgacgagc tgcttgaccg ggggccctcg gcaccctcca agggagaacc ggtctgtgac 3600

caacctgcc aagatccccg gatgtcgccg cgggagtctg acgagagcat aatagctccg 3660

cccgcagata caggtggtgt cggtcattc actgatttgc cgtcttcaga tgggtgtgat 3720

gtggacgggg gggggccgtt aagaacggta aaaacaaaag caggaaggct cttagaccaa 3780

ctgagctgcc aggttttttag cctcgtttcc catctcccta ttttcttctc acacctcttc 3840

aaatctgaca gtggttattc tccgggtgat tggggttttg cagcttttac tctattttgc 3900

ctctttctat gttacagtta cccattcttc ggttttgcct cctcttggg tgtattttct 3960

gggtcttctc ggcgtgtgcg aatgggggtt tttggctgct ggttggtttt tgcgtgtggt 4020

ctgttcaagc ctgtgtccga ccagtcggc actgcttgtg agtttgactc gccagagtgt 4080

aggaacgtcc ttcattcttt tgagcttctc aaaccttggg accctgtccg cagccttgtt 4140

gtgggccccg tcggtctcgg ccttgccatt ctgggcaggt tattgggcgg ggcacgctac 4200

atctggcaact ttttgcttag gcttgccatt gttgcagact gtatcttggc tggagcttat 4260

gtgctttctc aaggtaggtg taaaaagtgc tgggatctt gtgtaagaac tgcctctaatt 4320

gagatcgct tcaacgtgtt cctttttaca cgtgcgacca ggtcgtcact catcgacctg 4380

tgcgatcggg tttgcgcacc aaaaggcatg gaccccatth ttctcgccac tgggtggcgt 4440

gggtgctgga ccggccggag tccattgag caaccttctg aaaaacccat cgcgttcgcc 4500

cagctggatg agaagaggat tacggctaga actgtggtcg ctacgcctta tgatcccaac 4560

caggccgtaa agtgcttgcg ggtattacag gcgggtgggg cgatgggtggc cgaggcagtc 4620

cctaaagtgg tcaaagtctc cgctattcca ttccgagctc ctttctttcc cgctggagtg 4680

aaagttagtc ctgagtgcag aatcgtggtt gatcccgata cttttactac agccctccgg 4740

tctggctatt ccaccgcgaa cctcgtcctt ggtacggggg actttgcca gctgaatgga 4800

ctaaagatca ggcaaatttc caagccttca gggggaggcc cacacctcat tgctgccttg 4860

catgttgccct gctcgaatggc gttacacatg cttgctggtg tttatgtaac tgcagtgggg 4920
 tcctgcggta ccggtacca cgaaccgtgg tgcactaacc cgtttgccgt ccctggctac 4980
 ggacctggct ctctttgcaac gtctagattg tgcactctcc aacacggcct caccttgccc 5040
 ttgacagcac ttgtggcggg attcgccctt caagagattg ccttggtcgt tttgattttt 5100
 gtctccatcg gaggcattgg tcataggttg agttgtaagg ctgacatgtt gtgcacttta 5160
 ctgcgaatcg ctagtattgt ttgggtacct cttacctggt tgccttgtgt gtttccttgt 5220
 tggttgcgct gttctctttt gcacccctc accatctat ggttggtgtt tttcttgatt 5280
 tctgtaaata taccctcagg agtcttgcc gtggtgttgt tgatttctct ctggctttta 5340
 ggtcgttata ctaacgttgc tggcttctgc actccctatg acattcatca ttacaccagt 5400
 ggcccccgcg gtgttgccgc cttggctacc gcaccagatg ggacctactt ggccgctgc 5460
 cggcgcgctg cgctgactgg tctgacctg ctgttcaccc cgtctcagct cgggtccctc 5520
 cttgaggcgc ctttcagaac tcaaaagccc tcaactgaaca ccgtcaatgt ggtcgggtcc 5580
 tccatgggct ctggcggagt gttcactatt gacgggaaaa tcaagtgcgt gactgccgca 5640
 catgtcctta cgggtaactc agctaggggt tccggggctg gcttcaatca aatgcttgac 5700
 tttgatgtaa aaggggactt cgccatagct gattgccga attggcaagg ggttgctccc 5760
 aaggccagct tctgcgagga tgggtggact ggtcgcgcct attggtgac atcctctggc 5820
 gttgaaccgc gtgttattgg gaatgggttc gccttctgct tcaccgcgtg tggcgattct 5880
 ggatccccag tgattaccga agccgggtgag cttgtcggcg ttcacacagg atcaaacaaa 5940
 caaggaggag gcattgtcac gcgcccctca ggccagtttt gtaatgtgaa gcccatcaag 6000
 ctgagcgagt tgagtgaatt ctctcctgga cctaaggtcc cgctcgggtg tgtgaaaatt 6060
 ggcagtcaca taattaaaga cacatgcgag gtgccttcag atctttgtgc cctgcttgct 6120
 gccaaaccgc aactggaag aggcctttcc acagtccaac ttctgtgtgt gtttttcttc 6180
 ctgtggagaa tgatggggca tgcttgagc cccttggtt ctgtggggtt tttcatctg 6240

aatgagattc tcccagctgt cctggtcgg agtggtttct cctttgggat gtttgtgcta 6300
 tcttggctca caccatggtc tgcgcaagtc ctgatgatca ggcttctgac agcagccctt 6360
 aacagaaaaca gatggtctct tggtttttac agccttgggtg cagtaaccag ttttgtcgca 6420
 gatcttgccg taactcaagg gcctccgtta cagggtggtaa tgaacttaag cacctatgcc 6480
 ttctgcccc ggatgatggt tgtgacctcg ccagtccag tgatcgctg tgggtgtgtg 6540
 cactccttg ccataatctt gtacttgttt aagtaccgct gccttcacaa tgccttgtt 6600
 ggcatgggg tgttctcttc ggctttcttc ttgcgatact ttgccgaggg aaagttgagg 6660
 gaaggggtgt cgcaatcctg cgggatgagt catgagtcgc tgactggtgc cctcgccatg 6720
 agactcactg acgaggactt ggatttcctt acgaaatgga ctgattttaa gtgcttgtt 6780
 tctgctcca acatgaggaa tgcagcgggc caatttatcg aggtgctta tgcaaaagca 6840
 ctaagaattg aacttgctca gttggtacag gttgataagg tccgaggtac catggccaaa 6900
 ctcgaggctt ttgccgatac cgtggcacc ccaactctgc ccggtgacat tgttgttgc 6960
 cttggccaca cgcctgttgg cagcatcttc gacctaaagg ttggtagcac caagcatact 7020
 ctccaagcca ttgagactag agtccttgcc gggccaaaa tgactgtggc gcgtgtcgtt 7080
 gaccaacccc cgcaccccc acccgtacct gtgccatcc ctctcccacc gaaagtctg 7140
 gagaacggtc ccaatgctg gggggatgag gaccgttga acaagaagaa gaggcgcagg 7200
 atggaagccg tcggcatttt tgtcatggac gggaagaagt accagaaatt ttgggacaag 7260
 aattccggtg atgtgtttta tgaggaggtc catattagca cagacgagtg ggagtgcctt 7320
 agaactggcg accctgtcga ctttgatcct gagacagga ttcagtgtg gcatacacc 7380
 attgaagaca aggtttacaa tgtcttcacc tccccatcg gtaggagatt cttggtcccc 7440
 gccaaacccc agaatagaag agctcagtgg gaagccgcca agctttccgt ggagcaagcc 7500
 cttggcatga tgaacgtcga cggcgaactg actgccaaag aactggagaa actgaaaaga 7560
 ataattgaca aactccaggg cctgactaag gacgagtgtt taaactgcta gccgccagcg 7620

gcttgaccog ctgtggtcgc ggcggcttag ttgttactga gacagcggta aaaatagtea 7680
 aatttcacaa ccggaccttc accctaggac ctgtgaactt aaaagtggcc agtgagggtg 7740
 agctaaaaga cgcggttgag cacaaccaac atccggttgc cagaccggtt gatggtggtg 7800
 ttgtgctcct gcgctctgca gttecltcgc ttatagatgt cttgatctcc ggcgctgatg 7860
 catctcctaa gttactcgcc cgccacgggc cgggaaacac tgggattgat ggcacgcttt 7920
 gggattttga ggccgaggct actaaagagg aagttgcact cagtgcgcaa ataatacagg 7980
 cttgtgatat taggcgcggc gacgcgcctg aaattggtct cccttataag ttgtaccctg 8040
 ttaggggcaa ccctgagcgg gtaaaaggag ttttacagaa tacaaggttt ggagacatac 8100
 cttacaaaaa cccagtgac actggaagcc cgggtgcacgc ggctgcctgc ctcacgccta 8160
 atgctactcc ggtgactgat gggcgctcgc tcttggtac aaccatgccc tctggctttg 8220
 agttgtatgt gccgaccatt ccagcgctcg tccttgatta tcttgattct aggcctgact 8280
 gccctaaaca gttaacagag caggtttgtg aggatgctgc attaagagac ctctccaagt 8340
 atgatttgc caccgaagc tttgttttgc ctggagtctc tcgcctcgtg cggaagtacc 8400
 tgttcgcccc cgtgggtaag tgcccgcccg ttcacggcc ttccacttac cctgctaaga 8460
 attctatggc tggaataaat gggaacaggt ttccaaccaa ggacattcag agcgtccctg 8520
 aaatcgacgt tctgtgcgca caggctgtgc gagaaaactg gcaaactgtt accccttcta 8580
 ccctcaagaa acagtactgt gggaagaaga agactaggac aatacttggc accaataact 8640
 tcattgcgtt ggcccatcgg gcagcgttga gtggtgttac ccagggtctc atgaaaaaag 8700
 cgttcaactc gcccatcgcc ctccggaaaa acaaatttaa ggagctacaa gccccggtcc 8760
 taggcagggt ccttgaagct gatcttgcgt cctgcgatcg atccacacct gcaattgtcc 8820
 gctgggttgc cgccaatctt ctttatgaac tcgcctgtgc tgaggagcat ctaccgtcgt 8880
 acgtgctgaa ctgctgccac gacttactgg tcacgcagtc cggcgcggtg actaagaagg 8940
 gtggcctgtc gtctggcgac ccgattacct ctgtgtcaaa caccatttac agcttagtga 9000

tatatgcaca gcacatggtg ctcaagttact tcaaaagtgg tcaccctcat ggccttctgt 9060

ttctgcaaga ccagctaaag tttaggagaca tgctcaaggt tcaaccctg atcgtctatt 9120

cggacgacct tgtgctgtat gccaggtctc cctccatgcc aaactaccac tggtaggttg 9180

aacatctgaa tcttatgctg ggtttccaga cggacccaaa gaagacaacc atcacagact 9240

caccatcatt cctaggttgc aggataataa atgggcgcca gctagtccct aaccgtgaca 9300

ggatcctcgc ggcctcgcgc taccacatga aggcaagtaa tgtttctgaa tactacgcct 9360

cggcggtctg aatactcatg gacagctgtg cttgtttaga gtatgatcct gaatggttg 9420

aagagctcgt ggttgggatg gcgcagtgcg cccgcaagga cggtacagc tttcctggcc 9480

caccgttctt ctgtccatg tgggaaaaac tcaggtccaa tcatgagggg aagaagtcca 9540

gaatgtgcgg gtactgcggg gcccgcgctc cgtacgccac tgccgtgtgt ctcgatgtct 9600

gtgtttacca caccacttc caccagcatt gtctgttat aatctggtgt ggccaccg 9660

cgggttctgg ttctttagt gagtgcaac ccccttagg aaaaggcaca agccctctag 9720

atgaggtgtt agaacaagtt ccgtacaagc ctccgcggac tgtgatcatg catgtggagc 9780

agggtctcac cctcttgac ccaggtagat accagactcg ccgcggatta gtctccgtta 9840

ggcgtggcat taggggaaat gaagtcgacc taccagacgg tgattacgt agcaccgcct 9900

tgctccctac ttgtaaagag atcaacatgg tcgtgtgcg ctctaactg ttgcgcagca 9960

ggtttatcat cggccacccc ggtgctggga aaacacactg gcttcttcaa caagtccagg 10020

atggtgatgt catttacag ccaactcacc agaccatgct cgacatgatt agggctttg 10080

ggacgtgccg gttcaacggt ccagcaggta caacgctgca attccctgcc ccctcccgta 10140

ccggcccatg ggttcgcac ttggccggcg gttggtgtcc tggcaagaac tccttctctg 10200

atgaagcggc gtattgcaat caccttgatg tcttgaggct tctcagtaaa acaactotca 10260

cttgccctag agacttcaaa caactccacc ctgtggggtt tgactcccat tgctatgtat 10320

ttgacatcat gcctcagacc caattaaaga ccatctggag gttcgggcag aatatctgtg 10380

atgccattca accagattac agggacaaac ttatgtccat ggtcaacacg acccgtgtga 10440
 cctacgtgga aaaacctgtc aggtatgggc aagtcctcac cccctaccac agggaccgag 10500
 aggacggcgc cactactatc gactccagtc aaggcgccac atttgatgtg gttacactgc 10560
 atttgccac taaagattca ctcaacaggc aaagagctct tgttgctatc accagggcaa 10620
 gacatgttat ctctgtgtat gacccacaca ggcaattgca gagcatgttt gatcttcccg 10680
 cgaaaggcac acccgtcaac ctgcagtcgc accgtgacga acagctgacg gtattagaca 10740
 gaaacaacag agaaatcacg gttgtcaggc ctctaggcaa tggagataaa ttcaggggcca 10800
 cagataagcg cgttgtagat tctctccgcg ctatttgcgc agacctggaa gggtcgagct 10860
 ccccgtccc caaggtcgcg cataacttgg gattctatct ctcacctgat ttgactcagt 10920
 ttgctaaact ccggcagaa cttgcgcccc actggcccggt ggtgacaacc cagaacaatg 10980
 aaagtggtgc agatcggtcg gtagccagcc ttcgcctat ccataaatat agccgcgcgt 11040
 gcattgtgtc cggctatatg gtgggcccct cgggtgtttt aggcacccct ggggttgtgt 11100
 catactatct caaaaattt gttagaggcg aggtcaagt gcttccggag acagtcttca 11160
 gcaccggcgc aattgaggtg gattgtcgag agtatcttga tgatcgggag cgagaagttg 11220
 ctgagtcctt cccacatgcc ttcacgcgag atgtcaaagg taccaccgtt gggggatgtc 11280
 atcacgttac ctcaaatat ctccgcgct tcttcccaa ggaatcagtt gcggtggtcg 11340
 ggggttcgag ccccgggaaa gccgcgaaag cagtttgac attgacggat gtgtacctcc 11400
 cagaccttga agcgtacctc caccagaga ccagtcag gtgctggaaa gtgatgttg 11460
 actttaagga ggttcgactg atggtatgga aagacaagac ggcctatctt caacttgaag 11520
 gccgccattt tacctggtat caacttcaa gctacgcctc atacatccga gttcctgtta 11580
 attctactgt gtacttgac cctgcagtg gccctgctct ttgcaacaga agggttgtcg 11640
 ggtccacca ttggggagct gacctcgag tcacctta tgattacggt gccaaaatta 11700
 ttctgtctag tgcataccat ggtgaaatgc ctccaggta caaaattctg gcgtgcgcgg 11760

agttctcgct tgatgacca gtaaggtaca aacacacctg gggatttgaa tcggatacag 11820
 cgtatctgta cgagttttact ggaaatgggtg aggactggga ggattacaat gatgcgtttc 11880
 gggcgcgcca gaaagggaaa atttataaag ctaatgccac cagcatgagg ttcatTTTT 11940
 ccccgggccc tgtcattgaa ccaacttttag gcctgaattg aaatgaaatg gggctctatgc 12000
 aaagcctctt tgacaaaatt ggccaacttt ttgtggatgc tttcacgga tttctgggtg 12060
 ccattgttga tatcatcata tttttggcca ttttgtttgg cttcacaatc gcggttggc 12120
 tgggtgtctt atgcatcaga ctggtttgct ccgcggtact ccgtgcgcgc tctaccgttc 12180
 accctgagca attacagaag atcttatgag gcctttcttt ctcagtgtca ggtggacatt 12240
 cccacctggg gcgtcaaaca ccctttgggg gtgctttggc accataaggt gtcaaccctg 12300
 attgatgaaa tgggtgcgcg tcgaatgtac cgcacatgg aaaaagcagg gcaggctgcc 12360
 tggaaacagg tggtagcga ggctacattg tctcgatta gtggtttgga tgtgtggct 12420
 cactttcaac atcttgccgc tattgaagcc gagacttgta aatatttggc ctcccggcta 12480
 cccatgctgc acaacctgcg cttgacaggg tcaaagttaa ccatagtga taatagtact 12540
 ttggatcagg tgtttgccat tttccaacc cctggttccc ggccaaagct tcatgatttt 12600
 cagcaatggc taatagtgt acattcctcc atattttctt ccgttgacgc ttctgtact 12660
 cttttgttg tgtgtgggt gcgaattcca atgctacgtt ctgtttttgg tttccgctgg 12720
 ttaggggcaa cttttctttt gaactcatgg tgaattacac ggtatgccg ctttgccaa 12780
 cccggcaggc agccgctgag atccttgaa ccggcaagtc tttttggtgc aggatagggc 12840
 atgaccgatg tagtgagaac gatcatgacg aactagggtt catggttccg cctggccttt 12900
 ccagcgaagg ccacttgacc agtggttacg cctggttggc gttcctgtcc ttcagctaca 12960
 cggcccagtt ccatcccgag atatttggga tagggaatgt gagtcaagtt tatgttgaca 13020
 tcaagcacca attcatctgc gctgttcacg acggggataa cgccacctg cctcgccatg 13080
 acaatatttc agccgtattt cagacctact accaacacca ggtcgacgac ggcaattgggt 13140

ttcacctgga atggctgcgc cctttctttt cctcttggtt ggttttaaat gtttcgtggt 13200
 ttctcaggcg ttgcctgca aaccatgttt cagttcgagt ctttcggaca tcaaaaccaa 13260
 caccaccgca gcatcagact tcgttgcctt ccaggacatc agctgcctta ggcatggcga 13320
 ctctctctct ccgacgattc gcaaaagtcc tcagtgcgcg acggcgatag ggacgcccgt 13380
 gtacatcacc atcactgcc aatgtcacaga tgaatttat ctacattctt ctgatctcct 13440
 catgctttct tcttgctttt tctatgttc cgagatgagt gaaaagggat tcaaagtgg 13500
 gtttggaat gtgtcaggca tcgtggctgt gtgcgtcaac ttaccagct acgtccaaca 13560
 cgtcaaggag ttaccacaac gctccttagt ggtcgatcat gtgcgactgc ttcatttcat 13620
 gacacctgag accatgaggt gggcaaccgt tttagcctgt ctttttgcca tcctactggc 13680
 aatttgaatg ttaagtatg ttggggaagt gcttgaccgc gtgctgttgc tcgcgattgc 13740
 tttttttgtg gtgtatcgtg ccgttctatc ttgctgtgct cgtaacgcc agcaacaaca 13800
 acagctctca tattcagttg atttataact taacgctatg tgagctgaat ggcacagatt 13860
 ggctggcaca aaaatttgac tgggcagttg agactttgt catcttccc gtgttgactc 13920
 acattgtttc ctatggggca ctcaccacca gccatttctt tgacacagtt ggtctggcca 13980
 ctgtgtccac cgccgatat tatcacgggc ggtatgtctt gtagtagcatt tacgcagtct 14040
 gtgctctggc tgcgctgatt tgctttgtca ttaggcttgc gaagaactgc atgtcctggc 14100
 gctactcttg taccagatat accaaacttc ttctggacac taagggcaga ctctatcgtt 14160
 ggcggtcgcc cgtcattgtg gagaaagggg gtaagggtga ggtcgaaggt cacctgatcg 14220
 acctcaagag agttgtgctt gatggttccg cggcaacccc tttaaccaga gtttcagcgg 14280
 aacaatgggg tcgtctctag acgacttctg caatgatagc acagctccac agaagggtct 14340
 tttggcgttt tccattacct acacgccagt gatgatatat gctctaaagg taagtcgagg 14400
 ccgactgcta gggcttctgc accttttgat ctttctgaat tgtgctttta ccttcgggta 14460
 catgacattc gtgcactttg agagcacaaa tagggtcgag ctactatgg gagcagtagt 14520

```

tgcaattctt tggggagtg actcagccat agaaacctgg aaattcatca cctccagatg 14580
ccgttttgtgc ttgctaggcc gcaagtacat tctggccctt gccaccacg tcgaaagtgc 14640
cgcgggcttt catccgattg cggcaaatga taaccacgca ttgtcgtcc ggcgtcccg 14700
ctccactacg gtcaacggca cattggtgcc cgggttgaaa agcctcgtgt tgggtggcag 14760
aaaagctgtt aagcagggag tggtaaacct tgttaaatat gccaaataac aacggcaagc 14820
agcaaaagaa aaagaagggg aatggccagc cagtcaatca gctgtgccaa atgctgggta 14880
agatcatcgc ccaacaaaac cagtccagag gcaagggacc ggggaagaaa aataggaaga 14940
aaaacccgga gaagcccat ttccctctag cgactgaaga tgacgtcagg catcacttta 15000
cccctagtga gcggcaattg tgtctgtcgt cgatccagac tgccttcaat cagggcgctg 15060
gaacttgtgc cctgtcagat tcaggaggga taagttacac tgtggagttt agtttgccga 15120
cgcaacatac tgtcgtctg atccgcgcca cagcatcacc ctcagcatga tgggctggca 15180
ttctttggca cctcagtggt agaattggga gaatgtgtgg tgaatggcac tgattgacac 15240
tgtgcctcta agtcacctat tcaattaggc cgaccgtgtg ggggtaaagt ttaattggcg 15300
agaaccatgc ggcgtaatt aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 15360
aaaaaaaaaa aaa 15373

```

```

<210> 2
<211> 1196
<212> PRT
<213> Штам вірусу PRRS ATCC VR-2332

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> SwissProt, реєстраційний № Q9WJB2

```

```

<220>
<221> Пептид
<222> (1)..(1196)
<223> NSP2

```

<220>

<221> Пептид

<222> (1)..(1196)

<223> NSP2

<400> 2

Gly Ala Gly Lys Arg Ala Arg Lys Ala Arg Ser Cys Ala Thr Ala Thr
1 5 10 15

Val Ala Gly Arg Ala Leu Ser Val Arg Glu Thr Arg Gln Ala Lys Glu
20 25 30

His Glu Val Ala Gly Ala Asn Lys Ala Glu His Leu Lys His Tyr Ser
35 40 45

Pro Pro Ala Glu Gly Asn Cys Gly Trp His Cys Ile Ser Ala Ile Ala
50 55 60

Asn Arg Met Val Asn Ser Lys Phe Glu Thr Thr Leu Pro Glu Arg Val
65 70 75 80

Arg Pro Pro Asp Asp Trp Ala Thr Asp Glu Asp Leu Val Asn Ala Ile
85 90 95

Gln Ile Leu Arg Leu Pro Ala Ala Leu Asp Arg Asn Gly Ala Cys Thr
100 105 110

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

Val Thr Pro Gly Met Ser Pro Ser Leu Leu Pro Leu Glu Cys Val Gln
130 135 140

Gly Cys Cys Gly His Lys Gly Gly Leu Gly Ser Pro Asp Ala Val Glu
145 150 155 160

Val	Ser	Gly	Phe	Asp	Pro	Ala	Cys	Leu	Asp	Arg	Leu	Ala	Glu	Val	Met	165	170	175	
His	Leu	Pro	Ser	Ser	Ala	Ile	Pro	Ala	Ala	Leu	Ala	Glu	Met	Ser	Gly	180	185	190	
Asp	Ser	Asp	Arg	Ser	Ala	Ser	Pro	Val	Thr	Thr	Val	Trp	Thr	Val	Ser	195	200	205	
Gln	Phe	Phe	Ala	Arg	His	Ser	Gly	Gly	Asn	His	Pro	Asp	Gln	Val	Arg	210	215	220	
Leu	Gly	Lys	Ile	Ile	Ser	Leu	Cys	Gln	Val	Ile	Glu	Asp	Cys	Cys	Cys	225	230	235	240
Ser	Gln	Asn	Lys	Thr	Asn	Arg	Val	Thr	Pro	Glu	Glu	Val	Ala	Ala	Lys	245	250	255	
Ile	Asp	Leu	Tyr	Leu	Arg	Gly	Ala	Thr	Asn	Leu	Glu	Glu	Cys	Leu	Ala	260	265	270	
Arg	Leu	Glu	Lys	Ala	Arg	Pro	Pro	Arg	Val	Ile	Asp	Thr	Ser	Phe	Asp	275	280	285	
Trp	Asp	Val	Val	Leu	Pro	Gly	Val	Glu	Ala	Ala	Thr	Gln	Thr	Ile	Lys	290	295	300	
Leu	Pro	Gln	Val	Asn	Gln	Cys	Arg	Ala	Leu	Val	Pro	Val	Val	Thr	Gln	305	310	315	320
Lys	Ser	Leu	Asp	Asn	Asn	Ser	Val	Pro	Leu	Thr	Ala	Phe	Ser	Leu	Ala	325	330	335	
Asn	Tyr	Tyr	Tyr	Arg	Ala	Gln	Gly	Asp	Glu	Val	Arg	His	Arg	Glu	Arg				

	340		345		350
Leu Thr Ala Val Leu Ser Lys Leu Glu Lys Val Val Arg Glu Glu Tyr					
	355		360		365
Gly Leu Met Pro Thr Glu Pro Gly Pro Arg Pro Thr Leu Pro Arg Gly					
	370		375		380
Leu Asp Glu Leu Lys Asp Gln Met Glu Glu Asp Leu Leu Lys Leu Ala					
	385		390		395
					400
Asn Ala Gln Thr Thr Ser Asp Met Met Ala Trp Ala Val Glu Gln Val					
		405		410	415
Asp Leu Lys Thr Trp Val Lys Asn Tyr Pro Arg Trp Thr Pro Pro Pro					
	420		425		430
Pro Pro Pro Lys Val Gln Pro Arg Lys Thr Lys Pro Val Lys Ser Leu					
	435		440		445
Pro Glu Arg Lys Pro Val Pro Ala Pro Arg Arg Lys Val Gly Ser Asp					
	450		455		460
Cys Gly Ser Pro Val Ser Leu Gly Gly Asp Val Pro Asn Ser Trp Glu					
	465		470		475
					480
Asp Leu Ala Val Ser Ser Pro Phe Asp Leu Pro Thr Pro Pro Glu Pro					
		485		490	495
Ala Thr Pro Ser Ser Glu Leu Val Ile Val Ser Ser Pro Gln Cys Ile					
	500		505		510
Phe Arg Pro Ala Thr Pro Leu Ser Glu Pro Ala Pro Ile Pro Ala Pro					
	515		520		525

Arg Gly Thr Val Ser Arg Pro Val Thr Pro Leu Ser Glu Pro Ile Pro
530 535 540

Val Pro Ala Pro Arg Arg Lys Phe Gln Gln Val Lys Arg Leu Ser Ser
545 550 555 560

Ala Ala Ala Ile Pro Pro Tyr Gln Asp Glu Pro Leu Asp Leu Ser Ala
565 570 575

Ser Ser Gln Thr Glu Tyr Glu Ala Ser Pro Pro Ala Pro Pro Gln Ser
580 585 590

Gly Gly Val Leu Gly Val Glu Gly His Glu Ala Glu Glu Thr Leu Ser
595 600 605

Glu Ile Ser Asp Met Ser Gly Asn Ile Lys Pro Ala Ser Val Ser Ser
610 615 620

Ser Ser Ser Leu Ser Ser Val Arg Ile Thr Arg Pro Lys Tyr Ser Ala
625 630 635 640

Gln Ala Ile Ile Asp Ser Gly Gly Pro Cys Ser Gly His Leu Gln Glu
645 650 655

Val Lys Glu Thr Cys Leu Ser Val Met Arg Glu Ala Cys Asp Ala Thr
660 665 670

Lys Leu Asp Asp Pro Ala Thr Gln Glu Trp Leu Ser Arg Met Trp Asp
675 680 685

Arg Val Asp Met Leu Thr Trp Arg Asn Thr Ser Val Tyr Gln Ala Ile
690 695 700

Cys Thr Leu Asp Gly Arg Leu Lys Phe Leu Pro Lys Met Ile Leu Glu

705	710	715	720
Thr Pro Pro Pro Tyr Pro Cys Glu Phe Val Met Met Pro His Thr Pro			
	725	730	735
Ala Pro Ser Val Gly Ala Glu Ser Asp Leu Thr Ile Gly Ser Val Ala			
	740	745	750
Thr Glu Asp Val Pro Arg Ile Leu Glu Lys Ile Glu Asn Val Gly Glu			
	755	760	765
Met Ala Asn Gln Gly Pro Leu Ala Phe Ser Glu Asp Lys Pro Val Asp			
	770	775	780
Asp Gln Leu Val Asn Asp Pro Arg Ile Ser Ser Arg Arg Pro Asp Glu			
785	790	795	800
Ser Thr Ser Ala Pro Ser Ala Gly Thr Gly Gly Ala Gly Ser Phe Thr			
	805	810	815
Asp Leu Pro Pro Ser Asp Gly Ala Asp Ala Asp Gly Gly Gly Pro Phe			
	820	825	830
Arg Thr Val Lys Arg Lys Ala Glu Arg Leu Phe Asp Gln Leu Ser Arg			
	835	840	845
Gln Val Phe Asp Leu Val Ser His Leu Pro Val Phe Phe Ser Arg Leu			
	850	855	860
Phe Tyr Pro Gly Gly Gly Tyr Ser Pro Gly Asp Trp Gly Phe Ala Ala			
865	870	875	880
Phe Thr Leu Leu Cys Leu Phe Leu Cys Tyr Ser Tyr Pro Ala Phe Gly			
	885	890	895

Ile Ala Pro Leu Leu Gly Val Phe Ser Gly Ser Ser Arg Arg Val Arg
900 905 910

Met Gly Val Phe Gly Cys Trp Leu Ala Phe Ala Val Gly Leu Phe Lys
915 920 925

Pro Val Ser Asp Pro Val Gly Ala Ala Cys Glu Phe Asp Ser Pro Glu
930 935 940

Cys Arg Asn Ile Leu His Ser Phe Glu Leu Leu Lys Pro Trp Asp Pro
945 950 955 960

Val Arg Ser Leu Val Val Gly Pro Val Gly Leu Gly Leu Ala Ile Leu
965 970 975

Gly Arg Leu Leu Gly Gly Ala Arg Cys Ile Trp His Phe Leu Leu Arg
980 985 990

Leu Gly Ile Val Ala Asp Cys Ile Leu Ala Gly Ala Tyr Val Leu Ser
995 1000 1005

Gln Gly Arg Cys Lys Lys Cys Trp Gly Ser Cys Ile Arg Thr Ala
1010 1015 1020

Pro Asn Glu Val Ala Phe Asn Val Phe Pro Phe Thr Arg Ala Thr
1025 1030 1035

Arg Ser Ser Leu Ile Asp Leu Cys Asp Arg Phe Cys Ala Pro Lys
1040 1045 1050

Gly Met Asp Pro Ile Phe Leu Ala Thr Gly Trp Arg Gly Cys Trp
1055 1060 1065

Ala Gly Arg Ser Pro Ile Glu Gln Pro Ser Glu Lys Pro Ile Ala

1070 1075 1080

Phe Ala Gln Leu Asp Glu Lys Lys Ile Thr Ala Arg Thr Val Val
1085 1090 1095

Ala Gln Pro Tyr Asp Pro Asn Gln Ala Val Lys Cys Leu Arg Val
1100 1105 1110

Leu Gln Ser Gly Gly Ala Met Val Ala Lys Ala Val Pro Lys Val
1115 1120 1125

Val Lys Val Ser Ala Val Pro Phe Arg Ala Pro Phe Phe Pro Thr
1130 1135 1140

Gly Val Lys Val Asp Pro Asp Cys Arg Val Val Val Asp Pro Asp
1145 1150 1155

Thr Phe Thr Ala Ala Leu Arg Ser Gly Tyr Ser Thr Thr Asn Leu
1160 1165 1170

Val Leu Gly Val Gly Asp Phe Ala Gln Leu Asn Gly Leu Lys Ile
1175 1180 1185

Arg Gln Ile Ser Lys Pro Ser Gly
1190 1195

<210> 3
<211> 603
<212> ДНК
<213> Штам вируса PRRS ATCC VR2332

<400> 3
atgttgagaga aatgcttgac cgcgggctgt tgctcgcgat tgctttcttt gtgggtatc 60
gtgccgttct gttttgctgt gctcgccaac gccagcaacg acagcagctc ccatctacag 120
ctgatttaca acttgacgct atgtgagctg aatggcacag attggctagc taacaaattt 180

```

gattgggcag tggagagttt tgtcatcttt cccgttttga ctcacattgt ctctatgggt 240
gccctcacta ccagccattt ccttgacaca gtcgcttttag tcaactgtgtc taccgcccgg 300
tttgttcacg ggcggtatgt cctaagtagc atctacgcgg tctgtgccct ggctgcgttg 360
acttgcttcg tcattagggt tgcaaagaat tgcattgtcct ggcgctacgc gtgtaccaga 420
tataccaact ttcttctgga cactaagggc agactctatc gttggcggtc gcctgtcatc 480
atagagaaaa ggggcaaagt tgaggtcgaa ggcatctga tcgacctcaa aagagttgtg 540
cttgatgggt ccgtggcaac ccctataacc agagtttcag cggaacaatg gggctgcctc 600
tag 603

```

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 1. Спосіб вакцинації свині від впливу форми PRRS, що відрізняється високою температурою і викликається вірусом HP PRRS, який полягає у тому, що вводять свині імуногенну композицію, що містить в ефективній кількості ослаблену форму вірусу PRRS типу II, штам якого зареєстрований під № ATCC VR-2332, або його потомство.
- 10 2. Спосіб за п. 1, у якому форма PRRS, що відрізняється високою температурою, викликається китайським штамом PRRSV, що має нуклеотидну послідовність, гомологічну щонайменше на 95 % нуклеотидній послідовності штаму JX143.
3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що вірус PRRS типу II являє собою штам, що має реєстраційний № ATCC VR-2495, або його потомство.
- 15 4. Спосіб за п. 2, у якому китайський штам PRRSV вибирають з групи, що включає AH-1; AHCFSH; AHCFZC; BB07; BD-8; BQ07; CL07; CX07; CZ07; FY060915; FY080108; GC-2; GCH-3; GD1; GD2; GD2007; GD3; GD4; GDSD1; GDY1-2007; GDY2-2007; GDYF1; GS2008; GXHZ12; GXHZ13; GXHZ14; GXHZ16; GXHZ19; GXHZ2; GXHZ21; GXHZ4; GXLZ5; GXLZ7; GY; GZCJ; GZDJ; GZHW1; GZHW2; GZHX; GZJS; GZKB; GZKY; GZLJ1; GZWB; GZWM; GZZB; Hainan-1; Hainan-2; HB1; HB2; HB3; HB-Tsh1; HB-Xt1; HEN46; HeN-KF; HeN-LH; HeN-LY; HLJDF; HLJMZ1;
 - 20 HLJMZ2; HLJMZ3; HLJZY; HM-1; HN2, HN2007; HN3; HNld; HNly; HNLY01; HNNX01; HNPJ01; HNsp; HNXT1; HNy; HNyz; HQ-5; HQ-6; HUB; HuN; HUN1; HUN11; HUN15; HUN16; HUN17; HUN2; HUN3; HUN4; HUN5; HUN6; HUN7; Hunan-1; Hunan-2; Hunan-3; HUNH2; HUNH4; HuNhl; HUNL1; HUNX4; HZ061226; HZ070105; Jiangsu-1; Jiangsu-2; Jiangsu-3; Jiangxi-2; Jiangxi-4; JLYS; JN; JX1; JX143; JX2; JX-2; JX2006; JX3; JX4; JX5; JXA1; KS06; LC07; LJ; LS06; LS-4; LY07;
 - 25 NB070319; SC07; SD; SD14; SDWF2; SH02; ST-7; SX2007; SY0608; TJDMJ; TJZHJ2; TJZHJ3; TQ; TQ07; TW07; WF07; XJ07; XL2008; YN2008; YNBS; YNDL; YNMG; YNWS; YNYS; YNYX1; YNYX3; ZJ06; ZJCJ; ZJWL; ZX07 і ZS070921.
- 5. Спосіб за пп. 1-4, у якому композиція містить також ад'ювант.
- 30 6. Спосіб вакцинації свині від впливу вірусу JX143, який викликає форму PRRS, що відрізняється високою температурою, який полягає у тому, що вводять свині імуногенну композицію, що містить в ефективній кількості ослаблену форму вірусу PRRS типу II, штам якого зареєстрований під № ATCC VR-2332, або його потомство.
- 35 7. Спосіб зниження коефіцієнта захворюваності або серйозності клінічних симптомів форм захворювання PRRS, що відрізняються високою температурою, який полягає у тому, що вводять свині, що має потребу у цьому, імуногенну композицію, що містить в ефективній кількості ослаблену форму вірусу PRRS типу II, штам якого зареєстрований під № ATCC VR-2332, або його потомство.
- 40 8. Спосіб зниження коефіцієнта захворюваності або серйозності клінічних симптомів форм захворювання PRRS, що відрізняються високою температурою, який полягає у тому, що вводять свині, що має потребу у цьому, імуногенну композицію, що містить в ефективній кількості ослаблену форму вірусу PRRS типу II, штам якого зареєстрований під № ATCC VR-2332, або його потомство, в якому форма захворювання PRRS, що відрізняється високою температурою, викликається китайським штамом PRRSV, що має нуклеотидну послідовність, гомологічну щонайменше на 95 % нуклеотидній послідовності штаму JX143.

9. Застосування ослабленої форми вірусу PRRS типу II, штам якого зареєстрований під № ATCC VR-2332, або його потомства для вакцинації свині від впливу форми PRRS, що відрізняється високою температурою.
10. Застосування за п. 9, в якому форма захворювання PRRS, що відрізняється високою температурою, викликається китайським штамом PRRSV, що має нуклеотидну послідовність, гомологічну щонайменше на 95 % нуклеотидній послідовності штаму JX143.
11. Застосування ослабленої форми вірусу PRRS типу II, штам якого зареєстрований під № ATCC VR-2332, або його потомства для готування фармацевтичної композиції, призначеної для вакцинації свині від впливу форми PRRS, що відрізняється високою температурою.
- 10 12. Застосування за п. 11, в якому форма захворювання PRRS, що відрізняється високою температурою, викликається китайським штамом PRRSV, що має нуклеотидну послідовність, гомологічну щонайменше на 95 % нуклеотидній послідовності штаму JX143.

Fig. 1

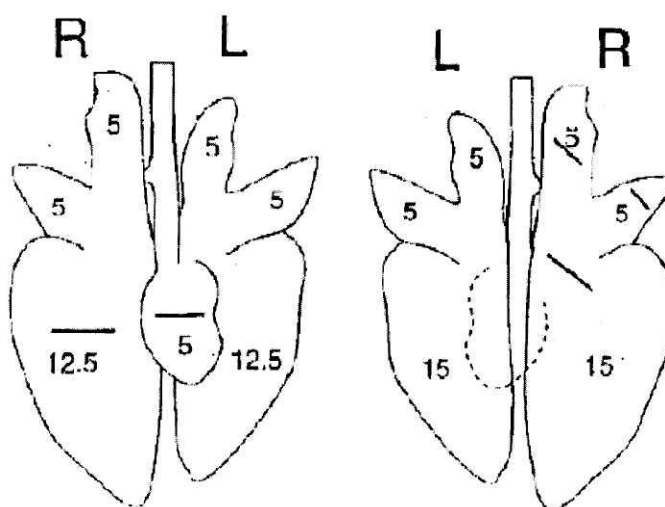
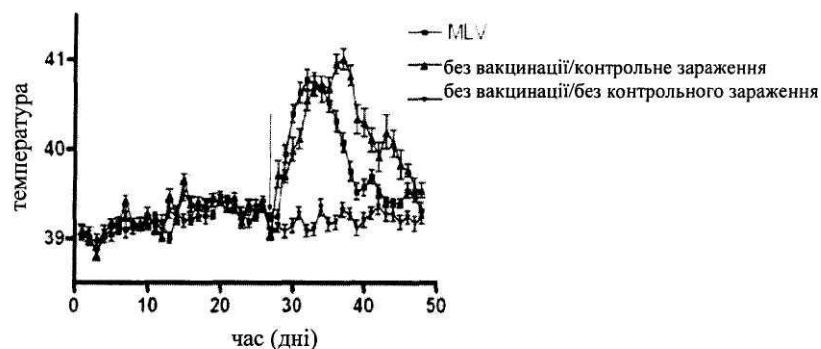
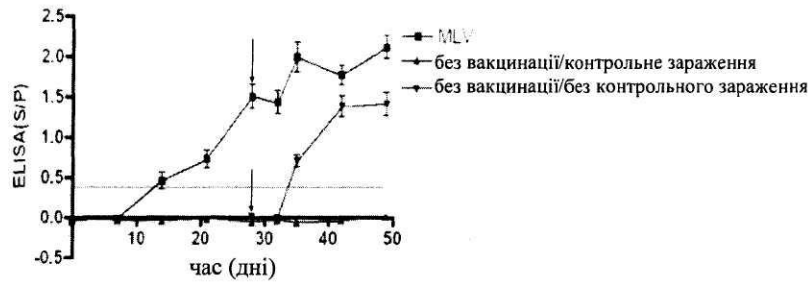


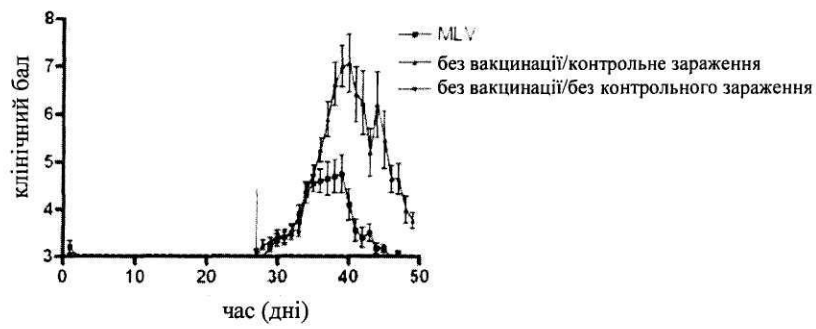
Fig. 2



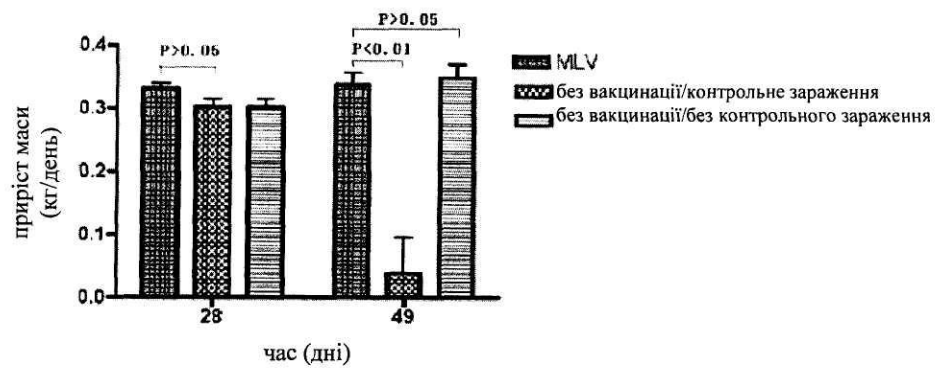
Фіг. 3



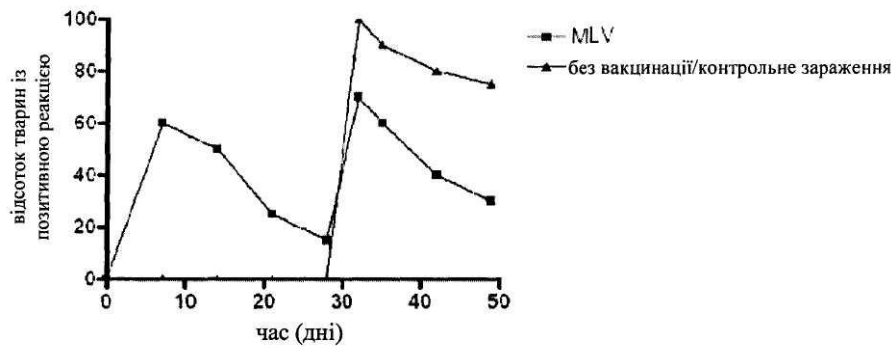
Фіг. 4



Фіг. 5



Фіг. 6



Комп'ютерна верстка М. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601