

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201792593** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2018.08.31

(51) Int. Cl. *A61K 39/12* (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2016.08.31

(54) **ПЕСТИВИРУСНЫЕ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВРОЖДЕННОГО ТРЕМОРА**

(31) **62/212,124**

(32) **2015.08.31**

(33) **US**

(86) **PCT/US2016/049709**

(87) **WO 2017/040672 2017.03.09**

(71) Заявитель:

**БЕРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ
ВЕТМЕДИКА ГМБХ (DE); АЙОВА
СТЕЙТ ЮНИВЕРСИТИ РИСЕРЧ
ФАУНДЕЙШН, ИНК. (US)**

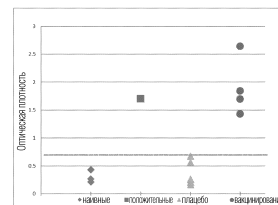
(72) Изобретатель:

**Виктория Джозеф Гилберт, Паттерсон
Эбби Рэй, Вайзек Кэлли Энн, Айер
Арун В., Хоббс Леа Энн, Арруда Бэйли
Лорен, Арруда Пауло Энрике Элиас,
Магстадт Дрю Роберт, Швартц Кент
Джей (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к вакцине для защиты поросят от болезней, связанных с новым пестивирусом. Вакцина обычно включает пестивирусное средство и, необязательно, адъювант. Изобретение также относится к способам защиты свиней от болезней, связанных с пестивирусом, включая, но не ограничиваясь ими, врожденный тремор, и к способам получения пестивирусной вакцины.



201792593
A1

201792593
A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-545502EA/045

ПЕСТИВИРУСНЫЕ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВРОЖДЕННОГО ТРЕМОРА СВЯЗАННЫЕ ЗАЯВКИ

По настоящей заявке испрашивается приоритет заявки на патент США № 62/212124, поданной 31 августа 2015, которая включена в настоящее описание в полном объеме в виде ссылки.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

А. Уровень техники

Настоящее изобретение относится к пестивирусной вакцине, которая способна снижать клинические симптомы врожденного тремора (СТ) или врожденной миоклонии. Состояние, известное также как «трясущиеся поросята».

Pestivirus является родом вирусов семейства *Flaviviridae*. Вирусы рода *Pestivirus* инфицируют млекопитающих, включая представителей семейства *Suidae* (который включает различные виды свиней).

СТ является спорадическим заболеванием, наблюдаемым у новорожденных поросят. Обычно в приплоде поражается более одного поросенка. Если тремор у поросят настолько сильный, что не дает доступа к соскам и сосанию, тогда смертность может быть высокой. Смертность в пораженном приплоде или при вспышке в стаде может возрастать на 3-10% выше нормы. По мере роста пораженных поросят это состояние ослабевает.

СТ подразделяется на пять типов. Типы AI, AIII, AIV и AV связаны с действием вируса классической чумы свиней, генетической особенностью или воздействием трихлорфона. Поскольку указанные причины известны и, следовательно, их стараются избегать, тип AII считается наиболее частой причиной. Полагают, что тип AII связан с вирусной инфекцией. Каузальный вирус группы 2 широко распространен в большинстве, если не во всех популяциях свиней, однако в большинстве стад наблюдается легкое течение заболевания, по-видимому, из-за того, что у свиноматки был приобретен иммунитет. Тем не менее, в новых стадах молодых свиней могут возникать крупные вспышки, при которых во время первых родов поражается до 80% всего помета.

Это не поддающийся количественному определению риск для любого нового стада молодых свиней.

Причина, по которой поросята рождаются с тремором, является вторичной по отношению к первичному поражению, заключающемуся в гипомиелинизации или демиелинизации мозга и спинного мозга. Специального лечения этого состояния не существует. Тем не менее, помощь при сосании и обеспечение условий содержания, при которых можно избежать охлаждения и задавливания, может позволить со временем восстановить большую часть свиней, хотя вес при отъеме может быть пониженным на 1 кг или более.

В. Описание предшествующего уровня техники

Несмотря на имеющиеся ранее сообщения о том, что цирковиральные инфекции свиней типа 1 и типа 2 (см., Burnborg et al., «Association of myocarditis with high viral load of porcine circovirus type 2 in several tissues in cases of fetal death and high mortality in piglets. A case study». J Vet Diagn Invest. 19(4):368-375, 2007) или астровируса (см. Blomstrom et al., «Astrovirus as a possible cause of congenital tremor type AII in piglets?» Acta Vet Scand. 56(1):82, 2014) являются причиной СТ, позднее они были опровергнуты (см., Ha et al., «Lack of evidence of porcine circovirus type 1 and type 2 infection in piglets with congenital tremors in Korea», Vet Rec. (2005) 156:383-384; Kennedy et al., «Absence of evidence of porcine circovirus infection in piglets with congenital tremors» J Vet Diagn Invest. 2003 Mar; 15(2):151-156). Таким образом, не имеется явного патогенного источника СТ типа AII у поросят и, следовательно, нет эффективного лечения этого состояния.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Решение вышеуказанной технической проблемы достигается описанием и вариантами осуществления, определенными в формуле изобретения. Таким образом, изобретение в его различных аспектах реализовано в соответствии с формулой изобретения.

Настоящее изобретение относится к иммуногенным композициям, вакцинам и связанным с ними способам, которые устраняют пробелы в данной области. Композиции и способы обеспечивают лечение врожденного тремора у поросят.

В одном из аспектов композиции по настоящему изобретению могут включать инактивированный пестивирус, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере приблизительно на 95% идентична SEQ ID NO:1, например, по меньшей мере приблизительно на 96%, 97%, 98% или по меньшей мере приблизительно на 99%, например, на 100%. В другом аспекте настоящее описание относится к композициям, которые включают инактивированный пестивирус, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 95% идентична SEQ ID NO:2, например, по меньшей мере приблизительно на 96%, 97%, 98% или по меньшей мере приблизительно на 99%, например, на 100%.

В некоторых вариантах осуществления композиций по настоящему изобретению пестивирус представляет собой химически инактивированный пестивирус, например, пестивирус, инактивированный обработкой инактивирующим средством, таким как бинарный этиленмин, этиленмин, ацетилметиленимин, бета-этиленмин, бета-пропиолактон, глутаровый альдегид, озон и/или формальдегид.

В некоторых вариантах осуществления пестивирус представляет собой физически инактивированный пестивирус, например, пестивирус, инактивированный обработкой УФ-излучением, рентгеновским излучением, гамма-излучением, замораживанием-оттаиванием и/или нагреванием.

В другом аспекте композиции по настоящему изобретению могут включать аттенуированный пестивирус, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере приблизительно на 95% идентична SEQ ID NO:1, например, по меньшей мере приблизительно на 96%, 97%, 98% или по меньшей мере приблизительно на 99%, например, на 100%. В еще одном аспекте композиции могут включать композиции, которые включают аттенуированный пестивирус, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 95% идентична SEQ ID NO:2, например, по меньшей мере приблизительно на 96%, 97%, 98% или по меньшей мере приблизительно на 99%, например, на 100%.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящему документе пестивирус может находиться в лиофилизованной форме. В одном из вариантов осуществления композиция имеет по меньшей мере приблизительно 10^4 вирусных частиц, например, по меньшей мере приблизительно 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , или по меньшей мере приблизительно 10^{10} вирусных частиц.

В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем документе, могут включать фармацевтически приемлемый носитель и/или эксципиент, например, адъювант, например, адъювант на основе эмульсии типа масло-в-воде.

В некоторых вариантах осуществления композиция может включать смесь инактивированных и аттенуированных пестивирусов, описанных в настоящем изобретении. В настоящем описании также раскрыты композиции, которые включают смесь инактивированных пестивирусов, аттенуированных пестивирусов и векторов, описанных в настоящем документе.

В еще одном аспекте в настоящем описании представлены композиции, которые включают вектор, например вектор экспрессии бакуловируса или вектор аденовируса собаки, который содержит по меньшей мере одну последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере приблизительно на 95% (например, по меньшей мере приблизительно на 96%, 97%, 98% или 99%) идентична SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 или 21, например, по меньшей мере одну последовательность нуклеиновой кислоты, которая на 100% идентична SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 или 21. В другом аспекте в настоящем описании раскрыты композиции, которые включают вектор, содержащий по меньшей мере одну последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 95% (например, по меньшей мере приблизительно на 96%, 97%, 98% или 99%) идентична SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 или 22, например, по меньшей мере одну последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность, которая на 100% идентична SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 или 22. В некоторых вариантах осуществления композиции могут включать смесь векторов, описанных выше.

Также описаны способы защиты поросят от заболевания, связанного с пестивирусом, например, от врожденного тремора. Способы могут включать введение беременной свиноматке или молодой свинье, либо свиноматке или молодой свинье перед случкой, либо новорожденному поросенку любой из описанных в настоящем документе композиций в количестве, достаточном для защиты поросят.

В некоторых вариантах осуществления способы включают введение композиции свиноматке или молодой свинье внутримышечно, подкожно, внутривенно, перорально, внутриартериально, интраназально (например, ингаляцией или без нее), внутрисердечно, интраспинально, интраторакально, внутрибрюшинно, внутрижелудочно, сублингвально, чрезкожно и/или путем ингаляции. В одном их вариантов осуществления введение представляет собой первое введение, а способы предусматривают второе введение через одну-три недели после первого введения.

В некоторых аспектах настоящее изобретение касается описанных в настоящем документе композиций, например, композиций, которые включают инактивированный пестивирус, аттенуированный пестивирус и/или векторы, для применения в качестве лекарственного средства или для применения при получении лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем документе, предназначены для защиты поросят от заболевания, связанного с пестивирусом, например, от врожденного тремора.

Настоящее изобретение относится к инактивированным или модифицированным живым пестивирусным вакцинам по настоящему изобретению, которые филогенетически ближе всего к пестивирусу китайских летучих мышей. На фиг.1 и фиг.2 представлено филогенетическое дерево пестивируса по настоящему изобретению. Филогенетическое дерево по алгоритму ближайших соседей основано на 212 аминокислотах NS3, которые перекрываются между частичными и полными геномными последовательностями у пестивирусов. Уровень генетической изменчивости соответствует новому виду пестивируса. Пестивирусы на уровне нуклеотидов консервативны в пределах 83-98 процентов у идентифицированных изолятов, как показано на фиг.3.

Пестивирусы по настоящему изобретению могут использоваться для получения таких вакцин. В частности, изобретение относится к улучшенным изолятам пествируса, которые определены ниже, или к любому потомку или потомству одного из вышеуказанных изолятов.

Пестивирусы по настоящему изобретению могут быть описаны следующим образом: вирус может быть аттенуирован путем пассирования по меньшей мере четыре раза в клеточной культуре, так что, когда модифицированный вирус вводят свинье или другому млекопитающему, подверженному СТ, он не вызывает клинических симптомов СТ, а способен индуцировать иммунный ответ, который иммунизирует млекопитающее против патогенных форм пествируса.

Изоляты пествируса по настоящему изобретению можно пассировать более 10, предпочтительно по меньшей мере 20, еще более предпочтительно по меньшей мере 30, еще более предпочтительно по меньшей мере 40, еще более предпочтительно по меньшей мере 50, еще более предпочтительно по меньшей мере 55, еще более предпочтительно по меньшей мере 60, еще более предпочтительно по меньшей мере 70, еще более предпочтительно по меньшей мере 80, еще более предпочтительно по меньшей мере 90, еще более предпочтительно по меньшей мере 95 и наиболее предпочтительно по меньшей мере 100 раз в культуре клеток *in vitro*.

Предполагается, что вакцина может содержать носитель, который подходит для внутрикожного или внутримышечного применения. В некоторых вариантах осуществления вакцина находится в лиофилизованной форме. В конкретных вариантах осуществления вакцина содержит по меньшей мере приблизительно 10^4 вирусных частиц. Настоящее изобретение относится к иммуногенным композициям, вакцинам и связанным с ними способам, которые устраняют пробелы в данной области. Настоящее изобретение относится к иммуногенным композициям, которые включают инактивированный или модифицированный живой аттенуированный пестивирус. Дополнительные иммуногенные композиции включают вакцину, состоящую из субгеномного антигена, либо экспрессированного рекомбинантно, либо доставленного как часть векторной платформы. В частности, в заявке предложена вакцина

для защиты свиней и особенно поросят от болезней, связанных с изолятами пестивируса по настоящему изобретению.

В другом аспекте изобретение относится к пестивирусу, содержащему нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 95%, например, по меньшей мере на 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 или 21.

В другом аспекте изобретение относится к пестивирусу, содержащему аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 95%, например, по меньшей мере на 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 или 22.

Другой аспект изобретения относится к способу получения инактивированной или живой аттенуированной вакцины для борьбы с врожденным тремором, включающему смешивание инактивированного или живого аттенуированного пестивируса, описанного в настоящем документе, с фармацевтически приемлемым носителем.

Иммуногенные композиции и вакцины по изобретению содержат инактивированные или модифицированные живые пестивирусы и могут также включать адъювант. Вакцина может также включать другие компоненты, такие как консервант(ы), стабилизатор(ы) и антигены против других патогенов свиней.

Специалистам в данной области будет понятно, что используемые в настоящем документе композиции могут включать известные инъекционные физиологически приемлемые стерильные растворы. Для получения готового к употреблению раствора для парентеральной инъекции или инфузии доступны водные изотонические растворы, например, солевые или плазменные белковые растворы. Кроме того, иммуногенные и вакцинные композиции по настоящему изобретению могут включать фармацевтически- или ветеринарно-приемлемые носители, разбавители, изотонические средства, стабилизаторы или адъюванты.

Способы по изобретению могут также включать смешивание композиции по изобретению с ветеринарно-приемлемым носителем, адъювантом или их комбинацией. Специалистам в данной области

будет понятно, что выбор носителя, адъюванта или комбинации будет определяться, кроме прочего, путем введения, личными предпочтениями и видом животных.

В другом аспекте изобретения относится к вакцине для защиты свиней против инфекции пестивирусом, включающей инактивированный или живой аттенуированный пестивирус по настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

Такая вакцина может предпочтительно дополнительно содержать один или несколько непестивирусов или пестивирусов, которые отличаются от пестивируса по настоящему изобретению, аттенуированных или инактивированных патогенов или их антигенного материала. Например, непестивирусные патогены могут быть выбраны из вируса псевдобешенства, вируса свиного гриппа, парвовируса свиней, вируса трансмиссивного гастроэнтерита, *Escherichia coli*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Bordetella bronchiseptica*, *Salmonella choleraesuis*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, цирковируса свиней, включая, но этим не ограничиваясь, цирковирус свиньей типа 2 (PCV2), вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PRRS) и *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Также описаны способы лечения или профилактики инфекций, вызванных пестивирусом. Способ включает введение эффективного количества иммуногенной композиции по настоящему изобретению животному, в частности, беременной свиноматке или молодой свинье, при этом указанное лечение или профилактика, таким образом, обеспечивается поросятам. Лечение или профилактика выбраны из группы, состоящей из уменьшения симптомов инфекции СТ, уменьшения тяжести или частоты клинических симптомов инфекции СТ, уменьшения смертности животных от инфекции СТ и их комбинаций.

При этом подходящими особями и особями, нуждающимися во введении композиции по изобретению, могут быть животные, нуждающиеся в профилактике или лечении вирусной, микробной, паразитарной, бактериальной или грибковой инфекции, заболевания или состояния, или инфекции, заболевания или состояния,

вызванных простейшими. Животные, у которых иммунный ответ индуцирован за счет применения композиций или способов по изобретению, включают домашний скот, такой как свиньи, быки, козы и овцы. Предпочтительные животные включают свиней, быков, представителей семейства мышинных, лошадиных и зайцеобразных. Наиболее предпочтительно иммунный ответ индуцирован у свиней и особенно у свиноматок, молодых свиней и поросят.

Изобретение относится к способу снижения частоты или тяжести одного или нескольких клинических симптомов, связанных или вызванных пестивирусной инфекцией, включающему стадию введения иммуногенной композиции по изобретению, как указано в настоящем документе, так что частота или тяжесть клинического симптома пестивирусной инфекции снижается, по меньшей мере на 10%, предпочтительно по меньшей мере на 20%, даже более предпочтительно по меньшей мере на 30%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 50%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 70%, наиболее предпочтительно по меньшей мере на 100% по сравнению с особями, которые не получали иммуногенную композицию, как указано в настоящем изобретении. Такие клинические симптомы включают трясение и дрожание всего тела в различной степени. Поросята, как правило, рождаются дрожащими, трясущимися и качающимися, и активная стимуляция часто усиливает дрожание. Дрожание имеет тенденцию прекращаться, когда поросята засыпают. Кроме того, могут наблюдаться мышечный тремор при хождении поросят, нервные симптомы, отсутствие координации, поза сидячей собаки и повышенная смертность. В некоторых случаях трясение может отсутствовать 24-48 часов. Такое воздействие на поросенка включает влияние на сосание, когда в тяжелых случаях требуется физическое удерживание поросенка на соске. В зависимости от тяжести вспышки заболевания уровень смертности может составлять 15-20% и вплоть до 30-40% при более тяжелых вспышках. Другие критерии клинической тяжести включают снижение среднего дневного прироста веса и неврологическое повреждение.

Предпочтительные пути введения включают интраназальный, пероральный, внутрикожный и внутримышечный. Предпочтительным

является внутримышечное или интравагинальное введение, наиболее предпочтительно, единичной дозой. Специалисту в данной области будет понятно, что композиции по изобретению также можно вводить многократными (например, двукратными или более) дозами, а также другими или несколькими путями введения. Например, такие другие пути включают подкожное, внутрикожное, внутривенное, внутрисосудистое, внутриартериальное, внутрибрюшинное, интратекальное, внутритрахеальное, внутрикожное, внутрисердечное, внутрь легочной доли, внутримедуллярное или внутрилегочное введение. В зависимости от желаемой продолжительности и эффективности лечения композиции по изобретению можно вводить один или несколько раз, а также периодически, например, ежедневно в течение нескольких дней, недель или месяцев, и в разных дозах.

Также изобретение относится к способу получения живых аттенуированных пестивирусов в клетках, исключая клетки млекопитающих.

Новые вакцины по настоящему изобретению не ограничены каким-либо конкретным типом или способом получения. Эти вакцины получают стандартными способами, известными в данной области. Наиболее предпочтительной доставкой пестивирусной вакцины является прививка молодых свиней или беременных свиноматок против вирулентного пестивируса с передачей материнского иммунитета поросятам.

Другие объекты, особенности и преимущества настоящего изобретения будут очевидны из следующего подробного описания. Следует, однако, понимать, что подробное описание и конкретные примеры с указанием предпочтительных вариантов осуществления изобретения приведены только для иллюстрации, поскольку различные изменения и модификации в рамках сущности и объема изобретения будут очевидны для специалистов в данной области из подробного описания.

ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Приведенные ниже фигуры являются частью настоящего описания и включены для дополнительной иллюстрации некоторых аспектов данного изобретения. Изобретение может быть лучше понято

посредством ссылки на одну или несколько этих фигур в сочетании с подробным описанием конкретных вариантов осуществления, представленных в настоящем документе.

На фигурах 1 и 2 проиллюстрированы филогенетические деревья, идентифицирующие новые пестивирусы по изобретению.

На фигуре 3 представлено сравнение аминокислотной идентичности (процент идентичности) последовательностей пестивирусов по изобретению.

На фигуре 4 показан цикл виремии у поросят, исследованный в примере 1.

На фигурах 5А и 5В показана филогенетическая связь пестивирусов. Филогенетическое дерево по алгоритму ближайших соседей получено по 1000 выборке, сформированной по методу бутстрепа (MEGA 6.0) для аминокислот пестивируса NS3 (5А) и Npro (5В), выровненных с помощью множественного выравнивания ClustalW. Номера доступа в GenBank для каждого образца указаны в названии. Круги указывают последовательности, описанные в этом исследовании, а треугольник указывает последовательность вируса, описанного в этом исследовании, используемого для инокуляции.

На фиг. 6 показана гистограмма, демонстрирующая процент положительных и средних значений ОТ-кПЦР Cq по типу образца. РНК пестивируса, обнаруженная с помощью ОТ-кПЦР, нацеленной на ген NS3. Вирусная РНК не была обнаружена у PBS-инокулированных поросят.

На фиг. 7 представлен график, который показывает, что инактивированный пестивирус индуцирует специфический серологический ответ на пестивирус у привитых поросят.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Изобретение относится к инактивированному пестивирусу, аттенуированному пестивирусу и субъединичным вакцинам или иммуногенным композициям, которые можно вводить свиноматкам или молодым свиньям для уменьшения клинических проявлений врожденного тремора у их поросят. Кроме того, описаны способы введения, способы получения вакцины, анализы и другие аспекты настоящего изобретения.

Предпочтительно, пестивирус по изобретению представляет

собой инактивированный пестивирус и/или модифицированный живой пестивирус и/или аттенуированный пестивирус с последовательностью нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере приблизительно на 95% идентична SEQ ID NO:1, например, по меньшей мере приблизительно на 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO:1 или имеет аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO:2, например, по меньшей мере приблизительно на 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO:2.

CATAATGCTTTAATTGGCCGCATTATGTGTGGGACATCCTAAATATTTATGAGCCCTGC
GGTGAGTGGGGGAAAGAGGTTAACCAGGCCTCTAGTACCACAGGCACCAATGGACAGGGCAACT
CAAACCTGAGAGAGAGGTACCGAACTCTTAAGCCCCGAGTACGGGGCAGACGTCACCGAGTAGT
ACACCCAAAGACCACCCTTCTAGGTGTAGGGTCTACTGAGGCTCGGGTGGACGTGGGCGCGCC
CAAAGAGAAATCGGTGGTGGACCTGGGGGTCTGGGGCCACCATGCCCTTTACGGGGTAGACCTT
ACTGCTTGATAGAGTGCCGGCGGATGCCTCAGGTAAGAGTATAAAATCCGTTGTTTATTAACAT
GGAAAAACAGATTGCATATTACTTAAAAAAGAAAAACAAAGAAATGGGTGGACCGGAACTGGTG
GTAGGAGAAAGTCATACAAAAATAACCACGCTTTCTGAAAGACCTATCGAGGCACCTGGGAAA
TGGAGAAACGGCCAAATCCTTATGGAACCTATCTCCCCAGACCTAGTCCCCAACAGCTTACAGC
CCTACACCCCCACCCAGTGGTGAATTGTAAGGTGGTTGAGTACAAGGAGATGGACCCTAATTAT
GGTGATTGCCCAAATACGAACGGGGTGTGTTGTGACGAAAAGGGTAGAAGGCTGAGCAGCCCTC
CATTAGGCATTTGGAAGATAAGATTGGACTATAGTGACTTGGTAAACATAAGCAGACCAACCCC
CGCTAGTGGGAAAACTCTTACCAAGTTGAGACCTGCAGTGGGGAGCTGGCTACAGTGACACTG
GTACACAATAGGGTGTCTCGTGGAAGATTGCAGGGGGCTATACCAATGGAAACCCAACTGTGAAG
GAATTGTGCTCTATGTGAAAACTTGTCTGACTGGGCAGATCAGGTAGAAAAACAGGAGAAAGA
AAGCCCCCAAACACAGCGGCCACCAAGGCGAGACCCACGAAAAGGGTTACAACCACAAGTC
CCCAAAGAGACTGAGGTCACAGAAAAGAAGAGACAACCTAGTGTACCTTAGTATCGGGGGGGC
AGAAGGCCCAAGTCATCTACAAAGGCAGGACCAAAAACAAAAGACCCCGGATGGAGTCTATAG
ATACCCAGGAGCTAAAGAAGGGGACGTAGTAAAGGTCAGGAAGATGCTGAAGAATTGGCATATA
GCCTTAGTGATGTACCTGATACATATCATAACTCCAGGCCTTGCCAAGGTCCAGTGGTTCTTAA
AAGATGAAAACCTCGACGGGGATCAACCAGATACTGTGGCAAAGACAGATCAACAGATCCTTACA
TGGAGAATGGCCTAACAGATCTGCCACGGTATGCCCAATGAAACTATCACGGATGAGGAATTA
CGCAGTCTGGGAATGGTAGATACAAGCCSTAGAACAACTACACCTGTTGCCAGTTGCAATATC
ATGAGTGGAAAGAAACATGGTTGGTGCAACTATCCACAAAACAGGCGTGGATCACGAGGATAAC
GGCCSTACAAGCTAACCTTACCGGGCCTTATGAGGGACCTGAGTGCGCCGTCATCTGCCGATTT
AACGGCAGCTACAACATCGTAAAACAGGCCAGAGATGAGGTGAGTCCACTGACAGGGTGAAGG
AAGGGCATCCTTTTCTATTCTCTGGTGAAAGATCCGACACCTCATGCCTAAGGCCCCCTTCCAC

TAGTTGGGTAAGACCAGTAAAAATGGACGAGGCATCAATGGCCGATGGCTTTGCCCATGGGGTT
GATAAGGCGATAATACTAATCAGGAAGGGGGGCATCAGGAATAATCAATTTCTAGACACTATTG
GGAGGTGGCTACCGGTAGCTGAAGCAACTATAGTACCATATTGTGATACTTACTGTGACAGG
GATGTATGTCCATGTAAAGAATTGCCTCCCTAGAGGGTTACCTAAGCATTCAAAAATAATCTCC
CCGACAATGATATATCTGGGAGAAGGAGACCCGGCCATAATATCCAGCACTTATTTGGCTCAG
GTATAGCAAAGTGGGTCCTAGTTCTACTCGGGATTCTGGGTGAGTGGTATGGAGAATTGGCTTC
CACAATATACTTACTACTAGAATACGGGTCTGAGTGGTTGGAACATGAAAGCCTGGTCACGGAA
GGGTTGATTCCTGGCATTAAATATTACAATAGAACTCCCAGCTAGTCATACAGTGCCTGGTTGGG
TGTGGGTCGCAGGCCAGTGGGTATGCGTGAAGCCAGACTGGTGGCCTACACAGATTTGGATTGA
AACCGTGGTGGCAGAGACCTGGCATATACTAAAAATATTGGCGTCAGCCCTGGTGAACATAGTT
GCAGCGTTCGTAAACCTGGAATTGGTTTATCTGGTCATAATACTAGTCAAAATATCAAAAGGGA
ACCTGATAGGTGCCATATTATGGTGCTTGTACTGTCAGGCGCTGAAGGCTCGTGCTACAAAAG
ACAAGACTATTACAACACCCAACCTAGTCGTGAAGAAAAAACAGGCGTAGAAAAACGATCTATA
ATGGGCAAGTGGACCGTGATAACCAGGGAAGGTCGGGAGCCAAGATTAATGGAGCAAATAAATA
TGGTATTGAATGATAGCCTGTCAGAAACCTACTGCTATAATAGGCTAAACACCAGCACTTGGGG
GCGGCAACCGGCAAGACAAAGAGGGTGTGGTCAAACCGTGCCCTATTGGCCTGGTGACAATGTT
CTAGAAGAACAATACTACAGCACAGGTTACTGGGTGAATGTAACAGGCGGTTGCCAGCTGAGAG
AAGGCGTATGGCTATCAAGAAAGGGTAACGTACAGTGTGAGCGTAACGGCTCATCCTTGATGCT
GCAATTGGCGATAAAAGAAGAGAATGACACTATGGAAATACCATGTGACCCAGTGGAAACTGAA
AGTATGGGTCCAGTTGCACAGGGCACTTGTGTGTACAGCTGGGCATTCGCCCAAGAGGGTGGT
ACTATAACAGGAAGGATGGTTATTGGCTCCAGTACATAAAGAAAAACGACTACCAGTATTGGAC
AAAAATGCCTACTGCCTCGTCCGCCGAACCATGTACCGCCACTTGCTCCCCTTACTGGTGGCC
TGCCCTCATGGGCGGTAGGATATCGGTGTGGTTTGTGGCAATGCTCCTGTCTCTACAGGTGGAAG
CTAGTGAAGTAGGCACTAAACAACCTGGCTGTCACGCTAACCCCTGTGGAAAATGGACTGGACAGA
ACTACTTTTCTATATTGTCTTGATGCTAGCCGTTAAGGAAGAACTTATAAAAAAATTGTGACC
GCTAGCCTTGTGGCCTTAAAAAATAGTCCAGTAGCCTTGAGTTTTCTTATTGTACTIONTGG
TGGGGGGCAGTGAAGCACTCCCAGTAGGTTTATTATTAGAAAAAATGTGCATAGACCAACCGGA
GTTTGGAACTCCTTTCTGATCTACCTATGGGACAACCTGGAAGTGGACTGTGTTAGTCAGCTTC
TCCGCACTGAACCATGAAAAAATAATAAACTGGCAAGAAAACTGTTGTTGGCAACACATATAA
CAGCGCTCACATTGACTGGCTTGAGTGATTCAATCTTCTATATGATGCTTATAACAACAAATTT
GTTAATAAAGACATTCATATACTTGCTGGGGGCTAGTATGAATTGGGTGAGAGAGAAAAAAG
AAATTGCTAGTGAAGAGGAGACTAATATAAAGAAAGCCGTTACTTGCAGTCAGGATGAGAATG
TATTGGAGAATAAATTCACAAGATAACTGTAAACGCGGATTTCACCCCATGCAAGCTTGAAC
TCTACAATTACTTAGGGCTTTTTTAGTCTCTTTGTGTTTTTCTACTACAAACCTCTCCTGTAT
GCAGAGACTACCTTAACTGTAATAGTAATTGGCGTACAAGAGTACAACGTAGCCATGGCCCGCG
GGCGAAGTGTGGTCCACAGGCTACTAGCCATGGCCTATTACATATACGGCCGCATACAGGGTGA

CATGTTCCAGCTCGCCACTATCCAGTGCCTGCTGTGCGAGTCCGAGGAAAATTATGAAACACATG
GTAGAGAATCCAACCTCTCAAGAAGCTCTGGCAAGGCGAAACAGAACTCTTCAACCAGGGTGTTA
GTCAATCCAAGATAGTGAATCCAAAGAAAATTGGGCTGGAAGAATTACACAAGGGCATGTGTGG
CCTCCCAACAGTAGTGCAAAATTTGGTCATATATGCAAAGAAGAATGACTCTCTTATTTTAGGA
GAGCTGGGTTACCCCCCTGGGGATCTCACCAGTGATGGGTGGGAAATTTTAGGTCTGGCAGAA
TCCCAAAGATCACTAACGTCGAGTCTGCTAAGATGGACTTACTCTCCAAACTTATGACCTTTCT
GGGGATTGAAAGCTCGAGGGTCCCCAGGACCCAGTCCACTCAACAAGGAAATTATGGAAGATA
GTAAGGGGCTTGAAACAGGATGGGGGTACACTCACGCAGGGGGGATAAGTAGCGCAAAACACG
TTACAGGTGAAAAGAACTTAATGACCCACATGGAGGGTAGGAAGGGAAAATATATCCTACAATC
TCAAGAACATGGTGCTGACGAGGTAGAGTACGGAGTAAAACTGATCAAAAAGCTCCCGACAAT
GCCTTATGCTACTGTTTTAACCCCTGAAGCTACAAACATAAAAGGAGAGACGGGAGCCATGGTGT
TCATGAAGAAGATAGGAAAAAGTGGACTCTCGTAACATCAGACGGCAATAAAGCCTATTATAA
TGTAACAATTTGAAAGGGTGGTCTGGACTACCAATAATGCTGCACTCCACCGGGGCCATAGTG
GGGAGGATTAATCAGCGTATTCAGATGAAAACGACCTGGTGGAGGAACTTATTGACTCTAGAA
CTATTAGTAAGAGCAATGAGACAAACCTGGACCACCTTATCAAGGAATTGGCAGACATGCGGAG
GGGGGAGTCCGCTCAATTACCCTTGGAACGGGAGCCGGGAAAACCACAGAACTGCCTAGGCAA
TACCTCACACAGTAGGTGCCCATAAATCCGTGCTGGTCTTAGTCCCCTTAAAAGCACCTGCTG
AAAGTGTTTGCCGCTTTATGAGGTCTAAATACCCTACCATCAACTTTTCCTTAAGAGTGGGGGA
ACGGAAAGAGGGAGATGTGAGCAGCGGCATCACCTACGCTACTTACGGATTTTGCTGCCAGCTA
AACCTAGTCCAACCTAAAGAATGGATATCCAGGTACTCAATGGTTTTTTTTGATGAATATCACA
CAGCAACTCCAGAACAAATAGCCATAATAAGCAAGATTCATGCACTGAAAGTTAAGACCAGGAT
AGTGGCTATGTCAGCAACCCCCCGGGTACCGTGACGACTGAAGGCAGGAAGTTTGACATTGAA
GAGGTAGGGGTTGCTACCATAGAGAAAGGAGAGGAACCAAAAAGGGGGCGCATAGCGGTGCTG
GTATGCAGGTCCCATTAGAAGACTTAACAGGAAAGAACTGCCTGGTGTTCGTGGCAACCAAAGA
AGCCGCGGAGACGGAGGCTAAAGAACTGCGCACCAGAGGAATTAACGCCACCTACTACTATTCA
GGTATAGACCCTAAGACTCTGGAACATGGGATGACCAATCAGCCATACTGTATTGTAGCTACCA
ATGCCATTGAATCAGGTATAACCTGTCCTGACTTGGATGTGGTCATAGACCCATGCAGAAGTA
CGAAAAAGTAGTGAATTTCTCGGCAAAGATGCCCTTGATTGTCACTTCATTAGTAAAGAAAAA
ATCACCAGGGAAGAACAGGGCCAGAGGAAAGTTCGAGTGGGCAGGCAAAAGAAAGGAAAATACT
ACTACCCCTCGGGGGTGGTACCGAATGGGTCAAAGACCTAAGCTATTTAATCCTACAGGCCCA
AGAATATGGTGTCTTGGAACAAGTCAATATAACAGAGTACTTCATCATAATGAATGAGGACTGG
GGTCTCTATGACGTAGATGAAGTAGAAGTGAGAATACTTGAGAGAATGAACAAGGAAATCTTGC
TACCACTAGGTATTGTGGAGAAGCAAATCTTGAAAGAAGTACTCACCCGAAAAAGTGGCACT
GTTGTATAACAAATTAGTGCAGAAAAATCCTATAGTATAACCCTAGAGTACAGGAAGGTGAGGTC
AGCAAGGAATACAATACCTATAATCTGGCCGTATATGACAAGCTAAAAGATGTCAACCCACAAG
CCATTTATGTTCTAGCAGAAGAGGAGAGGCCACAGAAATGATGGGTCTCGAGTTTGAACAAGA

CCCATCTGACTTACAGGATTCGGTAGTTCAGCTTTGTGAAGATATCAAGAGGTATACAAAACCTC
TCTGGGATCACTGAGAACTGCTAGTAGGTACGATGGTGGGGTATATTGGATACAAAGCCTTAA
CCAGAAACCACGTGCCCTGGGTCAGCAAAGAGTATTGTTATGAGCTGACCGATTACCCGGATAC
TTACGAAAACCTCATTTCGCACCTTTGGACGTGACGTCCAAAACCTCCGGTGAAGGAAAACACCCA
GAGCAACTGGCAGACCATCAATTGAGGCAACTACTGGAGACTGGGAGAGACAAGGCAATTGATT
TCCTAAAAGGAATCCGCGAGTTCCTAGTGGGGCCATAAACAGTCCAAAGGCACTAAGTATATG
GGAGAAAATATATCAGTATTTGAAGAAGCATCAGGGCGAGATCATCTCATCAGCAGCGTGGGGC
AGTGCGACGGCCCTTCACGACAGTATTAATCTAGACTAGGAGATGAGGTGCTACTGCAGTAA
TAATCCTCAAGTATTTAGCATTGGTGAAAGAGAAGTGTCTGGGCTAACTAGGCAAGTTCTAAT
TGACATCATAGTATATTATATAGTTAACAAAGCCCCGGTTTCGAAGGAGACGACTACGCAAAGAGA
AAAGGAAGAAGGCTAGTCATCGAAGTCCTGATGGGGGCACTGGCGACTTATGCGGTGTCCAATT
TTTGGGGTGTGTCCATTAATAAGATACTGCAACCAATTTCTGATTATCTACCCTATGCCACCGC
CACTTTGGCTTTTCTTCGCCAACCTTCATGGAATCAGCAGTGGTGGTTCGCTTCTCTATCTAT
AGAGCTTTTCTCTCCATTAAGCATGCGGAAAACAGGAGTCTTGTCACGCAGGTGCTTCTGCCG
CCCTCGAAGTCATGGGCCTGACCCAGTATCGGCTGGCCTAGGCGTCTTGCTGGGGCTTGGGTT
GTGTGTGCTCCATATGAACATTGACAAGAATGAGGAGAAAAGGACACTTATACTGAAAATGTTT
GTCAAAAACCTTTATAGACCAGGCGGCACTAGACGAGTTGGATAAACTGGAGCCAGAAAAAATAA
TCCTCTCATTGTTGGAGGGTATCCAAACCTGCACAAACCCGATTAGAGCAATCATGATTTTGTA
CAGGGTGTACTACAAGGGAGAACTTTCACAGAAGCTTTGTCTAAGATGGCCGGCAAGTCTCTC
ATTGTGATGGTCATAGTCGAGTTCCTGGAATTGACAGGCCAAACCCAAGGAGGGTATATAGATC
TTAGTGCTAATTTGCTGACCTTTCTCCTCGAGAACTAAAAAAATGACTAACCTCGCCATCGG
GGAAGCTAGAAAGGTCTTGCTCCCCATCCATACTTGTAAGTGTGAAACCTGGCAGTCTGACGCC
AGAATCAAGGCCCTGAATCCTACGACCAAGTGGTAGTGGAAATGCAAATGTGGCGCTTCAGCGA
GGTATTCCTTCCGCGATGGAGTTCATGAGATATTGGAAGAAAAAAGGACTAATTGGTGCAAGAA
CTTCTTCTTATGGGGACCCAACCTCCACAATCCGGATCCAAAAGGATGACATTCTATGAATAC
GGCCAAGCAAAAAAGTGTCTGTTATCATAATTGGTGAAGACATAACCTTCGGCAAATATGGCA
TATATATCAAATTTGGCCATAGGCTGATGGAGGGAGGTTAATAAGGGGTACCACCCACGCTAC
TATCAGTAGGGAGGAATTGCTGGAAATCCTAACAGCCCCAAGCCAAGTGGCCATAGGCAAGGTC
AAGCTAACCGATTACTGTAATCAAAAAGGAATAATAGACAGGAAATTTGGCCGTACTTGAAGGTG
ACAAAATACATTTTTGGAAAGCACACCGTGGATCCAAAATCACAGACCAACTCACTATTGAGAA
TCTGACAGATGATTTGGGGTCAGAAATCAGGGACATCACATGGGAGCTGTACACAGGTGGAACG
TGCACCGTAAAAGGGTGTCCCTTAGATCATGCGCACCAGGTCATAGAATAAGGCTATGGTCT
TGTGTGATTGCACTGATGTGCTTAGCCCTGTTACCTAATAAACGGCAGGAGACCATCCCCATT
TGACGTGCGGGAAGGTTATGAATGTCACCACCGGAAGCCCCGAGCGACGTATGAAGACCTAGAA
ATGGAGGAAATACTAAAGAGACGAGTCCCTGTCTACGATCCTCTGTGTTTTGTTTGACACTGATA
GTAAACTGCTACCTCCCGACACCTACTACTTGGGAAGAAGATCAAGAGGACTTTGAGTACGCATT

GAGATGCTGGGGCCTCGGGGTTTATGTAGCAGACGGGCCTGTCACTTCCCCCGGACATAAGA
ATACACCATAGTTCGGTATTACTACTGCTGACACCTGGAGTAACTCAGAGTTGCCTTACAGT
ACATACGTTGTTACCCTCATCAGGCAGAGGTGGACATCTACATTAGGAGTCAGCTTTTGGAGGA
GGAAGACACTGCTACGGAGGTGGAAGGCTCCCAGGAAGATGGTGATGAAGGGATGGGCGATGCG
GTAATAGAGGATGAGGATACATCGTCCACAACAGAATCAATACCCCCACTAGAAGAGGAGGAAG
GGGGCGAAGAGCCAATCACCTATGTGGTCATAAGGGGATTACAAGAAGAAAGATACGCCAGCCA
TCTTAAACTAAATGACTGGATCAGTGAAAACATTTTCAGAGCCACACAGAGTCCAAATTATGCTA
GATGGGACAGTGAGAGTCACAATAAAAGAGGGCAAAGTGAAACATTTGTTTGGGGTCTATAGAA
TAGAAAACCTCCCTGGAAGCAATGTTTAAAGAGACCATAGCTGACCTCCCCGTAGCTACCCAACC
GCCCCAGGGGCCAGTCTATACGGCTAAAGAGCTGGCCCAAGGGAACATCGCCCCGGTCCAACCT
GCAGCGAATTATTACGGAATGATAGAGGGGAGAGGGCACC CAATGACGGCATTTCGAAGCCTTAT
CAGTCTTGCGGTCACAAAAAGTCTTAGCCAAGGACGTGAAGGTGAACACCCGCAGGGCGCAGGT
TTTTTTAAATAAAGTCAGGAGAATTGCTGAGGTCAGAGCGTCGGAAC TGACATTA AAATGCTTA
CCGATACTTGGCAAAGTAAATGGGAGGAAATTGATTAGAGAGGAAACCAACATCCCCAACCAA
GGTTGGCATCAATAATGACCTCAATAGGAATTAGACTAGAAAAACTGCCAGTGGTTAGAGCAAA
CACTTCCGGCTCTAAGTTCAGACAGTCAATCTTAGAAAAAATGGATAAGTATGAAAATGAACAA
GTCCCAGGGTTACATGAAAAGATGTGGGCAGCGTTCCTGGCAACTGCCAGGCAAGATTTAAGAA
ATACCTATGAGGAAGTAACTTATCTTGAATTAGAGGCCGGAATCAATCGGAAAGGAGCCCCAGG
TTTCTTTGAAAAGAAAGCTCAATAGGAGAAGTGCTGGAAAAAAGAAAAAATTGACGTCACA
ATCCAAGAGATTGAAAAGGCAACCACTTATACTATGAAACAGCCATGCCAAAAAATGAGAAAA
GAGATGTGCTTGATGATTGGTTGTCAGAGGATTTTCGTCACTTATAAGAAACCACGTGTGATACA
GTACCCTGAGGCAGTCACCCGGTTGGCCATCACCAAATAATGTATAAGTGGGTGAAGCAAAAG
CCTATAGTGATTCCCGGTTATGAGGGAAAAACCCCGATCTTTGAAATATTTGAAAAAGTCAGTG
CAGATTGGGCTCAGTTCAAAAATCCGGTAGCCGT CAGCTTCGACACCAGAGCCTGGGACACTCA
AGTAACAAGAGAAGACCTCAGGCTGGTAGGGCGGATACAGAAATACTATTACAAAAAAAATAT
TGGAAGTTCATTGACAATTTGACAGCCATGATGGAGGAAGTGCCTGTAATCACTGTAGAAGGAG
ATATGTTCCCTCAGAGTTGGACAGCGCGGATCCGGACAGCCTGATACCTCAGCAGGCAATTCCAT
GCTAAATGTGCTGACTATGTTGGTAGCTTTCTCTGAATCCACAAATCTGCCATAGCGGCTGCC
TGGAAGGCCTGTCGGATCCACGTCTGTGGTGACGACGGTTTCTTAATCACAGAATCGGAATTAG
GGAGGAAGTTTGCTGAAAAGGTGTTCCCTCTGTTAGCTGCATTTGGCAAACCCCAAAAATTAC
AGAGGGAGCGAGCCTAAAGGTAACCAGCAACTTTGACGGAATAGAGTTTTGTAGTCATACCCCT
ATCAGAGTCCAAACACCAAACATCAGGTGGATGCCAGCGAGACCAACAGCAACAATCCTAGGCA
AAATGAGTACCAGGCTGGGTGAGGGTGCCACCAGGTGCGGAGAAGAATACGAAAAACAGGTGGC
ATTCGCATATCTACTGATGTACCCCTGGAACCCGCTGGTCAGGAGAATCAGCCTCCTATTGTTA
TCGACTACTGACCCAATGGGGAAAGAGGAAACCCCATGCTCCGATGAGGGGGTGAAGTATGTTG
GGGACCCTATCGCTGCATACAGGGATGTATGGGGGCACAAATTAGAGGATGTAGGCCATGTTGA

TCAACCGCAGTTATCCCGGATGAACTATAGCATGACTTACTTAGGGATTTGGAAACCAAAGACA
 AGTCAGCGGCTAGTCGAACAGTGTGTGCTCTGGCCGAGAAAAGCAATTGTGTGGTACGTGCTG
 ACTCCCTGATAAAGAAAAAGGTCAAGATCACTTATGACCCGGGGATAGGAGTGGCTCAGGTCAT
 TCGTAGGTGGGAAGAGCTTGAGTGGACCAGAAGGAAACCTGAACTACCAATGTAATTGTAGAA
 GATGATATCTTCTAGTCCTGTGGAAGAGATTTTCAAAGTACATTTTTCAGAAAATGAAGTTCA
 TGCAGAGAATGTTGCCCCCTTATTAAGTGGGGGGCACTCATTTAAATTATAACCAGTATCTGGT
 AAGTATAAGATTTGTGTAAATAAAGTATATAACTGAAAGGGGCAAGTGGCCGTATAGGCTGGGG
 TGATCGCCGCACCCCCCCTTCACTAGGCGCCTCAACCCCATGTACCATGGGGTTGTTGTAAAT
 ACTTGAATGAATGGAGTAATACGGGTAACAACTTATAGGCCAGTATTGCCCCATTTGCTTTAT
 AGTGGTGACGACCTGTATAGGTCCGATCTGATATC (SEQ ID NO:1)

MEKQIAYYLKKEKQRNGWTELVGESHTKIITLISGKTYRGTWEMEKRPNPYGYLPRPS
 PQQLTALHPPVNVCKVVEYKEMDPNYGDCPNTNGVFVDEKGRRLSSPPLGIWKIRLDYSDLVN
 ISRPTPASGKNSYQVETCSGELATVTLVHNRVLVEDCRGLYQWKPNCGIVLYVKTCSDWADQV
 EKQEKESPPKPQRPPRRDPRKGLQPQVPKETEVTTEKKRQPSVTLVSGGQKAQVIYKGRTKNKT
 PDGVYRYPGAKEGDVVKVRKMLKNWHIALVMYLIHIITPGLAKVQWFLKDENSTGINQILWQRQ
 INRSLHGEWPNQICHGMPNETITDEELRSLGMVDTSPRTNYTCCQLQYHEWKKHGWCNYPQKQA
 WITRITALQANLTGPYEGPECAVICRFNGSYNIVKQARDEVSPLTGCKEGHPFLFSGERSDTSC
 LRPPSTSWVRPVKMDEASMDGFAGVDKAIILIRKGASGIINFLDTIGRWLPVAEATIVPYCD
 TYTVTGMVHVKNCLPRGLPKHSKIISPTMIYLGEGDPAHNIQHLEFGSGIAKWVLLVLLGILGEW
 YGELASTIYLLLEYGSEWLEHESLVTEGLIPGINITIELPASHTVPGWVWVAGQWVCVKPDWWP
 TQIWIETVVAETWHILKILASALVNIVAAFVNLELVYLVIILVKISKGNLIGAILWCLLLSGAE
 GSCYKRQDYNTQLVVEEKTGVEKRSIMGKWTVITREGREPRLMEQINMVLNDSLSETYCYNRL
 NTSTWGRQPARQRGCGQTPVPYWPGDNVLEEQYYSTGYWVNVTTGGCQLREGVWLSRKGNVQCQRN
 GSSLMLQLAIKEENDTMEIPCDPVETESMGPVAQGTVCVYSWAFAPRGWYYNRKDGWYLQYIKKN
 DYQYWTKMPTASSAATMYRHLLPLLVAACLMGGRISVWFVAMLLSLQVEASEVGTKQLAVTTLTW
 KMDWTELLFYIVLMLAVKEELIKKIVTASLVALKNSPVALSFLIVLRLVGGSEALPVGLLLEKM
 CIDQPEFGTPFLIYLWDNWKWTVLVVSFALNHEKTIKLARKLLLATHITALTTLTGLSDSIFYMM
 LITTNLLIKTFIYLLGASMNWVEREKKLLVKRRLIYKKAVTCSQDENVLENKFNKITVNADFT
 PCKLELLQLLRAFLVSLCFSYYKPLLYAETTLTVIVIGVQEYNVAMARGRSVVRHLLAMAYYIY
 GRIQGDMFQLATIQCLLSSPRKIMKHMVENPTLKKLWQGETELFNQGVSSQSKIIVNPKKIGLEEL
 HKGMCGLPTVVQNLVIYAKKNDLILGELGYPPGDLTSDGWEILGPGRIPKITNVESAKMDLLS
 KLMTFLGIESSRVPRTPVHSTRKLLKIVRGLETGWGYTHAGGISSAKHVTGEKNLMTHMEGRKG
 KYILQSQEHGADEVEYGVKTDQKAPDNALCYCFNPEATNIKGETGAMVFMKKIGKKWTLVTSKG
 NKAYYNNLKGWSGLPIMLHSTGAIVGRIKSAYSDENDLVEELIDSRTISKSNETNLDHLIKE
 LADMRRGEFRSITLGTGAGKTTELPRQYLTTVGAHKSVLVLVPLKAPAESVCRFMRSKYPTINF
 SLRVGERKEGDVSSGITYATYGFCCQLNLVQLKEWISRYSMVFFDEYHTATPEQIAIISKIHAL

KVKTRIVAMSATPPGTVTTEGRKFDIEEVGVATIEKGEEPKRGRIVAVAGMQVPLEDLTGKNCLV
 FVATKEAAETEAKELRTRGINATYYYYSGIDPKTLEHGMTNQPYCIVATNAIESGITCPDLDVVI
 DTMQKYEKVVNFSAKMPLIVTSLVKKKITREEQQRKGRVGRQKKGKYYYYPSGVVPNGSKDLSY
 LILQAQEQYGVLEQVNI TEYFI IMNEDWGLYDVDEVEVRILERMNKEILLPLGIVEKQILERSTH
 PEKVALLYNKLVQKNPIVYPRVQEGEVSKEYNTYNLAVYDKLKDVPNQAIYVLAEEERATEMMG
 LEFEQDPSDLQDSVVQLCEDIKRYTKLSGITEKLLVGTVMVGYIGYKALTRNHVPWVSKEYCYEL
 TDSPD TYENSFAPLDVDVQNSGEGKHPEQLADHQLRQLLETGRDKAIDFLKGIREFTSGAINSP
 KALSIWEKIYQYLKKHQGEI ISSAAWGSATALHDSIKSRLGDEVATAVILKYLAFGERELSGL
 TRQVLIDIIVYYIVNKPRFEGDDYAKRKGRRLVIEVLMGALATYAVSNFWGVSINKILQPI SDY
 LPYATATLAF LRPTFMESAVVVASSIYRAFLS IKHAENRSLVTQVASAALEVMGLTPVSAGLGV
 LLGLGLCVLHMNIDKNEEKRTLILKMFVKNFIDQAALDELDKLEPEKIILSLLEGIQTCTNPIR
 AIMILYRVYYKGETFTEALSKMAGKSLIVMVIVEFLELTGQTQGGYIDLSANLLTFLLEKCLKM
 TNLAIGEARKVLLPIPYLYCETWQSDARIKAPESYDQVVVECKCGASARYSFRDGVHEILEEKR
 TNWCKNFFLWGPNFHNPDPKRMTFYEYGQAKKCPV I IIGEDITFGKYGIYIKFGHRPDGGR LIR
 GTTHATISREELLEILTAPSQVAIGKVKLTDYCNQKGIIDRKLAVLEGDKIHFVKAHRGSKITD
 QLT IENLTD DLGSEIRDITWELYTGGTCTVKGVSLRSCAPGHRTKAMVLC DCTDVLSPCYLING
 RRPSPF DVAEGYECHHRKPRATYEDLEMEEILKRRVPVYDPLCLFDTDSKLLPPD TYYLEEDQE
 DFEYALRCWGLGVYVADGPVTSPPDIRIHHSSVLLLLTPGVNSELPLOYIRCYPHQAEVDIYIR
 S QLEEEEDTATEVEGSQEDGDEGMGDAVIEDEDTSSSTESIPPLEEEEGGEEPITYVVIRGLQE
 ERYASHLKLNDWISENISEPHRVQIMLDGTVRVTIKEGKVH LFGVYRIENSLEAMFKETIADL
 PVATQPPQGPVYTAKELAQGN IAPVQPAANYGMI EGRGDPMTAFEALSVLRSQKVLAKDVKN
 TRRAQVFLNKVRRIAEVRASELTLKCLPILGKVNGRKLIREETNIPNQLASIMTSIGIRLEKL
 PVVRANTSGSKFRQSILEKMDKYENEQVPGLHEKMWAAFLATARQDLRNTYEEVTYLELEAGIN
 RKGAPGFFEKESSIGEVLEKKEKIDVTIQEIEKGNHLYYETAMPKNEKRDVLD DDLWSEDFVTYK
 KPRVIQYPEAVTRLAITKIMYKWKQKPIV I PGYEGKTPIFEI FEKVSADWAQFKNPVAVS FDT
 RAWDTQVTREDLRLVGR IQKYYYKKKYWK FIDNLTAMMEEVPVITVEGDMFLRVGQRGSGQPDT
 SAGNSMLNVL TMLVAFSESTNLP IAAA WKACRIHVC GDDGFLITESELGRKFAEKGVPLLA AFG
 KPQKITEGASLKVTSNFDGIEFC SHTPIRVQTPNIRWMPARPTATILGKMSTR LGEGATRS GEE
 YEKQVAFAYLLMYPWNPLVRRISLLLLSTT DPMGKEETPCSDEGVKYVGDPIAAYRDVWGHKLE
 DVGHVDQPQLSRMNYSM TYLGIWKPKTSQRLVEQCCRLAEKSNCVVRADSLIKKKVKITYDPGI
 GVAQVIRRWEELEWTRRKPEL TNVIVEDDI FLVLWKRFSKYIFQKMKFMQRMFAPY (SEQ ID
 NO:2)

В настоящем описании также раскрыты векторы и инфекционные молекулярные клоны, кодирующие белки пестивирусов Npro, капсида, Erns, E1, E2, NS2-3, геликазы, NS4B, NS5A или РНК-зависимой РНК-полимеразы (RdRp).

Npro: ген, кодирующий белок N-концевой протеазы (Npro), состоящий из 180 аминокислот, находится в положениях с 378 по 917 последовательности SEQ ID NO:1.

ATGGAAAAACAGATTGCATATTAACCTTAAAAAAGAAAAACAAAGAAATGGGTGGACGGA
 ACTGGTGGTAGGAGAAAGTCATACAAAAATAACCACGCTTTCTGGAAAGACSTATCGAGGCACC
 TGGGAAATGGAGAAACGGCCAAATCCTTATGGAACSTATCTCCCCAGACCTAGTCCCCAACAGC
 TTACAGCCCTACACCCCCACCCAGTGGTGAATTGTAAGGTGGTTGAGTACAAGGAGATGGACCC
 TAATTATGGTGATTGCCCAAATACGAACGGGGTGTTTGTGACGAAAAGGGTAGAAGGCTGAGC
 AGCCCTCCATTAGGCATTTGGAAGATAAGATTGGACTATAGTGACTTGGTAAACATAAGCAGAC
 CAACCCCCGCTAGTGGGAAAACTCTTACCAAGTTGAGACCTGCAGTGGGGAGCTGGCTACAGT
 GACACTGGTACACAATAGGGTGCTCGTGGAAGATTGCAGGGGGCTATACCAATGGAAACCCAAC
 TGTGAAGGAATTGTGCTCTATGTGAAAACCTGT (SEQ ID NO:3)

MEKQIAYYLKKEKQRNGWTELVGESHTKITTLGKTYRGTWEMEKRPNPYGTYLPRPS
 PQQLTALHPPVNVCKVVEYKEMDPNYGDCPNTNGVVFVDEKGRRLSSPPLGIWKIRLDYSDLVN
 ISRPTPASGKNSYQVETCSGELATVTLVHNRVLVEDCRGLYQWKPNCGIVLYVKTC (SEQ
 ID NO:4)

Капсид: Ген, кодирующий капсидный белок, состоящий из 111 аминокислот, находится в положениях с 918 по 1250 последовательности SEQ ID NO:1.

TCTGACTGGGCAGATCAGGTAGAAAAACAGGAGAAAGAAAGCCCCCAAACCCACAGCG
 GCCACCAAGGCGAGACCCACGAAAAGGGTTACAACCACAAGTCCCCAAAGAGACTGAGGTCACA
 GAAAAGAAGAGACAACCTAGTGTCACCTTAGTATCGGGGGGCAGAAGGCCCAAGTCATCTACA
 AAGGCAGGACCAAAAACAAAAGACCCCGGATGGAGTCTATAGATACCCAGGAGCTAAAGAAGG
 GGACGTAGTAAAGGTCAGGAAGATGCTGAAGAATTGGCATATAGCCTTAGTGATGTACCTGATA
 CATATCATAACTCCAGGC (SEQ ID NO:5)

SDWADQVEKQEKESPPKPQRPPRRDPRKGLQPQVPKETEVTETKKRQPSVTLVSGGQKAQ
 VIYKGRGTKNKKTPDGVYRYPGAKEGDVVKVRKMLKNWHIALVMYLIHIITPG (SEQ ID
 NO:6)

Erns: Ген, кодирующий белок оболочки Erns, состоящий из 209 аминокислот, находится в положениях от 1251 до 1877 последовательности SEQ ID NO:1.

CTTGCCAAGGTCCAGTGGTTCTTAAAAGATGAAAACCTCGACGGGGATCAACCAGATACT
 GTGGCAAAGACAGATCAACAGATCCTTACATGGAGAATGGCCTAACAGATCTGCCACGGTATG
 CCCAATGAAACSTATCACGGATGAGGAATTACGCAGTCTGGGAATGGTAGATACAAGCCSTAGAA
 CAAACTACACCTGTTGCCAGTTGCAATATCATGAGTGGAAGAACATGGTTGGTGCAACTATCC
 ACAAAAACAGGCGTGGATCACGAGGATAACGGCCCTACAAGCTAACCTTACCGGGCCTTATGAG

GGACCTGAGTGCGCCGTCATCTGCCGATTTAACGGCAGCTACAACATCGTAAAACAGGCCAGAG
 ATGAGGTGAGTCCACTGACAGGGTGCAAGGAAGGGCATCCTTTTCTATTCTCTGGTGAAAGATC
 CGACACCTCATGCCTAAGGCCCCCTTCCACTAGTTGGGTAAAGACCAGTGAAAATGGACGAGGCA
 TCAATGGCCGATGGCTTTGCCCATGGGGTTGATAAGGCGATAATACTAATCAGGAAGGGGGCAT
 CAGGAATAATCAATTTCTAGACACTATTGGGAGGTGGCTACCGGTAGCTGAAGCA (SEQ ID
 NO:7)

LAKVQWFLKDENSTGINQILWQRQINRSLHGEWPNQICHGMPNETITDEELRSLGMVDT
 SPRTNYTCCQLQYHEWKKHGWCNYPQKQAWITRITALQANLTGPYEGPECAVICRFNGSYNIVK
 QARDEVSPLTGCKEGHPFLFSGERSDTSCLRPPSTSWVRPVKMDEASMADGFAHGVDKAIILIR
 KGASGIINFLDTIGRWLPVAEA (SEQ ID NO:8)

E1: Ген, кодирующий белок оболочки E1, состоящий из 200
 аминокислот, находится в положениях с 1878 по 2477
 последовательности SEQ ID NO:1.

ACTATAGTACCATATTGTGATACTTACACTGTGACAGGGATGTATGTCCATGTAAAGAA
 TTGCCTCCCTAGAGGGTTACCTAAGCATTCAAAAATAATCTCCCCGACAATGATATATCTGGGA
 GAAGGAGACCCGGCCATAATATCCAGCACTTATTTGGCTCAGGTATAGCAAAGTGGGTCCCTAG
 TTCTACTCGGGATTCTGGGTGAGTGGTATGGAGAATTGGCTTCCACAATATACTTACTACTAGA
 ATACGGGTCTGAGTGGTTGGAACATGAAAGCCTGGTCACGGAAGGGTTGATTCCTGGCATTAAT
 ATTACAATAGAACTCCCAGCTAGTCATACAGTGCCTGGTTGGGTGTGGGTGCGCAGGCCAGTGGG
 TATGCGTGAAGCCAGACTGGTGGCCTACACAGATTTGGATTGAAACCGTGGTGGCAGAGACCTG
 GCATATACTAAAAATATTGGCGTCAGCCCTGGTGAACATAGTTGCAGCGTTCGTAAACCTGGAA
 TTGGTTTATCTGGTCATAATACTAGTCAAATATCAAAGGGAACCTGATAGGTGCCATATTAT
 GGTGCTTGTTACTGTGAGCGCTGAAGGC (SEQ ID NO:9)

TIVPYCDTYTVTGMVHVKNCLPRGLPKHSKIISPTMIYLGEGDPAHNIQHFLFGSGIAK
 WVLVLLGILGEWYELASTIYLLLEYGSEWLEHESLVTEGLIPGINITIELPASHTVPGWVWVA
 GQWVCVKPDWWPTQIWIETVVAETWHILKILASALVNIVAFAFVNLELVYLVIILVKISKGNLIG
 AILWCLLLSGAEG (SEQ ID NO:10)

E2: Ген, кодирующий белок оболочки E2, состоящий из 372
 аминокислот, находится в положениях с 2478 по 3593
 последовательности SEQ ID NO:1.

TCGTGCTACAAAAGACAAGACTATTACAACACCCAACCTAGTCGTGCGAAGAAAAACAGG
 CGTAGAAAAACGATCTATAATGGGCAAGTGGACCGTGATAACCAGGGAAGGTCGGGAGCCAAGA
 TTAATGGAGCAAATAAATATGGTATTGAATGATAGCCTGTCAGAAACCTACTGCTATAATAGGC
 TAAACACCAGCACTTGGGGGCGGCAACCGGCAAGACAAAGAGGGTGTGGTCAAACCGTGCCCTA
 TTGGCCTGGTGACAATGTTCTAGAAGAACAATACTACAGCACAGGTTACTGGGTGAATGTAACA
 GCGGGTTGCCAGCTGAGAGAAGGCGTATGGCTATCAAGAAAGGGTAACGTACAGTGTGAGCGTA

ACGGCTCATCCTTGATGCTGCAATTGGCGATAAAAGAAGAGAATGACACTATGGAAATACCATG
 TGACCCAGTGAAACTGAAAGTATGGGTCCAGTTGCACAGGGCACTTGTGTGTACAGCTGGGCA
 TTCGCCCCAAGAGGGTGGTACTATAACAGGAAGGATGGTTATTGGCTCCAGTACATAAAGAAAA
 ACGACTACCAGTATTGGACAAAAATGCCTACTGCCTCGTCCGCCGCAACCATGTACCGCCACTT
 GCTCCCCTTACTGGTGGCCTGCCTCATGGGCGGTAGGATATCGGTGTGGTTTGTGGCAATGCTC
 CTGTCTCTACAGGTGGAAGCTAGTGAAGTAGGCACTAAACAACCTGGCTGTCACGCTAACCCCTGT
 GGAAAATGGACTGGACAGAACTACTTTTCTATATTGTCTTGATGCTAGCCGTTAAGGAAGAACT
 TATAAAAAAATTTGTGACCGCTAGCCTTGTGGCCTTAAAAAATAGTCCAGTAGCCTTGAGTTTT
 CTTATTGTAICTCAGACTTGTGGGGGGCAGTGAAGCACTCCAGTAGGTTTATTATTAGAAAAAA
 TGTGCATAGACCAACCGGAGTTTGGAACTCCTTTCTGATCTACCTATGGGACAACCTGGAAGTG
 GACTGTGTTAGTCAGCTTCTCCGCACTGAACCATGAAAAAATATAAACTGGCAAGAAAACTG
 TTGTTGGCAACACATATAACAGCGCTCACATTG (SEQ ID NO:11)

SCYKRQDYNTQLVVEEKTGVEKRSIMGKWTVITREGREPRIMEQINMVLNDSLSEYCY
 YNRLNTSTWGRQPARQRGCGQTPYWPVDNVLEEQYYSTGYWVNVTTGGCQLREGVWLSRKGNVQ
 CQRNGSSLMLQLAIKEENDTMEIPCDPVETESMGPVAQGTCVYSWAFAPRGWYYNRKDGWYLY
 IKKNDYQYWKMPASSAATMYRHLPLLVACLMMGGRISVWFVAMLLSLQVEASEVGTKQLAVT
 LTLWKMDWTELLFYIVLMLAVKEELIKKIVTASLVALKNSPVALSFLIVLRLVGGSEALPVGLL
 LEKMCIDQPEFGTFLIYLWDNWKWTVLVSFSALNHEKTIKLARKLLLATHITALTL (SEQ
 ID NO:12)

NS2-3: Ген, кодирующий неструктурный белок NS2-3, состоящий из 934 аминокислот, находится в положениях 3594-6959 последовательности SEQ ID NO:1.

ACTGGCTTGAGTGATTCAATCTTCTATATGATGCTTATAACAACAAATTTGTTAATAAA
 GACATTCATATACTTGCTGGGGGCTAGTATGAATTGGGTTCGAGAGAGAAAAAAGAAATTGCTA
 GTGAAGAGGAGACTAATATACAAGAAAGCCGTTACTTGCAGTCAGGATGAGAATGTATTGGAGA
 AATAATTCACAAGATAACTGTAAACGCGGATTTCAACCCCATGCAAGCTTGAACCTTCTACAATT
 ACTTAGGGCTTTTTTAGTCTCTTTGTGTTTTTCTACTACAAACCTCTCCTGTATGCAGAGACT
 ACCTTAACTGTAATAGTAATTGGCGTACAAGAGTACAACGTAGCCATGGCCCGCGGGCGAAGTG
 TGGTCCACAGGCTACTAGCCATGGCCTATTACATATACGGCCGCATACAGGGTGACATGTTCCA
 GCTCGCCACTATCCAGTGCCTGCTGTCGAGTCCGAGGAAAATTATGAAACACATGGTAGAGAAT
 CCAACTCTCAAGAAGCTCTGGCAAGGCGAAACAGAACTCTTCAACCAGGGTGTAGTCAATCCA
 AGATAGTGAATCCAAAGAAAATTGGGCTGGAAGAATTACACAAGGGCATGTGTGGCCTCCCAAC
 AGTAGTGCAAAATTTGGTCATATATGCAAAGAAGAATGACTCTCTTATTTTAGGAGAGCTGGGT
 TACCCCCCTGGGGATCTCACCAAGTATGGGTGGGAAATTTTAGGTCCTGGCAGAATCCCAAAGA
 TCACTAACGTCGAGTCTGCTAAGATGGACTTACTCTCAAACCTTATGACCTTTCTGGGGATTGA
 AAGCTCGAGGGTCCCCAGGACCCCGTCCACTCAACAAGGAAATTTATGAAGATAGTAAGGGGC

TTGGAAACAGGATGGGGGTACACTCACGCAGGGGGGATAAGTAGCGCAAACACGTTACAGGTG
 AAAAGAACTTAATGACCCACATGGAGGGTAGGAAGGGAAAATATATCCTACAATCTCAAGAACA
 TGGTGCTGACGAGGTAGAGTACGGAGTAAAACTGATCAAAAAGCTCCCGACAATGCCTTATGC
 TACTGTTTTAACCTGAAGCTACAAACATAAAAGGAGAGACGGGAGCCATGGTGTTCATGAAGA
 AGATAGGAAAAAAGTGGACTCTCGTAACATCAGACGGCAATAAAGCCTATTATAATGTAAACAA
 TTTGAAAGGGTGGTCTGGACTACCAATAATGCTGCACTCCACCGGGGCCATAGTGGGGAGGATT
 AAATCAGCGTATTCAGATGAAAACGACCTGGTGGAGGAACTTATTGACTCTAGAACTATTAGTA
 AGAGCAATGAGACAAACCTGGACCACCTTATCAAGGAATTGGCAGACATGCGGAGGGGGGAGTT
 CCGCTCAATTACCCTTGAACGGGAGCCGGGAAAACCACAGAACTGCCTAGGCAATACCTCACA
 ACAGTAGGTGCCATAAATCCGTGCTGGTCTTAGTCCCCTTAAAAGCACCTGCTGAAAGTGT
 GCCGCTTTTATGAGGTCTAAATACCCTACCATCAACTTTTCCCTTAAGAGTGGGGGAACGGAAAGA
 GGGAGATGTGAGCAGCGGCATCACCTACGCTACTTACGGATTTTGCTGCCAGCTAAACCTAGTC
 CAACTTAAAGAATGGATATCCAGGTACTCAATGGTTTTTTTTTGATGAATATCACACAGCAACTC
 CAGAACAAATAGCCATAATAAGCAAGATTCATGCACTGAAAGTTAAGACCAGGATAGTGGCTAT
 GTCAGCAACCCCCCGGGTACCGTGACGACTGAAGGCAGGAAGTTTGACATTGAAGAGGTAGGG
 GTTGCTACCATAGAGAAAGGAGAGGAACCAAAAAGGGGGCGCATAGCGGTGCTGGTATGCAGG
 TCCCATTAGAAGACTTAACAGGAAAGAACTGCCTGGTGTTCGTGGCAACCAAAGAAGCCGCGGA
 GACGGAGGCTAAAGAACTGCGCACCCAGAGGAATTAACGCCACCTACTACTATTCAGGTATAGAC
 CCTAAGACTCTGGAACATGGGATGACCAATCAGCCATACTGTATTGTAGCTACCAATGCCATTG
 AATCAGGTATAACCTGTCCTGACTTGGATGTGGTCATAGACACCATGCAGAAGTACGAAAAAGT
 AGTGAATTTCTCGGCAAAGATGCCCTTGATTGTCACTTCATTAGTAAAGAAAAAATCACCAGG
 GAAGAACAGGGCCAGAGGAAAGGTCGAGTGGGCAGGCAAAGAAAGGAAAATACTACTACCCT
 CGGGGGTGGTACCGAATGGGTCAAAGACCTAAGCTATTTAATCCTACAGGCCCAAGAATATGG
 TGTCTTGAACAAGTCAATATAACAGAGTACTTCATCATAATGAATGAGGACTGGGGTCTCTAT
 GACGTAGATGAAGTAGAAGTGAGAATACTTGAGAGAATGAACAAGGAAATCTTGCTACCACTAG
 GTATTGTGGAGAAGCAAATCTTGAAAGAAGTACTCACCCGAAAAAGTGGCACTGTTGTATAA
 CAAATTAGTGCAGAAAAATCCTATAGTATAACCCTAGAGTACAGGAAGGTGAGGTGAGCAAGGAA
 TACAATACCTATAATCTGGCCGTATATGACAAGCTAAAAGATGTCAACCCACAAGCCATTTATG
 TTCTAGCAGAAGAGGAGAGACCACAGAAATGATGGGTCTCGAGTTTGAACAAGACCCATCTGA
 CTTACAGGATTCGGTAGTTCAGCTTTGTGAAGATATCAAGAGGTATACAAAACCTC (SEQ ID
 NO:13)

TGLSDSIFYMMLITTNLLIKTFIYLLGASMNWVEREKKLLVKRRLIYKKAVTCSQDEN
 VLENKFNKITVNADFTPCLELLQLLRAFLVSLCFSYKPLLYAETTLTVIVIGVQEYNVAMAR
 GRSVVHRLLAMAYYIYGRIQGD MFQLATIQCLLSSPRKIMKHMVENPTLKKLWQGETELFNQGV
 SQSKI VNPKKIGLEELHKGMCGLPTVVQNLVIYAKKNDSLILGELGYPPGDLTSDGWEILGPGR
 IPKITNVESAKMDLLSKLMTFLGIESSRVPRTPVHSTRKLLKIVRGLETGWGYTHAGGISSAKH

VTGEKNLMTHMEGRKGYILQSQEHGADEVEYGVKTDQKAPDNALCYCFNPEATNIKGETGAMV
 FMKKIGKKWTLVTS DGNKAYYNVNNLKGWSGLPIMLHSTGAI VGR IKSAYS DENDLVEELIDSR
 TISKSNETNLDHLIKELADMRRGEFRSITLGTGAGKTELPRQYLTTVGAHKSVLVPLKAPA
 ESVCRFMRSKYPTINFSLRVGERKEGDVSSGITYATYGFCCQLNLVQLKEWISRYSMVFFDEYH
 TATPEQIAIISKIHALKVKTRIVAMSATPPGTVTTEGRKFDIEEVGVATIEKGEEPKRGR IAVA
 GMQVPLEDLTGKNCLV FVATKEAAETEAKELRTRGINATYYYSGIDPKTLEHGMTNQPYCIVAT
 NAIESGITCPDLVDVIDTMQKYEKVVNFSAKMPLIVTSLVKKKITREEQGQRKGRVGRQKKGKY
 YPSGVVPNGSKDLSYLILQAQYEGVLEQVNITEYFIIMNEDWGLYDVDEVEVRILERMNKEIL
 LPLGIVEKQILERSTHPEKVALLYNKLVQKNPIVYPRVQEGEVSKEYNTYNLAVYDKLKDVNPQ
 AIYVLAEEERATEMMGLEFEQDPSDLQDSVVQLCEDIKRYTKL (SEQ ID NO:14)

Геликаза: Ген, кодирующий белок геликазы, состоящий из 687 аминокислот, находится в положениях с 4335 по 6395 последовательности SEQ ID NO:1.

GGTCCTGGCAGAATCCCAAAGATCACTAACGTCGAGTCTGCTAAGATGGACTTACTCTC
 CAAACTTATGACCTTTCTGGGGATTGAAAGCTCGAGGGTCCCCAGGACCCCAGTCCACTCAACA
 AGGAAATTATTGAAGATAGTAAGGGCTTGGAAACAGGATGGGGGTACACTCACGCAGGGGGGA
 TAAGTAGCGCAAAACACGTTACAGGTGAAAAGAACTTAATGACCCACATGGAGGGTAGGAAGGG
 AAAATATATCCTACAATCTCAAGAACATGGTGCTGACGAGGTAGAGTACGGAGTAAAACTGAT
 CAAAAGCTCCCGACAATGCCTTATGCTACTGTTTTAACCTGAAGCTACAAACATAAAAGGAG
 AGACGGGAGCCATGGTGTTCATGAAGAAGATAGGAAAAAGTGGACTCTCGTAACATCAGACGG
 CAATAAAGCCTATTATAATGTAAACAATTTGAAAGGGTGGTCTGGACTACCAATAATGCTGCAC
 TCCACCGGGGCCATAGTGGGGAGGATTAAATCAGCGTATTCAGATGAAAACGACCTGGTGGAGG
 AACTTATTGACTCTAGAACTATTAGTAAGAGCAATGAGACAAACCTGGACCACCTTATCAAGGA
 ATTGGCAGACATGCGGAGGGGGGAGTTCCGCTCAATTACCCTTGGAACGGGAGCCGGGAAAACC
 ACAGAACTGCCTAGGCAATACCTCACAACAGTAGGTGCCATAAATCCGTGCTGGTCTTAGTCC
 CCTAAAAGCACCTGCTGAAAGTGTGCGCTTTTATGAGGTCTAAATACCCTACCATCAACTT
 TTCCTTAAGAGTGGGGGAACGGAAAGAGGGGAGATGTGAGCAGCGGCATCACCTACGCTACTTAC
 GGATTTTGCTGCCAGCTAAACCTAGTCCAACCTAAAGAATGGATATCCAGGTA CTCAATGGTTT
 TTTTGTGATGAATATCACACAGCAACTCCAGAACAATAGCCATAATAAGCAAGATTCATGCACT
 GAAAGTTAAGACCAGGATAGTGGCTATGTCAGCAACCCCCCGGTACCGTGACGACTGAAGGC
 AGGAAGTTTGACATTGAAGAGGTAGGGGTTGCTACCATAGAGAAAGGAGAGGAACCAAAAAGGG
 GGCGCATAGCGGTCGCTGGTATGCAGGTCCCATTAGAAGACTTAACAGGAAAGAACTGCCTGGT
 GTTCGTGGCAACCAAGAAGCCGCGGAGACGGAGGCTAAAGA ACTGCGCACCAGAGGAATTAAC
 GCCACCTACTACTATTTCAGGTATAGACCCTAAGACTCTGGAACATGGGATGACCAATCAGCCAT
 ACTGTATTGTAGCTACCAATGCCATTGAATCAGGTATAACCTGTCCTGACTTGGATGTGGTCAT
 AGACACCATGCAGAAGTACGAAAAAGTAGTGAATTTCTCGGCAAAGATGCCCTTGATTGTCACT

TCATTAGTAAAGAAAAAATCACCAGGGAAGAACAGGGCCAGAGGAAAGGTCGAGTGGGCAGGC
 AAAAGAAAGGAAAATACTACTACCCCTCGGGGGTGGTACCGAATGGGTCAAAGACCTAAGCTA
 TTTAATCCTACAGGCCCAAGAATATGGTGTCTTGAACAAGTCAATATAACAGAGTACTTCATC
 ATAATGAATGAGGACTGGGGTCTCTATGACGTAGATGAAGTAGAAGTGAGAATACTTGAGAGAA
 TGAACAAGGAAATCTTGCTACCACTAGGTATTGTGGAGAAGCAAATCTTGAAAGAAGTACTCA
 CCCGGAAAAAGTGGCACTGTTGTATAACAAATTAGTGCAGAAAAATCCTATAGTATACCCTAGA
 GTACAGGAAGGTGAGGTGAGCAAGGAATACAATACCTATAATCTGGCCGTATATGACAAGCTAA
 AAGATGTCAACCCACAAGCCATTTATGTTCTAGCAGAAGAGGAGAGAGCCACAGAAATGATGGG
 TCTCGAGTTTGAACAAGACCCATCTGACTTACAGGATTCGGTAGTTCAGCTTTGTGAAGATATC
 AAGAGGTATACAAAACCTC (SEQ ID NO:15)

GPGRIPKITNVESAKMDLLSKLMTFLGIESSRVPRTPVHSTRKLLKIVRGLETGWGYTH
 AGGISSAKHVTGEKNLMTHMEGRKGYILQSQEHGADEVEYGVKTDQKAPDNALCYCFNPEATN
 IKGETGAMVFMKKIGKKWTLVTS DGNKAYYVNNLKGWSGLPIMLHSTGAI VGRIKSAYS DEND
 LVEELIDSRTISKSNETNLDHLIKELADMRRGEFRSITLGTGAGKTTELPRQYLTTVGAHKSVL
 VLVPLKAPAESVCRFMRSKYPTINFSLRVGERKEGDVSSGITYATYGFCCQLNLVQLKEWISRY
 SMVFFDEYHTATPEQIAIISKIHALKVKTRIVAMSATPPGTVTTEGRKFDIEEVGVATIEKGEE
 PKRGRIAVAGMQVPLEDLTGKNCLV FVATKEAAETEAKELRTRGINATYYYSGIDPKTLEHGMT
 NQPYCIVATNAIESGITCPDLVDVIDTMQKYEKVVNFSAKMPLIVTSLVKKKITREEQGQRKGR
 VGRQKKGKYYYPGVPNGSKDLSYLILQAQYGVLEQVNITEYFIIMNEDWGLYDVDEVEVRI
 LERMNKEILLPLGIVEKQILERS THPEKVALLYNKLVQKNPIVYPRVQEGEVSKEYNTYNLAVY
 DKLKDVNPQAIYVLAEEERATEMMGLEFEQDPSDLQDSVVQLCEDIKRYTKL (SEQ ID
 NO:16)

NS4B: Ген, кодирующий неструктурный белок NS4B, состоящий из 67 аминокислот, находится в положениях с 6396 по 6596 последовательности SEQ ID NO:1.

TCTGGGATCACTGAGAAACTGCTAGTAGGTACGATGGTGGGGTATATTGGATACAAAGC
 CTTAACAGAAACCACGTGCCCTGGGTGAGCAAAGAGTATTGTTATGAGCTGACCGATTACCG
 GATACTTACGAAAACATTCGCACCTTTGGACGTGACGTCCAAAACCTCCGGTGAAGGAAAAC
 ACCCAGAGCAACTG (SEQ ID NO:17)

SGITEKLLVGTVMVGYIGYKALTRNHVPWVSKEYCYELTDSPTDYENSFAPLDVDVQNSG
 EGKHPEQL (SEQ ID NO:18)

NS5A: Ген, кодирующий неструктурный белок NS5A, состоящий из 811 аминокислот, находится в положениях с 6597 по 9029 последовательности SEQ ID NO:1.

GCAGACCATCAATTGAGGCAACTACTGGAGACTGGGAGAGACAAGGCAATTGATTTTCCT
 AAAAGGAATCCGCGAGTTCAGTAGTGGGGCCATAAACAGTCCAAAGGCACTAAGTATATGGGAG

AAAATATATCAGTATTTGAAGAAGCATCAGGGCGAGATCATCTCATCAGCAGCGTGGGGCAGTG
CGACGGCCCTTCACGACAGTATTAATCTAGACTAGGAGATGAGGTCGCTACTGCAGTAATAAT
CCTCAAGTATTTAGCATTTGGTGAAAGAGAACTGTCTGGGCTAACTAGGCAAGTTCTAATTGAC
ATCATAGTATATTATATAGTTAACAAGCCCCGGTTCGAAGGAGACGACTACGCAAAGAGAAAAG
GAAGAAGGCTAGTCATCGAAGTCCTGATGGGGGCACTGGCGACTTATGCGGTGTCCAATTTTTG
GGGTGTGTCCATTAATAAGATACTGCAACCAATTTCTGATTATCTACCCTATGCCACCGCCACT
TTGGCTTTTCTTCGCCCAACCTTCATGGAATCAGCAGTGGTGGTCGCTTCTCTATCTATAGAG
CTTTTCTCTCCATTAAGCATGCGGAAAACAGGAGTCTTGTCACGCAGGTTCGCTTCTGCCGCCCT
CGAAGTCATGGGCCTGACCCAGTATCGGCTGGCCTAGGCGTCTTGCTGGGGCTTGGGTGTGT
GTGCTCCATATGAACATTGACAAGAATGAGGAGAAAAGGACACTTATACTGAAAATGTTTTGTCA
AAAACCTTTATAGACCAGGCGGCACTAGACGAGTTGGATAAACTGGAGCCAGAAAAATAATCCT
CTCATTGTTGGAGGGTATCCAAACCTGCACAAACCCGATTAGAGCAATCATGATTTTGTACAGG
GTGTACTACAAGGGAGAACTTTCACAGAAGCTTTGTCTAAGATGGCCGGCAAGTCTCTCATTG
TGATGGTCATAGTCGAGTTCCTGGAATTGACAGGCCAAACCCAAGGAGGGTATATAGATCTTAG
TGCTAATTTGCTGACCTTCTCCTCGAGAACTAAAAAAATGACTAACCTCGCCATCGGGGAA
GCTAGAAAGGTCTTGCTCCCCATCCCATACTTGTACTGTGAAACCTGGCAGTCTGACGCCAGAA
TCAAGGCCCTGAATCCTACGACCAAGTGGTAGTGGAATGCAAATGTGGCGCTTCAGCGAGGTA
TTCCTTCCGCGATGGAGTTCATGAGATATTGGAAGAAAAAGGACTAATTGGTGCAAGAACTTC
TTCTTATGGGGACCCAACCTCCACAATCCGGATCCAAAAGGATGACATTCTATGAATACGGCC
AAGCAAAAAGTGTCTTATCATAATTGGTGAAGACATAACCTTCGGCAAATATGGCATATA
TATCAAATTTGGCCATAGGCCTGATGGAGGGAGGTTAATAAGGGGTACCACCCACGCTACTATC
AGTAGGGAGGAATTGCTGGAATCCTAACAGCCCCAAGCCAAGTGGCCATAGGCAAGGTCAAGC
TAACCGATTACTGTAATCAAAAAGGAATAATAGACAGGAAATTGGCCGTACTTGAAGGTGACAA
AATACATTTTTGGAAAGCACACCGTGGATCCAAAATCACAGACCAACTCACTATTGAGAATCTG
ACAGATGATTTGGGGTCAGAAATCAGGGACATCACATGGGAGCTGTACACAGGTGGAACGTGCA
CCGTAAAAGGGGTGTCCCTTAGATCATGCGCACCAGGTCATAGAACTAAGGCTATGGTCTTGTG
TGATTGCACTGATGTGCTTAGCCCCGTTACCTAATAAACGGCAGGAGACCATCCCCATTTGAC
GTCGCGGAAGGTATGAATGTCACCACCGGAAGCCCCGAGCGACGTATGAAGACCTAGAAATGG
AGGAAATACTAAAGAGACGAGTCCCTGTCTACGATCCTCTGTGTTTGTGTTGACACTGATAGTAA
ACTGCTACCTCCCGACACCTACTACTTGAAGAAGATCAAGAGGACTTTGAGTACGCATTGAGA
TGCTGGGGCCTCGGGGTTTATGTAGCAGACGGGCCTGTCACTTCCCCCGGACATAAGAATAC
ACCATAGTTCGGTATTACTACTGCTGACACCTGGAGTAACTCAGAGTTGCCCTTACAGTACAT
ACGTTGTTACCCTCATCAGGCAGAGGTGGACATCTACATTAGGAGTCAGCTTTTGGAGGAGGAA
GACACTGCTACGGAGGTGGAAGGCTCCCAGGAAGATGGTGATGAAGGGATGGGCGATGCGGTAA
TAGAGGATGAGGATACATCGTCCACAACAGAATCAATACCCCCACTAGAAGAGGAGGAAGGGGG
CGAAGAGCCAATCACCTATGTGGTCATAAGGGGATTACAAGAAGAAAGATACGCCAGCCATCTT

AAACTA (SEQ ID NO:19)

ADHQLRQLLETGRDKAIDFLKGIREFTSGAINSPKALSIWEKIYQYLKKHQGEI ISSAA
 WGSATALHDSIKSRLGDEVATAVILKYLAFGERELSGLTRQVLIDIIVYYIVNKPRFEGDDYA
 KRKGRRLVIEVLMGALATYAVSNFWGVSINKILQPI SDYLPYATATLAF LRPTFMESAVVVASS
 IYRAFLSIKHAENRSLVTQVASAALEVMGLTPVSAGLGVLLGLGLCVLHMNIDKNEEKRTLILK
 MFVKNFIDQAALDELDKLEPEKIILSLLEGIQTCTNPIRAIMILYRVYYKGETFTEALSKMAGK
 SLIVMVIVEFLELTGQTQGGYIDLSANLLTFLEKLKMTNLAI GEARKVLLPIPYLYCETWQS
 DARIKAPESYDQVVVECKCGASARYSFRDGVHEILEEKRTNWCKNFFLWGPNFHNPDPKRMTFY
 EYGQAKKCPVIIIGEDITFGKYGIYIKFGHRPDGGRLIRGTTHATISREELLEILTAPSQVAIG
 KVKLTDYCNQKGIIDRKLAVLEGDKIHFWKAHRGSKITDQLT IENLTDLGEIRDITWELYTG
 GTCTVKGVSLRSCAPGHRTKAMVLCDCDVLSPCYLINGRRSPFDVAEGYECHHRKPRATYED
 LEMEEILKRRVPVYDPLCLFDTDSKLLPPD TYYLEEDQEDFEYALRCWGLGVYVADGPVTSPPD
 IRIHSSVLLLLLTPGVNSELPLQYIRCYPHQAEVDIYIRS QLLEEDTATEVEGSQEDGDEGMG
 DAVIEDEDTSSTTESIPPLEEEEGGEEPITYVVIRGLQEERYASHLKL (SEQ ID NO:20)

RdRp: Ген, кодирующий РНК-зависимую РНК-полимеразу, состоящую из 751 аминокислоты, находится в положениях с 9030 по 11285 последовательности SEQ ID NO:1.

AATGACTGGATCAGTGAAAACATTTTCAGAGCCACACAGAGTCCAAATTATGCTAGATGG
 GACAGTGAGAGTCACAATAAAAGAGGGCAAAGTGAAACATTTGTTTGGGGTCTATAGAATAGAA
 AACTCCCTGGAAGCAATGTTTAAAGAGACCATAGCTGACCTCCCCGTAGCTACCCAACCGCCCC
 AGGGGCCAGTCTATACGGCTAAAGAGCTGGCCCAAGGGAACATCGCCCCGGTCCAACCTGCAGC
 GAATTATTACGGAATGATAGAGGGGAGAGGCGACCCAATGACGGCATTCGAAGCCTTATCAGTC
 TTGCGGTCACAAAAGTCTTAGCCAAGGACGTGAAGGTGAACACCCGCGAGGGCGCAGGTTTTTT
 TAAATAAAGTCAGGAGAATTGCTGAGGTCAGAGCGTCGGAACCTGACATTAATAATGCTTACCGAT
 ACTTGCAAAGTAAATGGGAGGAAATTGATTAGAGAGGAAACCAACATCCCCAACCAAGGTTG
 GCATCAATAATGACCTCAATAGGAATTAGACTAGAAAAACTGCCAGTGGTTAGAGCAAACACTT
 CCGGCTCTAAGTTCAGACAGTCAATCTTAGAAAAAATGGATAAGTATGAAAATGAACAAGTCCC
 AGGTTACATGAAAAGATGTGGGCAGCGTTCCTGGCAACTGCCAGGCAAGATTTAAGAAATACC
 TATGAGGAAGTAACTTATCTTGAATTAGAGGCCGGAATCAATCGGAAAGGAGCCCCAGGTTTCT
 TTGAAAAAGAAAGCTCAATAGGAGAAGTGCTGGAAAAAAGAAAAAATTGACGTCACAATCCA
 AGAGATTGAAAAAGGCAACCACTTATACTATGAAACAGCCATGCCAAAAAATGAGAAAAGAGAT
 GTGCTTGATGATTGGTTGTCAGAGGATTTCTGCTACTTATAAGAAACCACGTGTGATACAGTACC
 CTGAGGCAGTCACCCGGTTGGCCATCACCAAAATAATGTATAAGTGGGTGAAGCAAAAGCCTAT
 AGTGATTCCCGGTTATGAGGGAAAAACCCCGATCTTTGAAATATTTGAAAAAGTCAGTGCAGAT
 TGGGCTCAGTTCAAAAATCCGGTAGCCGTCAGCTTCGACACCAGAGCCTGGGACACTCAAGTAA
 CAAGAGAAGACCTCAGGCTGGTAGGGCGGATACAGAAATACTATTACAAAAAATAATTGGAA

GTTTCATTGACAATTTGACAGCCATGATGGAGGAAGTGCCTGTAATCACTGTAGAAGGAGATATG
 TTCCTCAGAGTTGGACAGCGCGGATCCGGACAGCCTGATACCTCAGCAGGCAATTCCATGCTAA
 ATGTGCTGACTATGTTGGTAGCTTTCTCTGAATCCACAAATCTGCCCATAGCGGCTGCCTGGAA
 GGCCTGTCCGATCCACGTCTGTGGTGACGACGGTTTCTTAATCACAGAATCGGAATTAGGGAGG
 AAGTTTGCTGAAAAAGGTGTTCCCTCTGTTAGCTGCATTTGGCAAACCCCAAAAAATTACAGAGG
 GAGCGAGCCTAAAGGTAACCAGCAACTTTGACGGAATAGAGTTTTGTAGTCATACCCCTATCAG
 AGTCCAAACACCAAACATCAGGTGGATGCCAGCGAGACCAACAGCAACAATCCTAGGCCAAAATG
 AGTACCAGGCTGGGTGAGGGTGCCACCAGGTCGGGAGAAGAATACGAAAAACAGGTGGCATTCCG
 CATATCTACTGATGTACCCCTGGAACCCGCTGGTCAGGAGAATCAGCCTCCTATTGTTATCGAC
 TACTGACCCAATGGGGAAAGAGGAAACCCCATGCTCCGATGAGGGGGTGAAGTATGTTGGGGAC
 CCTATCGCTGCATACAGGGATGTATGGGGGCACAAATTAGAGGATGTAGGCCATGTTGATCAAC
 CGCAGTTATCCCGGATGAACTATAGCATGACTTACTTAGGGATTTGGAAACCAAAGACAAGTCA
 GCGGCTAGTCGAACAGTGTGTGCTCTGGCCGAGAAAAGCAATTGTGTGGTACGTGCTGACTCC
 CTGATAAAGAAAAAGGTCAAGATCACTTATGACCCGGGGATAGGAGTGGCTCAGGTCATTCGTA
 GGTGGGAAGAGCTTGAGTGGACCAGAAGGAAACCTGAACTACCAATGTAATTGTAGAAGATGA
 TATCTTCCCTAGTCCTGTGGAAGAGATTTTCAAAGTACATTTTTTCAGAAAATGAAGTTCATGCAG
 AGAATGTTCCGCCCTTATTAA (SEQ ID NO:21)

NDWISENISEPHRVQIMLDGTVRVTIKEGKVKHLFGVYRIENSLEAMFKETIADLPVAT
 QPPQGPVYTAKELAQGNIAQVQPAANYGMIEGRGDPMTAFEALSVLRSQKVLAKDVKVNTRRA
 QVFLNKVRRIAEVRASELTLKCLPILGKVNKRKLIREEETNIPNQLASIMTSIGIRLEKLPVVR
 ANTSGSKFRQSILEKMDKYENEQVPGLHEKMWAAFLATARQDLRNTYEEVTYLELEAGINRKG
 PGFFEKESSIGEVLEKKEKIDVTIQEIEKGNHLYYETAMPKNEKRDVLDLWSEDFVITYKKPRV
 IQYPEAVTRLAITKIMYKWKQKPIVIVPGYEGKTPIFEIFEKVSADWAQFKNPVAVSFDTRAWD
 TQVTREDLRLVGRIOKYYYKKKYWKFIDNLTAMMEEVPVITVEGDMFLRVGQRSGQPDT
 SAGNSMLNVLTMLVAFSESTNLPAAAAWKACRIHVCDDGFLITESELGRKFAEKGVPLLA
 AFGPKPQKITEGASLKVTSNFDGIEFCSHTPIRVQTPNIRWMPARPTATILGKMSTR
 LGEGATRSGEYEYEQVAFAYLLMYPWNPLVRRISLLLLSTTDPMGKEETPCSDEGVKYV
 GDPIAAYRDVWGHKLEDVGHVDQPQLSRMNYSMTYLGWPKTSQRLVEQCCRLAEKSN
 CVVRADSLIKKKVKITYDPGIGVAQVIRRWELEWTRRKPELTNVIVEDDIFLVLWKR
 FSKYIFQKMKFMQRMFAPY (SEQ ID NO:22)

В одном из вариантов осуществления пестирус по изобретению представляет собой мутант пестивируса, в частности, содержащий по сравнению с геномом пестивируса дикого типа мутацию в гене, кодирующем белок указанного вируса.

В предпочтительном варианте осуществления пестирус по изобретению содержит мутацию в гене, кодирующем белки Npro,

капсида, Erns, E1, E2, NS2-3, геликазы, NS4B, NS5A или RdRp указанного вируса. Таким образом, изобретение предпочтительно относится к пестивирусу, который проявляет пониженную репликативную способность вируса в результате мутации в гене, кодирующем полипротеин пестивируса, где указанная мутация предпочтительно представляет собой мутацию, как указано ниже.

Предпочтительно, мутация, как описано в настоящем документе, включает или состоит из одной или более точечных мутаций и/или одной или нескольких геномных делеций и/или одной или нескольких вставок.

Используемая в настоящем документе иммуногенная композиция также относится к композиции, которая содержит любой описанный в настоящем документе полипротеин пестивируса. В соответствии с еще одним вариантом осуществления такая иммуногенная композиция дополнительно содержит по меньшей мере часть вирусного вектора, экспрессирующего указанный полипротеин пестивируса и, в частности, белок E2, предпочтительно, рекомбинантный бакуловирус. Кроме того, иммуногенная композиция может включать: i) любой из описанных выше белков пестивирусов, предпочтительно, в концентрациях, описанных выше, ii) по меньшей мере часть вирусного вектора, экспрессирующего указанный полипротеин пестивируса обработанных белков в полипротеине, предпочтительно, рекомбинантного бакуловируса, и iii) часть супернатанта клеточной культуры.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления настоящее изобретение также относится к вектору, который содержит любую из таких молекул нуклеиновой кислоты, как описано в настоящем документе. Другими словами, настоящее изобретение относится к вектору, который включает кодирующую последовательность любого такого полипептида пестивируса или его части. Предпочтительно, указанный вектор представляет собой вектор экспрессии, который позволяет экспрессировать любой такой полипротеин пестивируса или часть белка. Векторами по изобретению являются такие векторы, которые подходят для трансфекции или инфицирования бактериальных, дрожжевых или животных клеток, *in vitro* или *in vivo*.

Вакцины по настоящему изобретению обычно включают инактивированные или аттенуированные пестивиролы, включенные в состав вместе с фармацевтически приемлемым носителем. Фармацевтические формы, подходящие для инъекционного применения, обычно включают стерильные водные растворы (водорастворимые) или дисперсии и стерильные порошки для приготовления стерильных растворов или дисперсий для немедленного использования инъекций. Состав желателен должен быть стерильным и жидким в той степени, при которой он легко проходит через иглу. Лекарственная форма должна быть стабильной в условиях производства и хранения, и она обычно защищена от загрязняющего воздействия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы. Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, этанол, полиспирты (например, глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль и тому подобное), их подходящие смеси и растительные масла. Одним из возможных носителей является физиологический солевой раствор. Надлежащая текучесть раствора может поддерживаться, например, за счет использования агентов покрытия, таких как лецитин, поддержания необходимого размера частиц в случае дисперсий и использования поверхностно-активных веществ. Предохранение от воздействия микроорганизмов может быть достигнуто с помощью различных антибактериальных и противогрибковых агентов, таких как парабены, хлорбутанол, фенол, аскорбиновая кислота, тимеросал (натрий этилмеркурий-тиосалицилат), деомин, гентамицин и тому подобное. Во многих случаях предпочтительным будет включение в композицию изотонических агентов, например, сахара или хлорида натрия. Пролонгированная абсорбция инъекционных композиций, если желательно, может быть достигнута за счет использования в композициях агентов, замедляющих абсорбцию, например, моностеарата алюминия и желатина.

Объем однократной дозы вакцины по настоящему изобретению может варьировать, но обычно находится в пределах диапазонов, используемых в обычных вакцинах. Объем однократной дозы, предпочтительно, составляет от примерно 0,1 мл до примерно 3 мл, предпочтительно, от примерно 0,2 мл до примерно 1,5 мл, более

предпочтительно, от примерно 0,2 мл до примерно 0,5 мл при концентрациях конъюгата и адъюванта, указанных выше.

Вакцинные композиции по изобретению могут вводиться любыми удобными способами, известными в данной области, например, внутримышечно, подкожно, внутривенно, перорально, внутриартериально, интраназально (например, ингаляцией или без нее), внутрисердечно, интраспирально, интраторакально, внутрибрюшинно, внутрижелудочно, сублингвально, чрезкожно и/или путем ингаляции.

Особью, которой вводят композицию, предпочтительно, является животное, включая, но не ограничиваясь ими, свиней, коров, лошадей, овец, птиц (например, цыплят), коз, кошек, собак, хомяков, мышей и крыс. Наиболее предпочтительно, млекопитающим является свинья, более предпочтительно, свиноматка, молодая свинья или поросенок. В некоторых вариантах осуществления свиноматка или молодая свинья могут быть беременными.

Составы по настоящему изобретению включают эффективное иммунизирующее количество одной или нескольких иммуногенных композиций и физиологически приемлемый носитель. Вакцины включают эффективное иммунизирующее количество одной или нескольких иммуногенных композиций и физиологически приемлемый носитель. Состав должен подходить для способа введения.

Иммуногенная композиция может также содержать незначительные количества смачивающих или эмульгирующих агентов, либо pH-буферных агентов. Иммуногенная композиция может представлять собой жидкий раствор, суспензию, эмульсию, таблетку, пилюлю, капсулу, композицию с замедленным высвобождением или порошок. Пероральный состав может включать стандартные носители фармацевтической степени чистоты, такие как маннит, лактоза, крахмал, стеарат магния, сахарин натрия, целлюлоза, карбонат магния и тому подобное.

Предпочтительные пути введения включают, но ими не ограничиваются, интраназальный, пероральный, внутрикожный и внутримышечный. Предпочтительным является внутримышечное или интравaginaльное введение, наиболее предпочтительно, единичной

дозой, если желательно. Специалисту в данной области будет понятно, что композицию по изобретению также можно вводить одной, двумя или несколькими дозами, а также другими путями введения. Например, такие другие пути включают подкожное, внутрикожное, внутривенное, внутрисосудистое, внутриартериальное, внутрибрюшинное, интратекальное, внутритрахеальное, внутрикожное, внутрисердечное, внутрь легочной доли, внутримедуллярное или внутрилегочное введение. В зависимости от желаемой продолжительности и эффективности лечения композиции по изобретению можно вводить один или несколько раз, а также периодически, например, ежедневно в течение нескольких дней, недель или месяцев, и в разных дозах.

Варианты осуществления изобретения также включают способ защиты поросят от болезней, связанных с пестивирусом, включающий введение беременной свиноматке или молодой свинье любой из аттенуированных вакцин, описанных в настоящем документе. Например, введенная вакцина содержит один или несколько антигенов пестивируса.

Таким образом, в соответствии с одним из аспектов настоящего изобретение относится к способу снижения процента пестивирусных инфекций в стаде поросят, включающему стадию введения беременным свиноматкам или молодым свиньям эффективного количества инактивированного или аттенуированного пестивирусного агента или иммуногенной композиции, содержащей пестивирусный агент, где пестивирусный антиген представляет собой инактивированный пестивирус, аттенуированный пестивирус или субъединичную вакцину.

В одном из вариантов осуществления пестивирус по изобретению представляет собой любой пестивирус, кодируемый или содержащий последовательность SEQ ID NO:1 или 2; где последовательность по меньшей мере на 99% идентична последовательности SEQ ID NO:1 или 2; и/или где пестивирус кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO:1 или 2.

В еще одном варианте осуществления способ включает введение вакцины, содержащей один или несколько иммуногенных компонентов,

выбранных из группы, состоящей из пестивируса, который кодируется или содержит последовательность SEQ ID NO:1; где последовательность по меньшей мере на 99% идентична последовательности SEQ ID NO:2; где полипротеин кодируется последовательностями нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:1 или 2; и/или где полипротеин пестивируса кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO:1 или 2.

Соединения, описанные в настоящем описании, могут вводиться пациенту в терапевтически эффективных дозах для лечения заболеваний, связанных с пестивирусом. Доза зависит от хозяина, получающего вакцину, а также от таких факторов, как размер, масса тела и возраст хозяина.

Иммуногенность композиции может быть определена путем мониторинга иммунного ответа испытуемых особей после иммунизации композицией, используя любой иммуноанализ, известный в данной области. Индукция гуморального (антительного) ответа и/или клеточного иммунитета может быть воспринята как признак иммунного ответа. Среди испытуемых особей могут быть такие животные, как свиньи, мыши, хомяки, собаки, кошки, кролики, коровы, лошади, овцы и домашняя птица (например, цыплята, утки, гуси и индюки).

Иммунный ответ испытуемых особей может быть проанализирован с помощью различных подходов, таких как: реактивность полученной иммунной сыворотки в отношении иммуногенного конъюгата, которую осуществляют известными методами, например, иммуноферментным анализом с ферментным связыванием (ELISA), иммуноблоттингом, иммунопреципитацией и тому подобное; или путем защиты иммунизированных хозяев от инфекции патогеном и/или ослабления симптомов инфекции патогеном у иммунизированных хозяев, что осуществляют любым способом, известным в данной области, для анализа уровней возбудителя инфекционных заболеваний, например, бактериальных уровней (например, путем культивирования образца особи) или другими методиками, известными в данной области. Уровни возбудителя инфекционных заболеваний также могут быть определены путем измерения уровней антигена, на который

направлен иммуноглобулин. Снижение уровней возбудителя инфекционных заболеваний или улучшение симптомов инфекционного заболевания указывает на то, что композиция эффективна.

Терапевтические агенты по изобретению могут быть проанализированы *in vitro* на желаемую терапевтическую или профилактическую активность перед испытанием *in vivo* на животных или людях. Например, анализы *in vitro*, которые могут быть использованы для определения того, показано ли введение конкретного терапевтического средства, включают анализы на клеточных культурах *in vitro*, в которых соответствующие клетки из клеточной линии или клетки, культивируемые у особи с конкретным заболеванием или расстройством, подвергаются воздействию или иным образом получают эффект терапевтического средства, и наблюдается эффект терапевтического средства на клетки.

Альтернативно, терапевтическое средство может быть проанализировано путем приведения в контакт терапевтического средства с клетками (либо культивируемыми от особи, либо культивируемой клеточной линии), которые восприимчивы к инфекции, вызываемой возбудителем инфекционного заболевания, но которые не инфицированы возбудителем инфекционного заболевания, подвергая клетки действию возбудителя инфекционного заболевания, а затем определяя, был ли уровень инфицирования клеток, приведенных в контакт с терапевтическим средством, ниже, чем уровень инфицирования клеток, не находившихся в контакте с терапевтическим средством. Инфекция клеток возбудителем инфекционного заболевания может быть проанализирована любым способом, известным в данной области.

Кроме того, терапевтическое средство может быть оценено путем измерения уровня молекулы, на которую направлено антитело в модели животного или человека, в подходящих временных интервалах до, в процессе или после терапии. Любое изменение или отсутствие изменения количества молекулы можно идентифицировать и коррелировать с эффектом лечения этой особи. Уровень молекулы может быть определен любым способом, известным в данной области.

После вакцинации животного пестивирусной вакциной или

иммуногенной композицией с использованием способов и композиций по настоящему изобретению для оценки связывания полученного антитела и конкретной молекулы может быть использован любой анализ связывания, известный в данной области. Эти анализы также могут быть осуществлены для отбора антител, которые проявляют более высокую аффинность или специфичность в отношении конкретного антигена.

Обычно аттенуация вируса может быть получена из изолятов патогенных вирусов путем повторного пассажа в подходящих клетках-хозяевах, которые перmissive к вирусу до тех пор, пока вирус не проявит желаемые свойства (WO 92/21375, WO 93/06211, WO93/03760, WO 93/07898, WO 96/36356, EP 0 676 467, EP 0 732 340, EP 0 835 930). Альтернативно, это может быть осуществлено путем генетического реинжиниринга посредством использования инфекционного клона, обычно полноразмерной комплементарной ДНК-транскрипцией вирусного генома (WO 98/18933, EP 1 018 557, WO 03/062407, Nielsen et al., J Virol 2003, 77:3702-3711). Дополнительно, вирус может быть пассирован при неприродных физиологических условиях, которые включают, но ими не ограничиваются, модифицированную температуру, клетки из видов, не являющихся хозяевами, или в присутствии мутагенов.

Изобретение распространяется на штаммы пестивируса, которые получены из штаммов путем культивирования или размножения в идентичной или дивергентной форме, в частности, на потомков, которые обладают основными характеристиками депонированных штаммов. При продолжении размножения штаммы могут приобретать мутации, большинство из которых не будут существенно изменять свойства этих штаммов.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к получению и выделению потомства или потомка пестивируса SEQ ID NO:1 или 2. Изобретение также распространяется на штаммы пестивируса, которые получены из идентифицированных штаммов путем культивирования или размножения в идентичной или дивергентной форме, в частности, на потомков, которые обладают основными характеристиками идентифицированных штаммов. При продолжении размножения штаммы могут приобретать мутации,

большинство из которых не будут существенно изменять свойства этих штаммов.

Изоляты по изобретению также могут быть дополнительно модифицированы для придания им дополнительных желательных свойств. Это может быть достигнуто путем классических методов размножения и селекции, таких как непрерывная репродукция в подходящих клетках-хозяевах для расширения аттенуированного фенотипа. Альтернативно, изоляты могут быть генетически модифицированы путем направленной мутации последовательности нуклеиновой кислоты генома этих штаммов подходящими методами генной инженерии.

Рекомбинантные методы получения модифицированных последовательностей хорошо известны специалистам в данной области, и они обычно используют конструкцию полноразмерных комплементарных копий ДНК (инфекционных клонов) вирусного генома, которые затем могут быть модифицированы методами рекомбинантной ДНК и обработки (например, сайт-направленный мутагенез и тому подобное). Так, например, можно модифицировать антигенные сайты или ферментативные свойства вирусных белков.

Предпочтительно, изобретение охватывает последовательности нуклеиновой кислоты пестивируса, которые имеют по меньшей мере 95% гомологию с последовательностью SEQ ID NO:1 или SEQ ID NO:2, поскольку такие вирусы могут быть эффективными для индукции иммунитета у животных, вакцинированных аттенуированными вирусами, содержащими такие гомологичные последовательности. Последовательность, показанная в SEQ ID NO:1 или 2, представляет собой полноразмерную последовательность аттенуированного пестивируса и имеет полную длину последовательности, равную приблизительно 11550 оснований.

Пестивирусные штаммы по настоящему изобретению, подходящие для вакцин по изобретению, можно выращивать и собирать способами, известными в данной области, например, путем репродукции в подходящих клетках-хозяевах.

В частности, вакцина, как указано в настоящем описании, представляет собой живую вакцину и/или модифицированную живую аттенуированную вакцину. Штаммы пестивируса по изобретению можно

выращивать и собирать способами, известными в данной области, например, путем репродукции в подходящих клетках. Модифицированные живые вакцины (MLV) обычно вводят в состав в количестве, обеспечивающем введение 10^1 - 10^7 вирусных частиц на дозу, предпочтительно, 10^3 - 10^6 частиц на дозу и, более предпочтительно, 10^4 - 10^6 частиц на дозу ($4,0$ - $6,0 \log_{10}$ TCID₅₀).

Вариант осуществления изобретения включает способ получения пестивирусной вакцины, включающий: (a) инокулирование клеток пестивирусом; (b) инкубацию инокулированных клеток; (c) сбор пестивируса из инкубированных клеток. В предпочтительном варианте осуществления способ включает пестивирус, содержащий последовательность, которая кодируется или содержит последовательность SEQ ID NO:1 или 2; последовательность, которая по меньшей мере на 99% идентична последовательности SEQ ID NO:1 или 2; белок, который кодируется последовательностями нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:1; и/или полипротеин, который кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO:2. Способ может дополнительно включать добавление адъюванта к пестивирусной вакцине, предпочтительно, адъювант представляет собой адъювант на основе эмульсии типа масло-в-воде EMULSIGEN®.

Другой вариант осуществления изобретения включает способ получения рекомбинантной вакцины, включающий: экспрессию одного или более антигенов пестивируса в клетке-хозяине; и сбор одного или нескольких антигенов пестивирусных клеток. В одном из таких вариантов осуществления способ может включать один или несколько антигенов, содержащих выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую антиген пестивирусного белка, где рекомбинантный пестивирусный полипептид по меньшей мере на 90% гомологичен SEQ ID NO:1 или 2; вектор, содержащий выделенную нуклеиновую кислоту а); рекомбинантный пестивирусный белок, кодируемый нуклеиновой кислотой а); и любую их комбинацию. В одном из примеров варианта осуществления один или несколько антигенов пестивируса экспрессированы рекомбинантным бакуловирусным вектором. Способ может включать один или несколько антигенов пестивируса,

экспрессируемых в клетках насекомых. Один из вариантов осуществления дополнительно включает добавление адъюванта к пестивирусной вакцине, предпочтительно, адъювант представляет собой адъювант на основе эмульсии типа масло-в-воде EMULSIGEN®.

Антитела или их связывающие части, получающиеся в результате применения пестивирусных пептидов по настоящему изобретению, могут использоваться для обнаружения в образце наличия пестивируса. Этот метод обнаружения включает стадии предоставления выделенного антитела или его связывающей части, полученного против пестивирусного пептида по изобретению, добавления к выделенному антителу или его связывающей части образца, предположительно содержащего некоторое количество пестивируса, и обнаружение наличия комплекса, содержащего выделенное антитело или его связывающую часть, связанную с пестивирусом.

Антитела или их связывающие части по настоящему изобретению также можно использовать для обнаружения наличия в образце пестивирусного пептида. Этот метод обнаружения включает стадии предоставления выделенного антитела или его связывающей части, полученного против пестивирусного пептида, добавления к выделенному антителу или его связывающей части образца, предположительно содержащего некоторое количество пестивирусного пептида, и обнаружение комплекса, содержащего выделенное антитело или его связывающую часть, связанную с пестивирусным пептидом.

Иммуноглобулины, в частности, антитела (и их функционально активные фрагменты), которые связывают специфическую молекулу, которая является членом пары связывания, могут быть использованы в качестве диагностических и прогностических агентов, как описано в настоящем описании. В различных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к исследованию члена пары связывания и применению таких исследований для клинического использования. Иммуноглобулины в настоящем изобретении могут быть использованы, например, при обнаружении антигена в биологическом образце, посредством чего испытуемые

могут быть исследованы на aberrантные уровни молекулы, с которой связывается иммуноглобулин, и/или на наличие патологических форм таких молекул. Под «патологическими уровнями» подразумевается увеличение или уменьшение относительно присутствующего уровня или стандартного уровня, представляющего присутствующий уровень, в аналогичном образце части организма или особи, не страдающей этим заболеванием. Антитела по настоящему изобретению также могут быть включены в качестве реагента в набор для использования в диагностическом или прогностическом методе.

В одном из аспектов антитело по изобретению, которое иммуноспецифически связывается с пестивирусным пептидом, может быть использовано для диагностики, прогнозирования или скрининга пестивирусной инфекции.

В другом аспекте изобретение относится к способу диагностики или скрининга на наличие пестивирусной инфекции или иммунитета к ней, включающему измерение у особи уровня иммуноспецифического связывания антитела с образцом, полученным от особи, у которой иммуноспецифическое антитело связывается с пестивирусным пептидом, где повышение уровня указанного иммуноспецифического связывания по сравнению с уровнем указанного иммуноспецифического связывания в аналогичном образце у особи без этого инфекционного агента заболевания, указывает на наличие пестивируса.

Примеры подходящих анализов для обнаружения пестивирусных пептидов или их антагонистов включают, но не ограничиваются ими, ELISA, радиоиммунологический анализ, гель-диффузионную реакцию преципитации, иммунодиффузионный анализ, анализ агглютинации, флуоресцентный иммуноанализ, иммуноанализ белка А или иммуноэлектрофоретический анализ.

Иммуноанализы для конкретной молекулы обычно включают инкубацию образца, такого как биологическая жидкость, тканевой экстракт, свежесобранные клетки или лизаты культивируемых клеток, в присутствии детектируемого меченого антитела и обнаружения связанного антитела любым из большого числа методик, хорошо известных в данной области.

Активность связывания заданного антитела может быть

определена в соответствии с известными способами. Специалисты в данной области смогут определить функциональные и оптимальные условия анализа для каждого определения, используя обычные эксперименты.

Дополнительный аспект настоящего изобретения относится к диагностическим наборам для обнаружения или количественного определения пестивируса. Представлены наборы для диагностического применения, которые содержат один или несколько контейнеров антител против пестивирусных пептидов и, необязательно, меченый связывающий партнер антитела. Альтернативно, антитело против пестивирусного пептида может быть меченым (детектируемым маркером, например, хемилюминесцентным, ферментативным, флуоресцентным или радиоактивным агентом). Соответственно, настоящее изобретение относится к диагностическому набору, содержащему антитело против пестивирусного пептида и контрольный иммуноглобулин. В конкретном варианте осуществления одно из вышеуказанных соединений контейнера может быть мечено с возможностью обнаружения. Набор может необязательно дополнительно содержать в контейнере заранее определенное количество пестивирусного пептида, распознаваемого антителом набора, для использования в качестве стандарта или контроля.

Еще один вариант осуществления изобретения включает набор для вакцинации беременной свиноматки или молодой свиньи против болезней, связанных с пестивирусом, включающий: дозатор, способный вводить вакцину беременной свиноматке или молодой свинье; и пестивирусную вакцину, как описано в настоящем описании.

Композиции могут, при желании, быть представлены в упаковке или дозаторном устройстве, которое может содержать одну или несколько лекарственных форм с однократной дозировкой, содержащих активный ингредиент. Упаковка может, например, содержать металлическую или пластиковую фольгу, такая как блистерная упаковка. Упаковка или дозаторное устройство могут сопровождаться инструкциями для введения, предпочтительно, для введения млекопитающему, особенно для введения свинье. В таком

контейнере (ах) может находиться указание в форме, предписанной правительственным агентством, регулирующим производство, применение или продажу фармацевтических препаратов или биологических продуктов, с информацией об одобрении этим агентом по производству, применению или продаже для введения людям.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют такое же значение, которое обычно понимается специалистом в области техники, к которой принадлежит это изобретение на момент подачи. Смысл и область применения терминов должен быть ясным; однако в случае любой скрытой двусмысленности, определения, приведенные в настоящем описании, важнее определений, приведенных в любом словаре или внешнем источнике. Кроме того, если иное не требуется в соответствии с контекстом, термины в единственном числе включают множественное число, а термины во множественном числе включают единственное число. В данном случае использование «или» означает «и/или», если не указано иное. Кроме того, использование термина «включая», а также других форм, таких как «включает» и «включено», не является ограничивающим. Все патенты и публикации, упомянутые в настоящем описании, включены в настоящее описание в качестве ссылки.

При практическом осуществлении настоящего изобретения будут использованы, если не указано иное, общепринятые методы молекулярной биологии, микробиологии, методы рекомбинантной ДНК, химии белка и иммунологии, которые находятся в компетенции специалистов в данной области. Такие методы подробно описаны в литературе. См., например, Sambrook, Fritsch & Maniatis, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Vols. I, II и III, второе издание (1989); *DNA Cloning*, Vols. I и II (D.N. Glover ed. 1985); *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait ed. 1984); *Nucleic Acid Hybridization* (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. 1984); *Animal Cell Culture* (R. K. Freshney ed. 1986); *Immobilized Cells and Enzymes* (IRL press, 1986); Perbal, B., *A Practical Guide to Molecular Cloning* (1984); the series, *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); *Protein purification methods - a practical approach*

(E.L.V. Harris and S. Angal, eds., IRL Press at Oxford University Press); и Handbook of Experimental Immunology, Vols. I-IV (D. M. Weir and C. C. Blackwell eds., 1986, Blackwell Scientific Publications).

Следует понимать, что это изобретение не ограничивается конкретной ДНК, полипептидные последовательности или параметры способа, как таковые, могут, разумеется, изменяться. Кроме того, следует учитывать, что терминология, используемая в настоящем описании, предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления изобретения и не предназначена для ограничения. Следует отметить, что использованное в настоящем описании и приложенной формуле изобретения, единственное число включает ссылку и на множественное число, если из контекста с очевидностью не следует обратное. Так, например, ссылка на «антиген» включает смесь двух или более антигенов, ссылка на «эксципиент» включает смеси двух или более эксципиентов и тому подобное.

«Иммуногенная или иммунологическая композиция или вакцина», используемые в настоящей заявке взаимозаменяемо, относятся к композиции вещества, которая содержит по меньшей мере один пестивирус по настоящему изобретению или его иммуногенную часть, которые вызывают иммунологический ответ в организме хозяина, клеточный или антитело-опосредованный иммунный ответ на композицию. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения иммуногенная композиция индуцирует иммунный ответ и, более предпочтительно, обеспечивает защитный иммунитет против одного или нескольких клинических симптомов инфекции СТ.

Используемый в настоящем описании «иммуногенный» или «антиген» относится к полипептиду или белку, которые вызывают иммунологический ответ, как описано в настоящем описании. К ним относятся клеточный и/или гуморальный иммунные ответы. В зависимости от предполагаемой функции композиции в нее могут быть введены один или несколько антигенов. «Иммуногенный» пестивирусный белок или полипептид включают полную последовательность любого из описанных в настоящем описании пестивирусов или аналогов или их иммуногенных фрагментов. Термин

«иммуногенный фрагмент» или «иммуногенная часть», используемые в настоящей заявке взаимозаменяемо, относятся к фрагменту или усеченной и/или замещенной форме пестивируса, которые включают один или несколько эпитопов и, таким образом, вызывают описанный в настоящем описании иммунологический ответ. В целом, такие усеченные и/или замещенные формы или фрагменты будут содержать по меньшей мере шесть смежных аминокислот полноразмерного пестивирусного белка. Более предпочтительно, усеченные или замещенные формы, или фрагменты будут иметь по меньшей мере 10, более предпочтительно, по меньшей мере, 15 и, еще более предпочтительно, по меньшей мере 19 смежных аминокислот полноразмерного пестивирусного белка. Такие фрагменты могут быть идентифицированы с использованием любого количества методик картирования эпитопов, хорошо известных в данной области. См., например, *Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66* (Glenn E. Morris, Ed., 1996) Humana Press, Totowa, New Jersey. Например, линейные эпитопы могут быть определены путем параллельного синтеза большого числа пептидов на твердых носителях, пептидов, соответствующих частям белковой молекулы, и взаимодействия пептидов с антителами, в то время как пептиды по-прежнему присоединены к носителям. Такие методики известны и описаны в данной области, см., например, патент США № 4708871; Geysen et al. (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:3998-4002; и Geysen et al. (1986) *Molec. Immunol.* 23:709-715. Аналогично, конформационные эпитопы можно легко идентифицировать путем определения пространственной конформации аминокислот, например, рентгеновской кристаллографией и двумерным ядерным магнитным резонансом. См. *Epitope Mapping Protocols*, выше. Синтетические антигены также включены в это определение, например, полиэпитопы, фланкирующие эпитопы и другие антигены, полученные рекомбинантными или синтетическими методами. См., например, Bergmann et al. (1993) *Eur. J. Immunol.* 23:2777-2781; Bergmann et al. (1996), *J. Immunol.* 157:3242-3249; Suhrbier, A. (1997), *Immunol. and Cell Biol.* 75:402-408; и Gardner et al., (1998) 12th World AIDS Conference, Geneva, Switzerland, June 28-July 3, 1998. (Описание и содержание которых включены в

настоящее описание в качестве ссылки).

Используемый в настоящем описании термин «вакцина» относится к фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере один иммунологически активный компонент, который индуцирует иммунологический ответ у животного и возможно, но не обязательно, один или несколько дополнительных компонентов, которые усиливают иммунологическую активность активного компонента. Вакцина может дополнительно содержать дополнительные компоненты, характерные для фармацевтических композиций. Как отличие, иммунологически активный компонент вакцины может содержать полноразмерные вирусные частицы либо в их первоначальной форме, либо в виде аттенуированных частиц в так называемой модифицированной живой вакцине (MLV) или в виде частиц, инактивированных подходящими способами, в так называемой инактивированной вакцине (KV). В другой форме иммунологически активный компонент вакцины может содержать соответствующие элементы организмов (субъединичные вакцины), где эти элементы образуются либо путем разрушения полноразмерной частицы или растущих культур, содержащих такие частицы, и, необязательно, путем последующих этапов очистки, дающих желаемую структуру(ы), либо путем синтетических процессов, включая соответствующие манипуляции с использованием подходящей системы, основанной, например, на бактериях, насекомых, млекопитающих или других видах, плюс, необязательно, путем последующих процедур выделения и очистки, или путем индукции синтетических процессов у животного, нуждающегося в вакцине, путем непосредственного введения генетического материала с использованием подходящих фармацевтических композиций (полинуклеотидная вакцинация). Вакцина может содержать один или одновременно более одного элементов, описанных выше. Используемый в настоящем описании термин «вакцина» представляет собой модифицированную живую аттенуированную вакцину для ветеринарного применения, включающую антигенные вещества, и она вводится с целью индукции специфического и активного иммунитета против заболевания, вызванного пестивирусной инфекцией. Инактивированный или аттенуированный пестивирус, в частности, инактивированный или

модифицированный аттенуированный пестивирус, как описано в настоящем описании, придает активный иммунитет, который может передаваться пассивно через материнские антитела против иммуногенов, которые содержит организм, а иногда и против антигенно-связанных организмов.

Используемые в настоящем описании термины «инактивированные» или «убитые» используются как синонимы. В данной области известны различные физические и химические способы инаktivации. Термин «инактивированный» относится к ранее вирулентному или невирулентному вирусу, или бактерии, которые были подвергнуты облучению (ультрафиолетовое (УФ), рентгеновское, электронно-лучевое или гамма-излучение), нагреты или химически обработаны для инаktivации, уничтожения, сохраняя при этом их иммуногенность. В одном из вариантов осуществления инактивированный вирус, описанный в настоящем описании, инаktivирован путем обработки инаktivирующим агентом. Подходящие инаktivирующие агенты включают бета-пропиолактон, бинарный или бета- или ацетил-этиленимин, глутаровый альдегид, озон и формалин (формальдегид).

При инаktivации формалином или формальдегидом формальдегид обычно смешивают с водой и метиловым спиртом для образования формалина. Добавление метилового спирта предотвращает деградацию или перекрестную реакцию во время процесса активации. В одном из вариантов осуществления используют 0,1-1% 37%-ного раствора формальдегида для инаktivации вируса или бактерии. Крайне важно подобрать количество формалина, которое гарантировало бы инаktivацию вещества, но, чтобы при этом не возникали побочные эффекты от высокой дозы.

Более предпочтительным способом инаktivации является использование этиленимина и соответствующих производных, таких как бинарный этиленимин (BEI) и ацетилэтиленимин, которые являются примерами подходящих химических инаktivирующих агентов для использования при инаktivации пестивируса. Другие химические инаktivирующие агенты, например, бета-пропиолактон, альдегиды (такие как формальдегид) и/или детергенты (например, детергент

TWEEN[®], TRITON[®] X или алкилтриметиламмониевые соли), также можно использовать для инактивации вируса. Инактивация может быть выполнена с помощью стандартных способов, известных специалистам в данной области. Образцы могут быть взяты с периодическим временным интервалом и проанализированы на наличие остаточного живого вируса. Мониторинг цитопатического эффекта на соответствующей клеточной линии и/или флуоресцентное окрашивание подходящим специфическим моноклональным или поликлональным антителом можно использовать для обнаружения остаточного живого вируса. Альтернативно, рост, контролируемый количественной ПЦР в реальном времени в сериях пассажей, может быть использован для определения наличия остаточного инфекционного вируса.

Инактивация с помощью BEI может быть осуществлена путем объединения маточного раствора BEI (например, раствора, образованного добавлением 0,1-0,2 М раствора гидробромида 2-бромэтиламина к 0,1-0,2 н водному раствору NaOH) с растворами вируса до конечной концентрации, равной приблизительно 1-5 мМ BEI. Инактивацию обычно проводят путем выдерживания смеси BEI-вирус при 35-40°C (например, при 37°C) при постоянном перемешивании в течение приблизительно 24-72 часов. Инактивацию вируса можно остановить путем добавления раствора тиосульфата натрия до конечной концентрации, превышающей концентрацию BEI (например, добавление тиосульфата натрия в объеме 17% от объема BEI для нейтрализации избытка BEI) с последующим перемешиванием.

Более конкретно, термин «инактивированный» в контексте вируса означает, что вирус неспособен к репликации *in vivo* или *in vitro* и, соответственно, термин «инактивированный» в контексте вируса означает, что вирус неспособен к размножению *in vivo* или *in vitro*. Например, термин «инактивированный» может относиться к вирусу, который был реплицирован *in vitro*, например, *in vitro*, а затем дезактивирован с помощью химических или физических средств так, что он больше не может реплицироваться. В другом примере термин «инактивированный» может относиться к вирусу, который был реплицирован, а затем дезактивирован с помощью химических или физических средств с

получением суспензии вируса, фрагментов или компонентов вируса, например, с получением раствора, который может использоваться в качестве компонента вакцины.

Термин «живая вакцина» относится к вакцине, содержащей живой, в частности, живой вирусный активный компонент.

«Субъединичная вакцина» может включать антигены, которые лучше всего стимулируют иммунную систему. В некоторых случаях в таких вакцинах используются белки Npro, капсида, Erns, E1, E2, NS2-3, геликазы, NS4B, NS5A и /или белок РНК-зависимой РНК-полимеразы (RdRp) пестивируса или эпитопы этих белков. Поскольку субъединичные вакцины содержат только существенные антигены, и не содержат все другие молекулы, которые составляют пестивирус, шансы неблагоприятных реакций на вакцину снижаются.

Субъединичные вакцины могут содержать от одного до 10 или более антигенов, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 антигенов. Специалистам в данной области будет понятно, как получить субъединичные вакцины. Например, молекулы антигена могут быть экспрессированы с использованием технологии рекомбинантной ДНК. Вакцины, полученные таким образом, называются «рекомбинантными субъединичными вакцинами».

«Фармацевтическая композиция» по существу состоит из одного или нескольких ингредиентов, способных модифицировать физиологические, например, иммунологические, функции организма, в который ее вводят, или организмов, обитающих в организме или на организме. Термин включает, но этим не ограничивается, антибиотики или противопаразитарные средства, а также другие компоненты, обычно используемые для достижения некоторых других показателей, таких как, но не ограничиваясь ими, характеристики обработки, стерильность, стабильность, возможность введения композиции энтеральным или парентеральным путями, такими как пероральный, интраназальный, внутривенный, внутримышечный, подкожный, внутрикожный или другой подходящий путь, толерантность после введения или свойства контролируемого высвобождения. Один из неограничивающих примеров такой фармацевтической композиции, исключительно для демонстрационных целей, может быть получен следующим образом: супернатант

клеточной культуры инфицированной клеточной культуры смешивают со стабилизатором (например, спермидином и/или бычьим сывороточным альбумином (BSA)), и смесь затем лиофилизируют или обезвоживают другими способами. Перед вакцинацией смесь затем регидратируют в водном (например, физиологическом растворе, забуференном фосфатом физиологическом растворе (PBS)) или неводном растворах (например, масляная эмульсия, адъювант на основе алюминия).

Используемый в настоящем описании термин «фармацевтический или ветеринарно приемлемый носитель» включает любые и все растворители, дисперсионные среды, покрытия, адъюванты, стабилизирующие агенты, разбавители, консерванты, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические агенты, агенты, замедляющие адсорбцию, и тому подобное. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления и особенно в тех, которые включают лиофилизованные иммуногенные композиции, стабилизирующие агенты для использования в настоящем изобретении включают стабилизаторы для лиофилизации или сушки вымораживанием.

В некоторых вариантах осуществления иммуногенная композиция по настоящему изобретению содержит адъювант. «Адъюванты», используемые в настоящем описании, могут включать гидроксид алюминия и фосфат алюминия, сапонины, например, Quil A, QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge MA), GPI-0100 (Galenica Pharmaceuticals, Inc., Birmingham, AL), эмульсию «масло-в-воде», эмульсию «вода-в-масле», эмульсию «вода-в-масле-в-воде». Эмульсия может быть основана, в частности, на легком жидком парафиновом масле (типа приведенном в Европейской Фармакопее); на изопреноидном масле, таком как сквалан или сквален; на масле, полученном в результате олигомеризации алкенов, в частности, изобутена или децена; на сложных эфирах кислот или спиртов, содержащих линейную алкильную группу, более конкретно, на растительных маслах, этилолеате, ди- (каприлат/капрат) пропиленгликоля, три- (каприлат/капрат) глицериле или диолеате пропиленгликоля; на сложных эфирах разветвленных жирных кислот или спиртов, в частности, сложных эфирах изостеариновой кислоты.

Масло используют в сочетании с эмульгаторами с образованием эмульсии. Предпочтительными эмульгаторами являются неионные поверхностно-активные вещества, в частности, сложные эфиры сорбитана, маннида (например, олеат ангидроманнитола), гликоля, полиглицерина, пропиленгликоля и олеиновой кислоты, изостеариновой, рицинолевой или гидроксистеариновой кислоты, которые необязательно являются этоксилированными, и полиоксипропилен-полиоксиэтиленовых сополимерных блоков, в частности, продуктов плуроника, особенно L121. См., Hunter et al., *The Theory and Practical Application of Adjuvants* (Ed. Stewart-Tull, D. E. S.), John Wiley and Sons, NY, pp. 51-94 (1995), и Todd et al., *Vaccine* 15:564-570 (1997). Типичными адъювантами являются эмульсия SPT, описанная на стр. 147 «*Vaccine Design, The Subunit and Adjuvant Approach*» под редакцией M. Powell and M. Newman, Plenum Press, 1995, и эмульсия MF59, описанная на стр. 183 этой же книги.

Другим примером адъюванта является соединение, выбранное из полимеров акриловой или метакриловой кислоты и сополимеров малеинового ангидрида и алкенильного производного. Преимущественными адъювантными соединениями являются полимеры акриловой или метакриловой кислоты, которые являются перекрестно-связанными, особенно с полиалкенильными эфирами сахаров или полиспиртов. Эти соединения известны под термином карбомер (Pharmurgia, том 8, № 2, июнь 1996). Специалисты в данной области также могут сослаться на патент США №2909462, в котором описаны такие акриловые полимеры, перекрестно-связанные с полигидроксилированным соединением, имеющим по меньшей мере 3 гидроксильные группы, предпочтительно, не более 8, причем атомы водорода по меньшей мере трех гидроксильных заменены на ненасыщенные алифатические радикалы, имеющие по меньшей мере 2 атома углерода. Предпочтительными радикалами являются радикалы, содержащие от 2 до 4 атомов углерода, например, винильные, аллильные и другие группы с этиленовыми двойными связями. Ненасыщенные радикалы могут сами содержать другие заместители, такие как метил. Особенно подходят продукты, продаваемые под названием карбопол (BF Goodrich, Огайо, США). Они являются

перекрестно-связанными с аллилсахарозой или с аллилпентаэритритом. Среди них можно упомянуть карбопол 974P, 934P и 971P. Наиболее предпочтительным является использование карбопола 971P. Среди сополимеров малеинового ангидрида и алкенильного производного представлены сополимеры ЕМА (Monsanto), которые являются сополимерами малеинового ангидрида и этилена. Растворение этих полимеров в воде дает раствор кислоты, который будет нейтрализован, предпочтительно, до физиологического рН, с получением адъювантного раствора, в который будет включена сама иммуногенная, иммунологическая или вакцинная композиция.

Другие подходящие адъюванты включают, но не ограничиваются ими, адъювантную систему RIBI (Ribi Inc.), блок-сополимер (CytRx, Atlanta GA), SAF-M (Chiron, Emeryville CA), монофосфорильный липид А, адъювант авридин липид-амин, термолабильный энтеротоксин из *E. coli* (рекомбинантный или полученный другим образом), холерный токсин, IMS 1314 или мурамилдипептид, или природные или рекомбинантные цитокины, или их аналоги или стимуляторы высвобождения эндогенных цитокинов, среди многих других.

Предполагается, что адъювант может быть добавлен в количестве от приблизительно 100 мкг до приблизительно 10 мг на дозу, предпочтительно, в количестве от приблизительно 100 мкг до приблизительно 10 мг на дозу, более предпочтительно, в количестве от приблизительно 500 мкг до приблизительно 5 мг на дозу, еще более предпочтительно, в количестве от приблизительно 750 мкг до приблизительно 2,5 мг на дозу и, наиболее предпочтительно, в количестве приблизительно 1 мг на дозу. Альтернативно, адъювант может быть в концентрации от около 0,01 до 50%, предпочтительно, в концентрации от около 2% до 30%, более предпочтительно, в концентрации от около 5% до 25%, еще более предпочтительно, в концентрации от около 7% до 22% и, наиболее предпочтительно, в концентрации от 10% до 20% по объему конечного продукта.

«Разбавители» могут включать воду, физиологический раствор, декстрозу, этанол, глицерин и тому подобное. Изотонические

агенты могут включать, среди прочих, хлорид натрия, декстрозу, маннит, сорбит и лактозу. Стабилизаторы включают альбумин и щелочные соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) и другие.

«Выделенный» означает преобразованный «рукой человека» из его природного состояния, т.е., если вещество является природным, то оно изменено или удалено из своей первоначальной среды или и то, и другое. Например, полинуклеотид или полипептид, естественно присутствующий в живом организме, не «выделен», но тот же полинуклеотид или полипептид, отделенный от сосуществующих веществ своего природного состояния является «выделенным», как этот термин используется в настоящем описании.

«Аттенуация» означает снижение вирулентности патогена. В настоящем изобретении аттенуированным вирусом является вирус, у которого вирулентность снижена так, что не вызывает клинических симптомов пестивирусной инфекции, но он способен индуцировать иммунный ответ у мишеневого млекопитающего, а также может означать, что клинические симптомы снижены при первичной заболеваемости или снижена тяжесть заболевания у животных, инфицированных инактивированным или аттенуированным пестивирусом, по сравнению с «контрольной группой» животных, инфицированных неаттенуированным пестивирусом дикого типа и не получающих инактивированный или аттенуированный вирус. В этом контексте термин «уменьшение/уменьшенный» означает уменьшение по меньшей мере на 10%, предпочтительно, на 25%, еще более предпочтительно, на 50%, еще более предпочтительно, на 60%, еще более предпочтительно, на 70%, еще более предпочтительно, на 80%, еще больше предпочтительно, на 90% и, наиболее предпочтительно, на 100% по сравнению с контрольной группой, как определено выше. Таким образом, инактивированный, аттенуированный и /или авирулентный пестивирусный изолят является изолятом, подходящим для включения в иммуногенную композицию, содержащую инактивированный или модифицированный живой пестивирус.

«Аттенуированный вирус» является жизнеспособным («живым») вирусом, в котором вирулентность инфекционного агента снижена, например, при пассировании вируса в определенной клеточной линии

или при генетической манипуляции вирусным геномом. Атенуация вируса имеет отношение к его вирулентности (патогенности), но не обязательно влияет на репликативную способность вируса. Атенуированный вирус по-прежнему может быть способен к репликации. Таким образом, это может быть штамм вируса, патогенность которого снижена, так что он будет индуцировать иммунный ответ, не вызывая конкретного заболевания. В контексте настоящего изобретения атенуированным вирусом может быть пестивирус, патогенность которого была уничтожена или уменьшена путем инактивации по меньшей мере одного гена или белка, вовлеченного в вирулентность. В настоящем изобретении «аттенуация» является синонимом «авирулентности». В этом контексте термин «уменьшение/уменьшенный» означает уменьшение патогенности по меньшей мере на 10%, предпочтительно, на 25%, еще более предпочтительно, на 50%, еще более предпочтительно, на 60%, еще более предпочтительно, на 70%, еще более предпочтительно, на 80%, еще более предпочтительно, на 90% и наиболее предпочтительно, на 100% по сравнению с контрольной группой.

«Модифицированный живой» означает, что вирулентность вируса была уменьшена любым из нескольких известных в данной области способов, таких как, но ими не ограничиваясь, повторный пассаж в клеточной культуре; принудительная адаптация к росту при нормальных ограниченных температурах; лечение химическими мутагенами для обеспечения большого количества мутаций и отбора по желаемым характеристикам; и делеция или вставка генов, используя технологию рДНК. Под термином «невирулентный» или «авирулентный» подразумевается, что модифицированный живой вирус демонстрирует снижение или отсутствие клинических симптомов инфекции при введении.

«Вирулентный» относится к способности пестивирусного изолята вызывать заболевание, связанное с пестивирусом. Вирулентность можно оценить, наблюдая прогрессирование болезни у животного. Примером «вирулентного» штамма пестивируса является пример штамма для экспериментального заражения, как описано и используется в настоящем изобретении.

«Авирулентный» относится к изолятам пестивируса, которые лишены вирулентности. То есть, авирулентные штаммы, изоляты или конструкции являются непатогенными и не способны вызвать заболевание. Используемый здесь термин «авирулентный» используется как синоним термина «невирулентный».

Используемые в данном описании термины «штамм» или «изолят» используются взаимозаменяемо.

Термин «пестивирус дикого типа», как используется в настоящем описании, в частности, относится к инфекционному патогенному пестивирусу, который, в частности, способен вызывать СТ у свиней и особенно у поросят. В одном из конкретных предпочтительных вариантов осуществления термин «вирус дикого типа» относится к пестивирусу, геном которого содержит последовательность РНК или состоит из полинуклеотида РНК, где указанная последовательность РНК или полинуклеотида РНК представляет собой РНК-копию полинуклеотида, содержащего SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 или 21. В некоторых вариантах осуществления пестивирус дикого типа содержит аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 или 22.

В настоящем описании «эффективная доза» означает, но не ограничивается этим, количество антигена, которое вызывает или способно вызывать иммунный ответ, приводящий к уменьшению клинических симптомов у животного, которому вводится антиген.

Используемый в настоящем описании термин «эффективное количество» означает, в контексте композиции, количество иммуногенной композиции, способной индуцировать иммунный ответ, который уменьшает заболеваемость или уменьшает тяжесть инфекции или частоту заболевания у животного. В частности, эффективное количество относится к титру, измеренному в культуре ткани при инфекционной дозе 50, или к единицам образования бляшек на дозу. Альтернативно, в контексте терапии термин «эффективное количество» относится к количеству терапевтического средства, которое является достаточным для снижения тяжести или облегчения течения или продолжительности заболевания или расстройства или одного или нескольких симптомов, препятствуя распространению

заболевания или расстройства, вызывая регрессию заболевания или расстройства, предотвращая повторение, развитие, начало или прогрессирование одного или нескольких симптомов, связанных с заболеванием или расстройством, или улучшает или усиливает профилактику или лечение с помощью другой терапии или терапевтического агента.

Используемый в настоящем описании термин «иммунореактивный к пестивирусу» означает, что пептид или фрагмент вызывает иммунологический ответ против пестивируса.

Термины «идентичность последовательности» или «процент идентичности» используются в настоящем описании взаимозаменяемо. Для целей настоящего изобретения в настоящем описании определено, что для установления процентной идентичности двух аминокислотных последовательностей или двух последовательностей нуклеиновой кислоты с целью оптимального сравнения последовательности выравнивают (например, пропуски могут быть введены в последовательности первой аминокислоты или нуклеиновой кислоты для оптимального выравнивания с последовательностью второй аминокислоты или нуклеиновой кислоты). Затем сравнивают аминокислотные или нуклеотидные остатки в соответствующих положениях аминокислот или нуклеотидов. Если положение в первой последовательности занято теми же аминокислотой или нуклеотидным остатком, что и соответствующее положение во второй последовательности, то молекулы в этом положении являются идентичными. Процент идентичности двух последовательностей является функцией количества идентичных положений, общих для последовательностей (то есть, $\% \text{ идентичности} = \frac{\text{количество одинаковых положений}}{\text{общее количество положений}}$ (т.е. перекрывающиеся положения) $\times 100$). Предпочтительно, две последовательности имеют одинаковую длину.

«Гомология последовательности», как используется в настоящем описании, относится к способу определения родства двух последовательностей. Для определения гомологии последовательностей, две или более последовательности оптимально выравнивают, и при необходимости в них вводят пробелы. Однако, в

отличие от «идентичности последовательности», консервативные аминокислотные замены считаются совпадением при определении гомологии последовательностей. Другими словами, для получения полипептида или полинуклеотида, имеющего 95%-ную гомологию последовательности с эталонной последовательностью, 85%, предпочтительно 90%, еще более предпочтительно, 95% аминокислотных остатков или нуклеотидов в эталонной последовательности должны соответствовать или содержать консервативную замену на другую аминокислоту или нуклеотид, или некоторое количество аминокислот или нуклеотидов до 15%, предпочтительно, до 10%, еще более предпочтительно, до 5% от общего количества аминокислотных остатков или нуклеотидов, не включая консервативные замены, в эталонной последовательности, может быть встроено в эталонную последовательность. Предпочтительно, гомологичная последовательность содержит участок по меньшей мере с 50, еще более предпочтительно, со 100, еще более предпочтительно, с 250, еще более предпочтительно, с 500 нуклеотидами.

«Консервативная замена» относится к замене аминокислотного остатка другим аминокислотным остатком, имеющим сходные характеристики или свойства, включая размер, гидрофобность и тому подобное, так что общая функциональность существенно не изменяется.

Специалисту в данной области известно, что для определения гомологии между двумя последовательностями доступно несколько различных компьютерных программ. Например, сравнение последовательностей и определение процентной идентичности между двумя последовательностями может быть выполнено с использованием математического алгоритма. В предпочтительном варианте осуществления процент идентичности между двумя аминокислотными или нуклеотидными последовательностями определяют с использованием алгоритма Needleman and Wunsch (J. Mol. Biol. (48): 444-453 (1970)), который был включен в программу GAP в программном пакете Accelrys GCG (см. www.accelrys.com/products/gcg), используя либо матрицу Blosum 62, либо матрицу PAM250, и штраф за пропуск 16, 14, 12, 10, 8, 6

или 4, и штраф за продолжение пропуска 1, 2, 3, 4, 5 или 6. Специалисту в данной области будет понятно, что все эти различные параметры дадут несколько отличные результаты, но общая процентная идентичность двух последовательностей существенно не изменится при использовании разных алгоритмов.

Сравнение последовательностей может проводиться по всей длине двух последовательностей, которые сравниваются, или по длине фрагмента двух последовательностей. Как правило, сравнение будет проводиться по всей длине двух сравниваемых последовательностей. Однако идентичность последовательности может быть проведена в области, например, двадцать, пятьдесят, сто или более смежных аминокислотных остатков.

«Идентичность последовательности», как известно в данной области, относится к взаимосвязи между двумя или более полипептидными последовательностями или двумя или более полинуклеотидными последовательностями, а именно: ссылочной последовательности и заданной последовательности, которая должна сравниваться со ссылочной последовательностью. Идентичность последовательности определяется путем сравнения данной последовательности со ссылочной последовательностью после того, как последовательности были оптимально выровнены, чтобы обеспечить наивысшую степень сходства последовательностей, как определено совпадением строк таких последовательностей. При таком выравнивании идентичность последовательности определяется на основании «положения по отношению к положению», например, последовательности «идентичны» в конкретном положении, если в этом положении нуклеотиды или аминокислотные остатки идентичны. Общее число таких идентичных положений затем делится на общее число нуклеотидов или остатков в ссылочной последовательности для получения % идентичности последовательностей. Идентичность последовательностей может быть легко рассчитана известными способами, включая, но не ограничиваясь, такими, которые описаны в *Computational Molecular Biology*, Lesk, A. N., ed., Oxford University Press, New York (1988), *Biocomputing: Informatics and Genome Projects*, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York (1993); *Computer Analysis of Sequence Data, Part I*, Griffin,

A.M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey (1994); Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinge, G., Academic Press (1987); Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M. Stockton Press, New York (1991); и Carillo, H., and Lipman, D., SIAM J. Applied Math., 48: 1073 (1988), описания которых включены в настоящий документ в качестве ссылки. Предпочтительные способы определения идентичности последовательностей предназначены для обеспечения наибольшего соответствия между исследованными последовательностями. Способы определения идентичности последовательностей зашифрованы в общедоступных компьютерных программах, которые определяют идентичность последовательностей между заданными последовательностями. Примеры таких программ включают, но этим не ограничиваются, пакет программ GCG (Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research, 12(1):387 (1984)), BLASTP, BLASTN and FASTA (Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215:403-410 (1990)). Программа BLASTX общедоступна от NCBI и других источников (BLAST Manual, Altschul, S. et al., NCVI NLM NIH Bethesda, MD 20894, Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215: 403-410 (1990), содержание которых включено в настоящее описание в качестве ссылки). Эти программы оптимально выравнивают последовательности, используя штрафы за делецию по умолчанию для того, чтобы получить высокий уровень идентичности последовательностей между заданной и эталонной последовательностями. В качестве иллюстрации полинуклеотида, имеющего нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере, 95%, например, по меньшей мере 96%, 97%, 98%, 99% или 100% «идентичность последовательности» со ссылочной нуклеотидной последовательностью, предполагается, что нуклеотидная последовательность заданного полинуклеотида идентична ссылочной последовательности, за исключением того, что заданная полинуклеотидная последовательность может включать до 5, 4, 3, 2, 1 или 0 точечных мутаций на каждые 100 нуклеотидов ссылочной нуклеотидной последовательности. Другими словами, в полинуклеотиде, имеющем нуклеотидную последовательность по меньшей мере с 95%-ной, например, по меньшей мере с 96%, 97%,

98%, 99% или 100%-ной идентичностью последовательности относительно эталонной нуклеотидной последовательности, до 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или 0% нуклеотидов в эталонной последовательности могут быть удалены или заменены другим нуклеотидом, или некоторое количество нуклеотидов до 5%, 4%, 3%, 2% 1% или 0% от общего количества нуклеотидов в эталонной последовательности могут быть встроены в эталонную последовательность. Эти мутации ссылочной последовательности могут встречаться в 5'- или 3'-концевых положениях эталонной нуклеотидной последовательности или в любом месте между этими конечными положениями, расположенные либо индивидуально среди нуклеотидов в эталонной последовательности, либо в одной или нескольких соседних группах в эталонной последовательности. Аналогично, касательно полипептида, имеющего заданную аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере, например, на 95%, например, по меньшей мере на 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична эталонной аминокислотной последовательности, предполагается, что заданная аминокислотная последовательность полипептида идентична эталонной последовательности, за исключением того, что заданная полипептидная последовательность может включать до 5, 4, 3, 2, 1 или 0 аминокислотных изменений на каждые 100 аминокислот эталонной аминокислотной последовательности. Другими словами, для получения заданной полипептидной последовательности, которая по меньшей мере на 95%, например, по меньшей мере на 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична по последовательности ссылочной аминокислотной последовательности, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или 0%, включительно, аминокислотных остатков в ссылочной последовательности могут быть удалены или замещены другой аминокислотой или количество аминокислот, равное 5%, 4%, 3% 2%, 1% или 0%, включительно, от общего числа аминокислотных остатков в ссылочной последовательности может быть встроены в ссылочную последовательность. Эти изменения эталонной последовательности могут происходить в аминокислотных или карбокси концевых положениях эталонной аминокислотной последовательности или где-нибудь между этими конечными положениями, расположенными либо по

отдельности среди остатков в эталонной последовательности, либо в одной или более соседних группах в эталонной последовательности. Предпочтительно, положения остатков, которые не идентичны, отличаются консервативными аминокислотными заменами. Однако консервативные замены не включаются как соответствие при определении идентичности последовательности.

Термин «мутация» в контексте изобретения понимается как изменение геномной последовательности, в частности, в последовательности РНК пестивируса. Поскольку вирусы, которые используют РНК в качестве своего генетического материала, обладают быстрой скоростью мутаций, термин «мутация», как указано в настоящем описании, в частности, относится к генетически модифицированному изменению геномной последовательности, такому как клонирование, принудительная рекомбинация, рост в присутствии мутагенов или другие способы, используемые для экспериментального изменения генома, которые, в частности, приводят к тому, что вирус, растущий до титров, значительно ниже, чем пестивирус дикого типа в инфицированном хозяине, при распространении в тех же условиях. Кроме того, в другом предпочтительном варианте осуществления мутация, описанная в настоящем описании, также может быть природной мутацией и вызвана последующим выделением пестивируса по изобретению, где указанный выделенный вирус включает описанную в настоящем описании мутацию.

Последовательности белка или последовательности нуклеиновых кислот по настоящему изобретению могут быть дополнительно использованы как «искомая последовательность» для выполнения поиска в публичных базах данных, например, для идентификации других членов семейства или связанных последовательностей. Такой поиск может быть выполнен с использованием программ BLASTN и BLASTP (версия 2.0) Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10. Поиск белка BLAST может быть выполнен программой BLASTP, штраф=50, длина слова=3 с получением аминокислотных последовательностей, гомологичных молекулам белка по изобретению. Для получения выравнивания с пробелами для целей сравнения, можно использоваться Gapped BLAST, как описано в

Altschul et al. (1997) *Nucleic Acids Res.* 25(17): 3389–3402. При использовании программ BLAST и Gapped BLAST можно использовать параметры по умолчанию для соответствующих программ (например, BLASTP и BLASTN). См. домашнюю страницу National Center for Biotechnology Information at www.ncbi.nlm.nih.gov.

Термин «вектор», как известно в данной области, относится к полинуклеотидной конструкции, обычно к плазмиде или вирусу, которая используется для передачи генетического материала в клетку-хозяина. Векторами могут быть, например, вирусы, плазмиды, космиды или фаг. Используемый в настоящем описании вектор может состоять либо из ДНК, либо из РНК. В некоторых вариантах осуществления вектор состоит из ДНК. «Вектор экспрессии» представляет собой вектор, который способен направлять экспрессию белка, кодируемого одним или несколькими генами, переносимыми этим вектором, если он находится в соответствующем окружении. Предпочтительно, векторы способны к автономной репликации. Обычно вектор экспрессии содержит промотор транскрипции, ген и терминатор транскрипции. Экспрессия гена обычно находится под контролем промотора, а ген, как говорят, «функционально связан с» этим промотором.

Как используется в настоящем описании термин «функционально связанный» используется для описания связи между регуляторными элементами и геном или его кодирующей областью. Как правило, экспрессия гена находится под контролем одного или нескольких регуляторных элементов, например, но ими не ограничиваясь, конститутивных или индуцируемых промоторов, ткане-специфических регуляторных элементов и энхансеров. Говорят, что ген или кодирующая область «функционально связаны с» регуляторными элементами, что означает, что ген или кодирующая область контролируется или зависит от регуляторного элемента. Например, промотор функционально связан с кодирующей последовательностью, если промотор осуществляет транскрипцию или экспрессию кодирующей последовательности.

Как используется в настоящем описании, термин «конструкция» относится к рекомбинантной нуклеиновой кислоте, которая была создана для экспрессии специфической нуклеотидной

последовательности(ей), или которая должна использоваться при конструировании других рекомбинантных нуклеотидных последовательностей.

Векторы и способы получения и/или использования векторов (или рекомбинантных вариантов) для экспрессии могут быть или аналогичны способам, раскрытым в следующих патентах: патенты США №№ 4603112, 4769330, 5174993, 5505941, 5338683, 5494807, 4722848, 5942235, 5364773, 5762938, 5770212, 5942235, 382425, публикациях WO 94/16716, WO 96/39491, WO 95/30018; Paoletti, «Applications of pox virus vectors to vaccination: An update», Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 11349-11353, October 1996; Moss, «Genetically engineered poxviruses for recombinant gene expression, vaccination, and safety», Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 11341-11348, October 1996; Smith et al., U.S. Patent No. 4,745,051 (recombinant baculovirus); Richardson, C. D. (Editor), Methods in Molecular Biology 39, «Baculovirus Expression Protocols» (1995 Humana Press Inc.); Smith et al., «Production of Human Beta Interferon in Insect Cells Infected with a Baculovirus Expression Vector», Molecular and Cellular Biology, December, 1983, Vol. 3, No. 12, p. 2156-2165; Pennock et al., «Strong and Regulated Expression of Escherichia coli B-Galactosidase in Infect Cells with a Baculovirus vector», «Molecular and Cellular Biology March 1984, Vol. 4, No. 3, p. 406; ЕРА0 370 573; заявка США № 920197, поданная 16 октября 1986; европейская патентная заявка № 265785; патент США № 4769331 (рекомбинантные вирус герпеса); Roizman, «The function of herpes simplex virus genes: A primer for genetic engineering of novel vectors», Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:11307-11312, октябрь 1996; Andreansky et al., «The application of genetically engineered herpes simplex viruses to the treatment of experimental brain tumors», Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 11313-11318, октябрь 1996; Robertson et al., «Epstein-Barr virus vectors for gene delivery to B lymphocytes», Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 11334-11340, октябрь 1996; Frolov et al., «Alphavirus-based expression vectors: Strategies and applications», Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 11371-11377, 1996;

Kitson et al., J. Virol. 65, 3068-3075, 1991; патенты США 5593939, 5552143; WO 98/00166; принятые заявки США №№ 08/675556 и 08/675566, обе поданы 3 июля 1996 (рекомбинантный аденовирус); Grunhaus et al., 1992, «Adenovirus as cloning vectors», Seminars in Virology 3:237-52, 1993; Ballay et al. EMBO Journal 4:3861-65, Graham, Tibtech 8:85-87, 1990; Prevec et al., J. Gen Virol. 70:429-34; PCT WO 91/11525; Felgner et al. (1994), J. Biol. Chem. 269, 2550-2561, Science 259:1745-49, 1993; и McClements et al., «Immunization with DNA vaccines encoding glycoprotein D or glycoprotein B, alone or in combination, induces protective immunity in animal models of herpes simplex virus-2 disease», Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:11414-11420, 1996; и патенты №№ 5591639, 5589466 и 5580859, а также WO 90/11092, WO93/19183, WO94/21797, WO95/11307, WO95/20660; Tang et al., Nature, and Furth et al., Analytical Biochemistry, relating to DNA expression vectors, помимо прочих. См. также WO 98/33510; Ju et al., Diabetologia, 41: 736-739, 1998 (лентивирусная экспрессионная система); Sanford et al., патент США № 4945050; Fischbacht et al. (Intracel); WO 90/01543; Robinson et al., Seminars in Immunology vol. 9, pp. 271-283 (1997), (векторные системы на основе ДНК); Szoka et al., патент США № 4394448 (способ введения ДНК в живые клетки); McCormick et al., патент США № 5677178 (применение цитопатических вирусов); и патент США № 5928913 (векторы для доставки генов); а также другие документы, цитированные в настоящем описании.

Используемые в настоящем описании термины «нуклеиновая кислота» и «полинуклеотид» взаимозаменяемы и относятся к любой нуклеиновой кислоте. Термины «нуклеиновая кислота» и «полинуклеотид» также конкретно включают нуклеиновые кислоты, состоящие из оснований, отличных от пяти биологически встречающихся оснований (аденин, гуанин, тимин, цитозин и урацил).

Термины «регуляторный элемент» и «элемент контроля экспрессии» используются взаимозаменяемо и относятся к молекулам нуклеиновой кислоты, которые могут влиять на экспрессию функционально связанной кодирующей последовательности в

конкретном организме-хозяине. Эти термины широко используются и охватывают все элементы, которые способствуют или регулируют транскрипцию, включая промоторы, основные элементы, необходимые для основного взаимодействия РНК-полимеразы и факторов транскрипции, расположенных в направлении 3'-5' элементов, энхансеров и элементов ответа. Характерные регуляторные элементы в прокариотах включают промоторы, последовательности операторов и сайты связывания рибосом. Регуляторные элементы, которые используются в эукариотических клетках, могут включать, но ими не ограничиваются, транскрипционные и трансляционные контрольные последовательности, такие как промоторы, энхансеры, сигналы сплайсинга, сигналы полиаденилирования, терминаторы, сигналы деградации белка, участок внутренней посадки рибосомы (IRES), последовательности 2A и тому подобное, которые обеспечивают и/или регулируют экспрессию кодирующей последовательности и/или продукцию кодированного полипептида в клетке-хозяине.

Используемый в настоящем описании термин «промотор» представляет собой нуклеотидную последовательность, которая обеспечивает связывание РНК-полимеразы и направляет транскрипцию гена. Как правило, промотор расположен в 5'-некодирующей области гена, проксимальной к месту начала транскрипции гена. Элементы последовательности внутри промоторов, которые функционируют при иницировании транскрипции, часто характеризуются консенсус-нуклеотидными последовательностями. Примеры промоторов включают, но не ограничиваются ими, промоторы из бактерий, дрожжей, растений, вирусов и млекопитающих (включая людей). Промотор может быть индуцибельным, репресслируемым и/или конститутивным. Индуцируемые промоторы иницируют повышенные уровни транскрипции из ДНК под их контролем в ответ на некоторое изменение культуральных условий, такое как изменение температуры.

Как используется в настоящем описании, термин «энхансер» относится к типу регуляторного элемента, который может повысить эффективность транскрипции, независимо от расстояния или ориентации энхансера относительно исходного сайта транскрипции.

Получение вирусного вектора может быть осуществлено с использованием любых подходящих способов геной инженерии,

хорошо известных в данной области, включая, но ими не ограничиваясь, стандартные методы рестрикционного расщепления эндонуклеазой, лигирование, трансформацию, плазмидную очистку и секвенирование ДНК, например, как описано в Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y. (1989)).

Вирусный вектор может включать последовательности генома любого известного организма. Последовательности могут быть включены в их нативной форме или могут быть любым образом модифицированы для получения желаемой активности. Например, последовательности могут содержать вставки, делеции или замены.

Вирусный вектор может включать кодирующие области для двух или более представляющих интерес белков. Например, вирусный вектор может включать кодирующую область для первого представляющего интерес белка и кодирующую область для второго представляющего интерес белка. Первый представляющий интерес белок и второй представляющий интерес белок могут быть одинаковыми или разными. В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор может включать кодирующую(ие) область(и) для третьего или четвертого представляющего интерес белка. Третий и четвертый представляющие интерес белки могут быть одинаковыми или разными. Общая длина двух или более представляющих интерес белков, кодируемых одним вирусным вектором, может изменяться. Например, общая длина двух или более белков может составлять по меньшей мере около 400 аминокислот, по меньшей мере около 450 аминокислот, по меньшей мере около 500 аминокислот, по меньшей мере около 550 аминокислот, по меньшей мере около 600 аминокислот, по меньшей мере около 650 аминокислот, по меньшей мере около 700 аминокислот, по меньшей мере около 750 аминокислот, по меньшей мере около 800 аминокислот или более.

Предпочтительные вирусные векторы включают бакуловирус, такой как BaculoGold (BD Biosciences Pharmingen, San Diego, CA), в частности, при условии, что продуцирующими клетками являются клетки насекомых. Хотя бакуловирусная система экспрессии является предпочтительной, специалистам в данной области будет понятно, что другие системы экспрессии будут эффективны для

целей настоящего изобретения, а именно экспрессия E или E_{rns} в супернатанте клеточной культуры. Для таких других систем экспрессии могут потребоваться сигнальная последовательность для индукции экспрессии E или E_{rns} в среду.

Термин «геногруппа», как известно в данной области, относится к связанным вирусам в пределах рода; которые могут быть дополнительно подразделены на генетические кластеры. Идентифицированные геногруппы рода пестивируса включают вирус пограничной болезни овец, вирус бычьей диареи 1 (BVD-1), BVD-2, вирус классической свинной лихорадки и другие неклассифицированные пестивирусы.

Термин «филогенетическая ветвь» или «клада», как известно в данной области, относится к группе, состоящей из предка и всех его потомков, единственной «ветви» в филогенетическом дереве. Предком может быть, например, особь, популяция или вид. Геногруппа может включать несколько клад.

«Иммунный ответ» или «иммунологический ответ» означает, но не ограничивается этим, развитие клеточного и/или антителоопосредованного иммунного ответа на представляющую интерес композицию или вакцину. Обычно иммунный или иммунологический ответ включает (но не ограничивается этим) один или несколько следующих эффектов: продукцию или активацию антител, В-клеток, хелперных Т-клеток, супрессорных Т-клеток и/или цитотоксических Т-клеток, специфически направленных на антиген или антигены, включенные в композицию или интересующую вакцину. Предпочтительно, хозяин будет проявлять либо терапевтический, либо защитный иммунологический (память) ответ, благодаря чему повышается устойчивость к новой инфекции и/или уменьшается клиническая тяжесть заболевания. Такая защита будет продемонстрирована либо снижением числа симптомов, тяжести симптомов, либо отсутствием одного или нескольких симптомов, связанных с инфекцией, вызываемой патогеном, задержкой начала виремии, снижением вирусной персистенции, снижением общей вирусной нагрузки и/или снижением экскреции вируса.

В настоящем описании «специфически иммунореактивный» относится к иммунореактивному белку или полипептиду, которые

распознают антиген, характерный для пестивируса или инфекции СТ, но не взаимодействуют с антигеном, характерным для строго контроля заражения.

«Защита от болезней», «защитный иммунитет», «функциональный иммунитет» и аналогичные фразы означает ответ на заболевание или состояние, вызванное введением одной или нескольких терапевтических композиций по изобретению, или их сочетания, что приводит к меньшему количеству побочных эффектов, чем могло бы ожидаться у неиммунизированной особи, которая подвержена болезни или инфекции. То есть, тяжесть побочных эффектов инфекции уменьшается у вакцинированной особи. У вакцинированной особи инфекция может быть уменьшена, замедлена или, возможно, полностью предотвращена. В настоящем описании, если подразумевается полная профилактика инфекции, то это конкретно указано. Если полная профилактика не указана, то термин включает частичную профилактику.

При этом «снижение частоты и/или тяжести клинических признаков» или «снижение клинических симптомов» означает, но этим не ограничивается, уменьшение числа инфицированных особей в группе, уменьшение количества особей, проявляющих клинические симптомы инфекции, или их исчезновение, или уменьшение тяжести любых клинических симптомов, которые присутствуют у одной или нескольких особей, по сравнению с инфекцией дикого типа. Например, это должно касаться любого уменьшения патогенной нагрузки, уменьшения количества патогенов, снижения передачи патогенов или уменьшения любого клинического симптома, характерного для СТ. Предпочтительно, эти клинические симптомы уменьшаются у одной или более особей, получающих терапевтическую композицию по настоящему изобретению, по меньшей мере на 10% по сравнению с особями, не получающими композицию, и которые становятся инфицированными. Более предпочтительно, клинические симптомы снижаются у особей, получающих композицию по настоящему изобретению, по меньшей мере на 20%, предпочтительно, по меньшей мере на 30%, более предпочтительно, по меньшей мере на 40% и, еще более предпочтительно, по меньшей мере на 50%.

Термин «повышенная защита» в настоящем описании означает,

но не ограничивается этим, статистически значимое уменьшение одного или нескольких клинических симптомов, которые связаны с инфекцией инфекционным агентом, предпочтительно, пестивирусом, вызываемым СТ, соответственно, в вакцинированной группе особей по сравнению с невакцинированной контрольной группой особей. Термин «статистически значимое снижение клинических симптомов» означает, но не ограничивается этим, что частота распространенности по меньшей мере одного клинического симптома в вакцинированной группе особей по меньшей мере на 10%, предпочтительно, на 20%, более предпочтительно, на 30%, еще более предпочтительно, на 50% и, даже более предпочтительно, на 70% ниже, чем в невакцинированной контрольной группе после заражения инфекционным агентом.

«Долгосрочная защита» должна относиться к «улучшенной эффективности», которая сохраняется в течение по меньшей мере 3 недель, но, более предпочтительно, по меньшей мере 3 месяца, еще более предпочтительно, по меньшей мере 6 месяцев. В случае домашнего скота наиболее предпочтительно, чтобы длительная защита сохранялась до среднего возраста, при котором животных реализуют на рынке в пищу.

Как используется в настоящем описании, термин «виремия», в частности, понимают как состояние, при котором частицы пестивируса воспроизводятся и циркулируют в кровотоке животного, в частности, поросят.

Термин «снижение виремии», индуцированной пестивирусом, означает, но не ограничивается этим, сокращение пестивируса, проникающего в кровотоки животного, где уровень виремии, то есть количество копий пестивирусов на мл сыворотки крови или количество колоний, образующих бляшки, на децилитр сыворотки снижается в сыворотке особей, получающих композицию по настоящему изобретению, по меньшей мере на 50% по сравнению с особями, не получающими такую композицию, и которые становятся инфицированными. Более предпочтительно, уровень виремии снижается у особей, получающих композицию по настоящему изобретению, по меньшей мере, на 90%, предпочтительно, по меньшей мере на 99,9%, более предпочтительно, по меньшей мере на

99,99% и, еще более предпочтительно, по меньшей мере на 99,999%.

«Безопасность» относится к отсутствию неблагоприятных последствий у вакцинированного животного после вакцинации, включая, но этим не ограничиваясь: возможную реверсию вакцины на основе бактерий к вирулентности, клинически значимые побочные эффекты, такие как постоянная, системная болезнь или нежелательное воспаление на месте введения вакцины.

Термины «вакцинация» или «вакцинирование» или их варианты, используемые в настоящем описании, означают, но не ограничиваются ими, способ, который включает введение иммуногенной композиции по изобретению, которая при введении животному вызывает или способна вызывать, напрямую или косвенно, иммунный ответ у животного против пестивируса или СТ.

«Смертность» в контексте настоящего изобретения относится к смерти, вызванной пестивирусной инфекцией или СТ, и включает ситуацию, когда инфекция настолько сильная, что животное подвергают эвтаназии, чтобы предотвратить страдания и дать ему умереть.

Следующие примеры включены для демонстрации предпочтительных вариантов осуществления изобретения. Специалистам в данной области техники должно быть понятно, что способы, описанные в следующих ниже примерах, представляют собой методы, обнаруженные изобретателями, которые хорошо функционируют при практическом осуществлении изобретения и, таким образом, могут считаться предпочтительными при его практическом осуществлении. Однако специалистам в данной области будет, в свете настоящего описания, понятно, что может быть сделано большое число изменений в конкретных раскрытых вариантах осуществления и могут быть получены аналогичные или сходные результаты без отхода от сущности и объема изобретения.

ПРИМЕРЫ

ПРИМЕР 1

Цель исследования состояла в том, чтобы определить, можно ли воспроизвести клиническое заболевание у свиней, рожденных с помощью кесарева сечения (CDCD), используя гомогенат ткани, содержащий новый пестивирус по настоящему изобретению. В

частности, цель заключалась в воспроизведении виремии и колонизации тканей (как обнаружено с помощью кПЦР в реальном времени) у поросят CDCD после заражения сывороткой, содержащей новый пестивирус.

Уход за животными

Свиньей размещали в вивариях при VRI в Кембридже, IA, на протяжении всего исследования. Свиней вскармливали на коммерческом рационе (UltraCare Medicated, лот № 4Jun16), который соответствовал их размеру, возрасту и состоянию в соответствии с приемлемыми методами животноводства в данном регионе (были включены антибиотики). Вода была доступна ad libitum. Пол и место для корма удовлетворяли требованиям, изложенным в соглашении «Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching», третье издание, январь 2010.

Любое умирающее животное и животные, отказывающиеся от еды или питья, подвергались эвтаназии до даты вскрытия по усмотрению исследователя. Любое животное, которое погибло или было подвергнуто эвтаназии в течение всего периода исследования, вскрывалось ветеринаром. Все животные подвергались эвтаназии по завершению исследования, учитывались и утилизировались путем сжигания.

Организация эксперимента

Для данного биоанализа использовалось в общей сложности десять свиной CDCD. Свиньи были рандомизированы на две группы. Животным группы 1 (n=6) вводили посредством трех путей введения (интракраниально, интраназально и внутривенно) сыворотку, содержащую пестивирусы. Животных группы 2 (n=4) инокулировали аналогичным образом веществом плацебо, и они служили отрицательным контролем. Животные в каждой группе находились в отдельных комнатах. После заражения проводили ежедневный мониторинг клинических симптомов у свиной со дня заражения (D0) до D28. На протяжении всего исследования дважды в неделю определяли ректальную температуру. На протяжении всего исследования дважды в неделю собирали образцы сыворотки, фекалий и образцы из носа. Образцы подвергали скринингу на пестивирусную

РНК. Вес животных измеряли в D0 и во время вскрытия для оценки воздействия заражения на среднесуточный прирост. На D10, 14, 17, 21, 24 и 28 вскрывали одно животное из группы заражения. Решение о том, какое животное будет вскрыто, основывалось на обнаружении РНК пестивируса в сыворотке. На D17, 21, 24 и 28 эвтаназию подвергали одно животное из группы плацебо. Ткани и терминальную сыворотку, собранные во время вскрытия, подвергали скринингу на наличие РНК пестивируса посредством кПЦР в реальном времени (фиг.4).

Сыворотку NAC#20140530, животное номер 21-24, лот с 2815-105-2 по 2815-105-5, оттаивали при 37°C и объединяли. Объединенные сыворотки фильтровали через фильтр 0,2 мкм и разбавляли добавлением 6 мл сыворотки к 29 мл 1×буференного фосфатом физиологического раствора (Gibco номер в каталоге 10010-023, лот номер 1535358). Полученное вещество обозначали лот 2815-171-A и хранили при -70°C±10°C перед использованием (FreezerWorks id#466528). В день испытания вещество размораживали и сохраняли на льду в течение периода заражения. Три аликвоты по 2 мл хранили в качестве контрольных образцов при -70°C±10°C (FreezerWorks id#466044). Объединенное вещество сохраняли, но дополнительно не тестировали.

Таблица 1. Схема основных событий, DPC означает день после заражения

День исследования	День события
D0 (05 авг 14)	Заражение свиней - сбор образцов сыворотки, фекалий и мазка из носа перед заражением - измерение массы перед заражением
D2, 6, 9, 13, 16, 20, 23, 27	- сбор образцов сыворотки, фекалий и мазка из носа - ректальная температура
D10	- сбор сыворотки у всех имеющихся животных
D10, 14, 17, 21, 24, 28	Вскрытие 1 животного в день для зараженной группы

	<ul style="list-style-type: none"> - сбор крови у умирающего животного - измерение веса
D17, 21, 24, 28	<p>Вскрытие 1 животного в день для группы плацебо</p> <ul style="list-style-type: none"> - сбор крови у умирающего животного - измерение веса
D0-28	Ежедневные клинические наблюдения
TVD	<p>Поросят доставляют в VRI</p> <p>Оценка поросят</p>
DPC0	<p>Заражение поросят</p> <ul style="list-style-type: none"> - сбор образцов сыворотки, фекалий и мазка из носа перед заражением - измерение массы перед заражением
DPC1, 3, 5, 7	<ul style="list-style-type: none"> - сбор образцов сыворотки, фекалий и мазка из носа - ректальная температура - фотография или видеозапись в случае появления клинических симптомов
DPC 8-28	<ul style="list-style-type: none"> - сбор образцов сыворотки, фекалий и мазка из носа дважды в неделю - ректальная температура дважды в неделю
DPC0-28	Ежедневные клинические наблюдения
DPC3, 7, 10, 14, 21, 28	<p>Вскрытие</p> <ul style="list-style-type: none"> - сбор крови у умирающего животного - измерение веса

Заражение

Интраназальное заражение: на DPC0 исследователь вводил 2 мл вещества для заражения, 1 мл в каждую ноздрю, используя стерильный шприц. Это введение проводили перед анестезией животного.

Интракраниальное введение: на DPC0 исследователь анестезировал животных смесью кетамина, ксилазина и телазола. Свод черепа очищали и дезинфицировали. Для удаления участка кожи размером 4 мм из свода черепа использовали иглу для биопсии кожи (Miltex Instrument Company, Inc.). Через отверстие проводили

трепанацию свода черепа, используя ручную механическую дрель. Зараженное вещество вводили в головной мозг с помощью катетера калибром 20, длиной 1,88 дюймов (BD AngioCath, партия номер H3272). После инъекции инокулята в катетер вводили 0,5 мл 1×PBS для доставки инокулята. Разрез кожи закрывали одним швом.

Внутривенное заражение: после того, как поросят анестезировали, 2 мл вещества для заражения медленно вводили в ушную вену, используя стерильный катетер-бабочку и шприц.

Клинические наблюдения

После заражения проводили мониторинг поросят один раз в день на наличие клинических симптомов. Поскольку неизвестно, будут ли клинические признаки сходны с другими пестивирусами свиней (например, классическая чума свиней, вирус Bungowannah), то проводили мониторинг поросят на симптомы системной инфекции, а также на неврологические симптомы.

Сбор проб фекалий

Фекальный материал у поросят собирал исследователь. Образцы собирали на тампон (номер в каталоге Fisher 23-400-111), помещенный в пробирку фирмы Falcon. Образцы брали у животных, а не с пола. Материал переносили в день сбора, и образцы поддерживали при 2-8°C, если тестирование проводили в течение <24 часов после доставки, или поддерживали при -70°C ±10°C, если их проводили позднее.

Взятие мазков из носа

Мазки из носа у поросят собирал исследователь. Образцы собирали на тампон (номер в каталоге Fisher 23-400-111), помещенный в пробирку фирмы Falcon. Образцы собирали у животного, беря мазки из обеих ноздрей. Образцы помечали, указывая минимальный номер исследования, день исследования и идентификационный номер животного. Материал переносили в день сбора, и образцы поддерживали при 2-8°C, если тестирование проводили в течение <24 часов после доставки, или поддерживали при -70°C±10°C, если их проводили позднее.

Забор крови

В день сбора крови исследователь собирал от 4 до 15 мл

венозной цельной крови через переднюю полую вену у каждой свиньи, используя стерильную иглу VACCUTAINER® размером от 18-20gхот 1 дюйма (2,54 см) до 1,5 дюйма (3,81 см)®, держатель иглы VACCUTAINER® и 9 или 13 мл-овые пробирки для отделения сыворотки (SST). Сыворотку отделяли от тромба центрифугированием и декантировали в низкотемпературный флакон с завинчивающейся крышкой. Материал переносили в день сбора, и образцы поддерживали при 2-8°C, если тестирование проводили в течение <24 часов после доставки, или поддерживали при -70°C±10°C, если их проводили позднее.

Вскрытие

Общий осмотр: У каждого умирающего животного забирали кровь, подвергали эвтаназии, а затем ветеринар проводил вскрытие. Свиней отбирали для вскрытия на основе данных о вируемии (значение Ct <30), полученных за день до запланированного вскрытия. Поросят взвешивали во время вскрытия и регистрировали макроскопические повреждения.

Сбор крови у умирающего животного и обработка: Поросят глубоко анестезировали перед сбором крови. Кровь (приблизительно 5% массы тела) собирали в стерильные банки, бутылки или несколько пробирок SST и оставляли коагулироваться при комнатной температуре. Сыворотку отделяли от стутка центрифугированием и декантировали в стерильные бутылки. Образцы сыворотки поддерживали при 2-8°C, если тестирование проводили в течение <24 часов после доставки, или поддерживали при -70°C, если их проводили позднее.

Сбор образцов: Исследователь собирал фиксированные в формалине образцы тканей головного мозга (1/2 органа), мозжечка (1/2 органа), ствола мозга (1/2 органа), спинного мозга (6 секций), костного мозга (гистологический срез длинной кости), миндаины (1 срез), легких (1 срез добавочной доли легких или область с поражением), сердца (2 среза), селезенки (1 срез), почки (1 срез), печени (1 срез), лимфатического узла (трахеобронхиальный и брыжеечный), тонкой кишки (3 среза подвздошной кишки), толстой кишки (3 среза). Рекомендуется 1-

дюймовый гистологический срез легкого и 1-2-дюймовый срез кишечника, так чтобы сохранялось постоянное соотношение фиксированной ткани и формалина 1:10. Все фиксированные ткани помещали в один контейнер, содержащий 10% буферный раствор формалина. У каждого поросенка собирали образец секций в повторе, как перечислено выше, в отдельные упаковочные пакеты для центрифугирования.

Обработка ткани: Образцы перевозили в день сбора, и образцы поддерживали при 2-8°C, если тестирование проводили в течение <24 часов после доставки, или поддерживали при -70°C, если их проводили позднее. Фиксированные ткани содержали при комнатной температуре.

Измерение веса

Измерение веса поросят проводили на DPC0 в день вскрытия. Вес наносили на калибровочную шкалу и записывали по соответствующей форме, предоставляемой вивариумом. Показатели веса использовали для расчета среднего дневного прироста.

Тестирование образцов

ПЦР пестивируса проводили во всех образцах. Отобранные образцы подвергали скринингу на энтеровирус, свиной калицивирус, трансмиссивный вирус гастроэнтерита, *Escherichia coli*, *Salmonella* и/или *Clostridium sp.* или другие инфекционные агенты.

ПРИМЕР 2

Цели этого проекта состояли в том, чтобы: 1) обнаружить потенциальный(ые) патоген(ы) в образцах от поросят с врожденным тремором и 2) разработать модель инфекции для воспроизведения болезни. Используя следующее поколение секвенирования, у поросят с врожденным тремором был обнаружен дивергентный родственный пестивирус. Первоначально вирус был близкородственным с пестивирусом летучих мышей, но теперь он является близкородственным с новым свиным пестивирусом, информация о котором недавно была опубликована, условно названным атипичным свиным вирусом. Количественная ПЦР в реальном времени обнаружила вирус в образцах новорожденных поросят с врожденным тремором на двух разных фермах, но не обнаружила в образцах не пораженных

поросят той же фермы. Для выполнения второй задачи беременным свиноматкам инокулировали либо сывороткой, содержащей пестивирус, либо PBS (контроль) внутривенным и интраназальным путем одновременно с прямой инокуляцией эмбриональных амниотических пузырей с помощью ультразвуковой хирургической методики. Прививки проводили на 45 или 62 день беременности. Все свиноматки, которым инокулировали новый пестивирус, поросились поросятами, пораженными врожденным тремором, тогда как те, которым в качестве контроля инокулировали PBS, не были поражены. Степень тяжести тремора у каждого поросенка оценивали по видеороликам, сделанным в 0, 1 и 2 дни после рождения. Степень тремора оставалась относительно постоянной в течение от 0 до 2 дня после рождения для большинства поросят. Распространенность врожденного тремора в помете, инокулированном пестивирусом, изменялась от 57% (4 из 7 пораженных поросят) до 100% (10 из 10 пораженных поросят). Вирус последовательно обнаруживали с помощью ПЦР в тканях поросят с врожденным тремором, но он не был обнаружен у контрольных поросят. Образцы, положительные по данным ПЦР у более 90% поросят, включали ствол головного мозга (37 из 41), брыжеечный лимфатический узел (37 из 41), трахеобронхиальный лимфатический узел (37 из 41) и цельную кровь (19 из 20). Хотя первое описание врожденного тремора было сделано в 1922 году, это первый зарегистрированный помет с врожденным тремором после экспериментальной инокуляции дивергентным родственным свиным пестивирусом. Для лучшего понимания патофизиологии врожденного тремора, вызванного этим пестивирусом, необходимы исследования, изучающие механизм заболевания, эпидемиологию и диагностический анализ.

Секвенирование следующего поколения

Были получены разнообразные ткани свиней (сыворотка, головной мозг, мозжечок, спинной мозг, цереброспинальная жидкость (CSF) и/или легкое) из трех диагностических исследований СТ: легочная ткань от одного поросенка (ID 20130103); либо объединили мозговую ткань, либо объединили легочную ткань от шести поросят (ID 20120705); и CSF (n=2, ферма В), сыворотка (n=2, ферма А и В) и легкие (n=2; ферма А и В) из

шести разных поросят, происходящих из двух разных ферм (ID 2014016573). За исключением ткани легких из образца ID 20120705, во всех испытуемых образцах была обнаружена по меньшей мере частичная геномная последовательность пестивируса. Сыворотка и тканевые гомогенаты ресуспендировали в сбалансированном солевом растворе Хэнкса (Corning-Cellgro) и обогащали защищенными нуклеиновыми кислотами вирусных частиц путем ферментации комбинацией нуклеаз: РНКазой А (Invitrogen), ДНКазой Baseline Zero (Epicentre) и ДНКазой Turbo (Invitrogen). Вирусные нуклеиновые кислоты экстрагировали в соответствии с протоколом производителя, используя набор для крови Qiagen Viral RNA. После экстракции нуклеиновые кислоты затем обрабатывали ДНКазой Turbo для удаления ДНК хозяина или вероятной вирусной ДНК, таким образом дополнительно обогащая вирусной РНК. Двухцепочечную кДНК получали посредством обратной транскрипции и обработкой Кленова (NEB), используя прайминг со случайными гексамерами.

Образцы обрабатывали для секвенирования на основе MiSeq посредством создания библиотеки с использованием набора для подготовки библиотеки NextEra XT (Illumina) в соответствии с предлагаемым протоколом изготовителя, заменяя колоночное элюирование (Qiagen, MinElute) на нормализацию бусами. Библиотеку пускали на MiSeq, используя набор с 500 циклами (Illumina), и данные анализировали, используя комбинацию NextGene (версия 2.3.4.2) и программное обеспечение Sequencher (версия 5.1). Выбирали последовательности высокого качества как последовательности, которые содержат медианный критерием Q более 25, и обрезали с отсечением не более 3 непривлеченных оснований на 3'-конце или 3-последовательных оснований с критерием Q, с оценкой менее 16. Последовательности, собранные de novo, анализировали путем сравнения с последовательностью из GenBank с помощью BLASTn и BLASTx. Выравнивание ClustalW использовали для филогенетического анализа 215 аминокислотной последовательности гена NS3 и 170 аминокислотной последовательности гена Npro. Соседние филогенетические деревья были созданы из 1000 реплик с использованием программного обеспечения MEGA 6.0.

Количественная полимеразная цепная реакция в реальном

времени (ОТ-кПЦР)

Была разработана ОТ-кПЦР, нацеленная на область NS3 генома дивергентного пестивируса. Образцы тканей (n=362) растущих свиней, которые были представлены в State University Veterinary Diagnostic Laboratory (ISU VDL) для рутинного диагностического тестирования, использовали для определения количества пестивируса в этом наборе образцов. Два набора образцов также собирали с ферм с врожденным тремором. Эти образцы включали сыворотку, головной мозг, мозжечок, ствол мозга и спинной мозг. Первый набор (ферма А) состоял из 6 пораженных и 2 непораженных вскормленных на грудном молоке поросят, сыворотки из пяти свиноматок, из которых были отобраны вскормленные на грудном молоке поросята, а также 5 пораженных и 2 непораженных поросят в возрасте от 6 до 14 дней. Второй набор (ферма В: ISUVDL2014016573) состоял из 5 пораженных свиней с неизвестным статусом вскармливания и сыворотки от пяти свиноматок с пораженными поросятами.

Набор для количественного одностадийного RT-PCR (набор One-Step Kit iTaq Universal, BioRad, № 172-5141) использовали в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 2 мкл экстрагированной общей нуклеиновой кислоты, 1,0 мкл зонда (2 мкМ), 1 мкл каждого праймера (5 мкМ), 12,5 мкл смеси 2×RT-PCR, 0,5 мкл обратной транскриптазы iScript и 7,0 мкл воды, обработанной DEPC (таблица 2). Реакцию проводили с использованием системы детекции PCR в режиме реального времени CFX96 (BioRad) при следующих условиях: начальная обратная транскрипция при 50°C в течение 10 минут с последующей начальной денатурацией при 95°C в течение 3 мин, 40 циклов денатурации при 95°C в течение 15 с и отжигом и удлинением при 57°C в течение 30 с. Для получения количественных показателей пестивирусный ультрамер включали в каждый прогон (Integrated DNA Technologies), включая область NS3, нацеленный на праймеры. Отсечение для положительных образцов было установлено при значениях количественного определения цикла (Cq) ниже 36.

Таблица 2. Праймер, зонд и ультрамерные последовательности для ПЦР в реальном времени

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

Модель инокуляции свиноматок

Животные

Все процедуры были одобрены the Institutional Animal Care and Use Committee of Iowa State University (Log Number: 1-14-7907-S 2). Восемь индивидуально идентифицированных кросс-бредных свиноматок на 38-й день беременности получали из коммерческого источника без СТ в анамнезе. Сыворотка от всех свиноматок была отрицательной на PCV2a, PCV2b, PRRSV, PPV1, PPV5 и новый пестивирус ОТ-кПЦР перед отгрузкой и инокуляцией (?). Индивидуальные свиноматки были случайным образом распределены по одной из трех групп, размещенных отдельно [ложные прививки делали на 45 день беременности (n=1) и на 62 день беременности (n=1), инокулировали пестивирусом на 45 день беременности (n=3) и инокулировали пестивирус на 62 день беременности (n=3)], и в течение всего периода исследования кормили полноценной диетой.

Инокуляция животных

У свиноматок забирали корм и воду за 12 часов до операции, чтобы снизить риск анестезирующей регургитации. Терминальную сыворотку свиньи с вирусемией (ISUVDL2014016573) оттаивали при 37°C. Общую нуклеиновую кислоту экстрагировали и подвергали скринингу ПЦР на присутствие PCV2a, PCV2b, PRRSV, PPV1, PPV5 и пестивируса; был обнаружен только пестивирус (Cq=27,47). Сыворотку в объеме 0,2 мкм фильтровали и разбавляли, добавляя 6 мл сыворотки до 35 мл 1×PBS (Gibco). В день инокуляции инокулят оттаивали и держали на льду во время процедуры инокуляции. Общую

анестезию начинали с внутримышечной инъекции комбинации тилетамина и золазепам (TELAZOL®), кетамина и ксилазина. После начала анестезии каждую свиноматку помещали в левый бок, а правую часть живота подготавливали для асептической лапаротомии. Живот закрывали для операции, и место разреза блокировали 2% лидокаином перед рассечением. Делали парамедиальный разрез размером приблизительно 30 см на 5 см сбоку от ткани молочной железы, чтобы получить доступ к брюшной полости. Матку временно выводили на поверхность тела, и использовали стерильный ручной векторный линейный ультразвуковой преобразователь для визуализации каждого зародыша и направляли иглу для инокуляции в эмбриональную амниотическую везикулу. В каждую везикулу инокулировали 0,25 мл инокулята (PBS или пестивирусную сыворотку), используя иглу малого калибра (22 g) (S2 MP4). Брюшную стенку закрывали в трех слоях, используя шов полиглактина 910 размером 2. Инокулят также вводили непосредственно в свиноматку интраназальным (2 мл) и внутривенным (2 мл) путем сразу же после хирургической процедуры. Единичные дозы мелумина флуниксина (BANAMINE-S®) и кристаллической свободной цефтиофуровой кислоты (EXCEDE®) вводили внутримышечно сразу после закрытия и перед обезболиванием. Анестезия первой свиноматки началась в 8:30 утра в соответствующий день операции. Каждая процедура занимала приблизительно 1 час. Анестезию последней свиноматки начинали 11:30.

Клинические наблюдения, сбор образцов и вскрытие

После инокуляции проводили ежедневный мониторинг свиноматок, а ректальную температуру измеряли через 0–7 дней после инокуляции (DPI). Фекальный материал, кровь и мазки из носа собирали у свиноматок на 2, 7, 10 и 14 DPI, а затем еженедельно перед тем как они поросились. Во время их опороса поросят индивидуально идентифицировали, и брали сыворотку, мазки из носа и фекальные мазки. У субпопуляции поросят (n=7) собирали кровь из пуповины. Каждого поросенка снимали на видео ежедневно с 0 по 2 день после опороса (DPF). Четыре исследователя из

слепых групп просматривали видеоролики, и каждый поросенок получал оценку тяжести тремора: 0 - отсутствует, 1 - мелкая мускулатурная фасцикуляция, 2 - легкий тремор, 3 - умеренный тремор, 4 - сильный тремор с выраженным подпрыгиванием. Затем оценки усредняли, назначая каждому поросенку общий показатель тяжести тремора по DPF. Поросят, получивших оценку $\geq 0,75$ на DPF 2 считали пораженными. Наличие или отсутствие дисплазии тазобедренного сустава также записывали на каждом DPF для каждого поросенка. Свиноматок и поросят подвергали эвтаназии на DPF 2 с помощью пистолета с выдвигающимся ударным стержнем и инъекцией сверхдозы барбитурата, соответственно. При вскрытии берут образцы сыворотки поросят, головного мозга, мозжечка, ствола головного мозга, спинного мозга, почек, брыжеечного лимфатического узла, трахеобронхиального лимфатического узла, тимуса, сердца и селезенки. У субпопуляции поросят брали цельную кровь (пробирки ЭДТА, n=20) и CSF (n=29). Сыворотку свиноматок также собирали при вскрытии.

Идентификация пестивируса

Секвенирование следующего поколения

Благодаря использованию технологии секвенирования следующего поколения вирус, близкородственный пестивирусу Китайских летучих мышей, а теперь, как известно, более близкородственный недавно описанному пестивирусу, предварительно обозначенным как атипичный вирус свиней, был обнаружен в трех независимых исследованиях врожденного тремора. Почти полный геном был получен из одного из трех исследований. Этот вирус в сыворотке от вирусного животного впоследствии использовали для инокуляции животных в этом исследовании. Филогенетический анализ NS3 и Npro подтверждает классификацию вируса, идентифицированного в настоящем описании как представитель предположительного вида «атипичного свиного вируса» (фиг.5), с 88,0% и 94,6% нуклеотидами и аминокислотами, соответственно. Ретроспективный анализ ренивирусной РНК с помощью ОТ-кПЦР из случаев, представленных в ISU VDL, показал, что 21 из 362 образцов (6%) были положительными. Эти случаи были обычными

данными стад, испытывающих различные клинические признаки.

ОТ-кПЦР

Образцы от поросят с врожденным тремором и от непораженных когорт собирали из двух ферм, ферма А и ферма В. Животные, у которых был диагностирован врожденный тремор, были положительными на пестивирус с помощью ОТ-кПЦР, но вирус не был обнаружен в центральной нервной ткани или сыворотке непораженных поросят (таблица 3). Вирус был обнаружен в сыворотке из одной свиноматки из фермы А.

Таблица 3. Количественные результаты ПЦР в реальном времени для образцов от поросят из фермы А и фермы В.

Ферма	ID животн	Состояни е болезни ^а	Вид образца									
			Ствол головного									
			Головной мозг		Мозжечок		мозга		Спинной мозг		Сыворотка	
		Cq ^b	SQ ^c	Cq	SQ	Cq	SQ	Cq	SQ	Cq	SQ	
	P1	-	U ^d	0	U	0	U	0	U	0	U	0
	P2a	+	U	0	34,18	3,95E+02	35,93	1,36E+02	33,39	6,38E+02	30,64	1,14E+05
	P2B	+	U	0	35,92	1,37E+02	U	0	35,53	1,74E+02	30,14	1,47E+05
	P4a	+	U	0	32,44	1,13E+03	U	0	36,51	9,56E+01	36,44	6,62E+03
	P4b	+	U	0	29,37	2,14E+05	35,41	1,87E+02	U	0	30,97	9,71E+04
	P5a	-	U	0	U	0	U	0	U	0	U	0
	P6a	+	U	0	33,65	4,76E+02	U	0	33,89	4,71E+02	U	0
A	P6b	+	U	0	28,75	2,89E+05	U	0	U	0	31,37	8,00E+04
	1	+	32,65	1,00E+03	U	0	U	0	35,65	1,61E+02	30,92	1,05E+05
	2	+	U	0	32,31	1,23E+05	U	0	35,72	1,54E+02	30,77	1,13E+05
	3	-	U	0	U	0	U	0	U	0	U	0
	4	-	U	0	U	0	U	0	U	0	U	0
	5	+	U	0	30,50	3,69E+03	U	0	35,90	1,38E+02	33,97	2,31E+04
	6	+	HO ^e	HO	HO	HO	HO	HO	HO	HO	29,40	2,23E+05
	7	+	U	0	32,39	0	U	0	U	0	31,29	8,74E+04
	20	+	26,59	8,36E+05	24,04	2,92E+06	24,56	2,27E+06	25,50	1,42E+06	26,04	1,09E+06
B	21	+	30,92	9,96E+04	26,25	9,89E+05	27,41	5,58E+05	26,14	1,04E+06	22,26	6,98E+06
	22	+	25,79	1,24E+05	29,32	2,19E+05	27,31	5,85E+05	26,14	1,04E+06	22,25	7,04E+06

23	+	27,51	5,31E+05	23,45	3,91E+06	26,43	9,05E+05	24,46	2,38E+06	22,47	6,31E+06
24	+	27,93	4,34E+05	24,13	2,79E+06	27,25	6,05E+05	24,10	2,38E+06	22,25	7,04E+06

^aПрисутствие (+) или отсутствие (-) врожденного тремора.

^bCq=значение цикла количественных показаний.

^cSQ=начальное количество.

^dU=«необнаруженный» после 40 циклов.

^eHO=He определено.

Модель инокуляции свиноматок

Наблюдения и образцы свиноматок

У одной ложно инокулированной свиньи на 45 день беременности развивалась умеренная лихорадка после операции и у нее был выкидыш на 3 и 4 DPI. Было обнаружено, что свиноматка из группы, которую нужно прививать через 45 дней беременности, не была беременна во время инокуляции; она была удалена из исследования. Ложно инокулированные и инокулированные пестивирусом свиноматки не проявляли клинических симптомов, и, кроме того, у них не развивалась обнаруживаемая вирусемия или вирус не распространялся до уровней, определяемых ОТ-кПЦР. Все свиноматки поросились естественным образом. Один поросенок был мертворожденным (свиноматка с идентификационным номером 3661), а один плод был мацерированным (свиноматка с идентификационным номером 3500).

Наблюдения за поросятами и образцы

У ложно инокулированных поросят не было клинических признаков, согласующихся с СТ на DPI 0, 1 или 2 (S4 MP4). Большинство поросят, которым на эмбриональной стадии инокулировали пестивирус на 45 или 62 день беременности, имели клинические признаки, соответствующие СТ (S4 MP4). Распространенность врожденного тремора (S5 MP4) и дисплазии тазобедренного сустава (S6 MP4) в помете, инокулированном пестивирусом, варьировала от 57% до 100% и от 0% до 40% на DPI 2, соответственно (таблица 4). Тяжесть тремора изменялась в пометах поросенка, но оставалась относительно постоянной в течение двухдневного периода наблюдения у большинства поросят (таблица 5).

Таблица 4. Распространенность врожденного тремора и дисплазия тазобедренного сустава у помета, инокулированного пестивирусом, на второй день рождения

<i>Идентификационный номер свиноматки/день беременности^а</i>	<i>Врожденный тремор</i>		<i>Дисплазия тазобедренного сустава</i>	
	<i>Номер пораженного^б</i>	<i>Распространенность (%)</i>	<i>Номер пораженного/номер</i>	<i>Распространенность (%)</i>
	<i>/номер в помете</i>		<i>в помете</i>	
4036/45	5/8	62,5	1/8	12,5
3992/45	7/9	77,7	2/9	22,2
3661/62	4/6	66,6	0/6	0,0
3500/62	10/10	100	4/10	40,0
4023/62	4/7	57,1	0/7	0,0

^аДень беременности во время инокуляции.

^бПоросят считали пораженными врожденным тремором, если показатель тяжести тремора составлял $\geq 0,75$.

Таблица 5. Оценка врожденного тремора по поросётам и дням после рождения

Идентификационный номер свиноматки/инокуляция/день беременности ^a	ID животн.	Средний показатель тяжести тремора		
		DPF ^b 0	DPF 1	DPF 2
2427/PBS/62	71	0	0	0
	72	0,25	0	NA
	73	0	0	0
	74	0,50	0	0
	75	0	0	0
	124	0,25	0,5	0
	125	0	0	0
4036/пестивирус/45	31	2,00	0	0,75
	32	0,25	0,25	0
	33	3,50	4,00	4,00
	34	0,50	0	0
	35	3,75	4,0	4,0
	36	3,75	4,0	4,0
	37	1,00	0	0,25
	38	3,50	3,5	3,5
3992/пестивирус/45	40	4,00	3,25	3,25
	41	0,25	0	0
	42	3,00	1,75	1,5
	43	2,00	0,25	0,25
	44	2,50	1,50	1,75
	45	3,00	3,75	4,00
	46	3,25	2,50	2,75
	47	2,25	1,25	1,25
3661/пестивирус/62	48	3,00	2,00	2,50
	94	1,00	2,5	3,0
	95	0	NA	NA
	96	2,00	3,00	3,25

	97	0,75	0	0
	98	2,50	2,0	2,5
	99	2,25	2,50	2,25
	100	0	0	0,25
	89	2,75	2,75	3,25
	90	3,75	3,25	3,50
	111	3,50	3,00	2,50
	112	1,75	NA	NA
	113	2,50	2,50	3,00
3500/пестивирус/62	116	3,25	3,75	4,00
	117	3,50	3,25	3,25
	118	3,25	4,00	3,75
	121	2,75	1,75	3,00
	122	2,00	2,75	2,75
	123	3,00	2,75	2,75
	114	0,50	0	0,50
	115	1,50	3,50	4,00
	119	1,00	1,50	2,25
4023/пестивирус/62	120	0	0	0,25
	130	1,00	0,50	2,25
	131	0	1,00	0
	132	1,75	0,25	0,75

^aДень беременности во время инокуляции.

^bDPF=дней после опороса.

Вирусные нуклеиновые кислоты экстрагировали из тканей, сывороток и цельной крови, собирали и анализировали с помощью количественной ПЦР в реальном времени. Хотя ни в какой из тканей помета, инокулированных плацебо, не было обнаружено пестивируса, почти все животные из экспериментально инокулированной группы были положительными по меньшей мере в одной ткани. Тропизм ткани был широким, так как РНК пестивируса была обнаружена в сыворотке (26 из 41), мазке из носа (12 из 41), фекалиях (14 из 41), терминальной сыворотке (34 из 41), головном мозге (30 из 41), мозжечке (36 из 41), стволе головного мозга (37 из 41), спинном

мозге (33 из 41), почке (35 из 41), брыжеечном лимфатическом узле (37 из 41), трахеобронхиальном лимфатическом узле (36 из 41), тимусе (37 из 41), сердце (35 из 41) и селезенке (37 из 41) с помощью ОТ-кПЦР у поросят, рожденных живыми, инокулированных пестивирусом (фиг.6); вирусную РНК не обнаруживали в таких же образцах PBS-инокулированных поросят. Кроме того, РНК пестивируса была обнаружена в пуповинной крови (5 из 7), цельной крови (19 из 20) и цереброспинальной жидкости (26 из 29) субпопуляции поросят (фиг.6). Среднее значение C_q сыворотки, мазков из носа, цереброспинальной жидкости, брыжеечного лимфатического узла, трахеобронхиального лимфатического узла, селезенки и пуповинной крови было меньше 26. Среднее значение C_q фекалий, терминальной сыворотки, мозжечка, спинного мозга, почки, тимуса и сердца измерялось от 26 до 28. Мозжечок, ствол мозга и цельная кровь имели самые высокие средние значения C_q (> 28). Наиболее часто РНК пестивируса обнаружилась (>90% взятых образцов) в стволе головного мозга, брыжеечном лимфатическом узле, трахеобронхиальном лимфатическом узле и цельной крови; реже (от 80 до 90% взятых проб) в терминальной сыворотке, мозжечке, спинном мозге, цереброспинальной жидкости, почке, тимусе, сердце и селезенке; и реже всего (от 29 до 74% взятых проб) в сыворотке, назальных секретах, фекалиях, головном мозге и пуповинной крови. Сыворотка двух животных (35 и 90) была случайно выбрана для оценки геномной стабильности путем полного секвенирования генома. Оба животных имели идентичные 7 фиксированные изменения в 7 нуклеотидах родительского штамма, приводящие к четырем консервативным изменениям аминокислот. При анализе данных глубокого секвенирования исследуемого материала в каждом из этих положений наблюдалось доказательство полиморфизма.

Обсуждение

Синдром СТ был впервые зарегистрирован почти 100 лет назад; тем не менее, большинство современных вспышек заболевания были связаны с неидентифицированным вирусом. Используя секвенирование следующего поколения, новый возбудитель, первоначально идентифицированный как близкородственный с пестивирусом летучих

мышей, был обнаружен в образцах поросят с СТ.

Был разработан ОТ-кПЦР, нацеленный на N3S-часть генома дивергентного пестивируса, чтобы обнаружить вирусную РНК во множестве образцах различного типа. Ретроспективный анализ выявил РНК пестивируса с помощью ОТ-rGWH в 6% (21 из 362) образцов стада с различными клиническими симптомами, что свидетельствует о том, что вирус в тканях этого набора образцов слабо распространен. Образцы исследования с инокуляцией отбирали на основании клинических симптомов СТ и распределения тканей и сайтов репликации CSFV. Образцы тканей поросят с СТ двух неродственных ферм содержали вирусную РНК, которая была последовательно обнаружена в сыворотке и в ткани центральной нервной системы, что указывает на то, что вирус имеет системное распределение при клиническом влиянии на функцию центральной нервной системы. Это также подтверждается распределением в ткани вирусной РНК у поросят, инокулированных пестивирусом. Специфический сайт репликации определен не был, так как все тестируемые ткани имели одинаковые уровни обнаруживаемой РНК пестивируса. На этом основании можно предположить, что репликация вируса происходит системно и может включать моноклеарные клетки периферической крови или эндотелиальные клетки, сходные с CSFV.

Пестивирус, используемый для этой модели инокуляции, был вирусемической сывороткой, поскольку попытки *in vitro* культивирование вируса не были успешными. Иммунный статус свиноматок в этом исследовании неизвестен из-за отсутствия серологического анализа нового вируса. Чтобы избежать возможного влияния антипестивирусных антител у свиноматок, непосредственно инокулировали эмбриональные амниотические пузырьки, так как плацента свиньи не дает проникать антителам от матери к плоду.

Несмотря на то, что в результате хирургической процедуры у одной из PBS-инокулированных свиноматок был аборт, клинических различий между свиноматками и свиноматками, инокулированными пестивирусом, не наблюдалось. По имеющимся данным, мертворожденные, мумифицированные или мацерированные плоды отсутствуют при вспышках СТ. Один мертворожденный плод в одном

из помета и один мацерированный плод в другом помете свиноматок, инокулированных пестивирусом, считались случайными и, вероятно, не связанными с инфекцией плода. Несмотря на IN и IV инокуляции у свиноматок не развивалась обнаруживаемая виремия или вирус не распространялся до уровней, определяемых ОТ-кПЦР. Поэтому либо свиноматки не были заражены после заражения, либо доступные диагностические тесты были недостаточными для обнаружения инфекции.

Для того чтобы СТ проявился, вполне вероятно, что инфекция плода должна произойти до развития иммунокомпетентности плода, которая происходит у поросят в период приблизительно от 70 до 80 дней беременности. В этом исследовании плоды как на 45, так и на 62 день беременности были восприимчивы к инфекции дивергентным пестивирусом, что приводило к СТ у большинства инфицированных поросят. Выбор этих двух временных точек гестации был основан на приблизительной виремии этого пестивируса на основе CSFV, имевшего место до развития иммунитета плода (45 день беременности) и развития центральной нервной системы плода (62 день беременности). Утробные инфекции пестивируса у других видов в разные временные точки гестации имеют разные клинические результаты, включая репродуктивную недостаточность, врожденные пороки развития или иммунотолерантность, при которых хронически инфицированное животное может распространять вирус на протяжении всей жизни. В этом исследовании родилось несколько поросят, зараженных пестивирусом, с дисплазией тазобедренного сустава. Это состояние обычно наблюдается у свиней; однако патогенез и этиология в настоящее время активно обсуждаются. Роль, если таковая имеет место, пестивируса в развитии дисплазии тазобедренного сустава, репродуктивной недостаточности у свиноматок или способность утробной инфекции давать хроническую инфекцию у животных, требует дополнительного исследования.

В целом, клиническое заболевание, воспроизведенное в настоящем описании, имитирует естественные вспышки заболевания с изменением распространенности СТ среди пометов и тяжестью клинических симптомов в пометах. Вирусная РНК была обнаружена у всех поросят с СТ. Более того, вирусная РНК была обнаружена у 41

из 42 живых поросят, инокулированных пестивирусом. Из рожденных живыми поросят, инокулированных пестивирусом, у одиннадцати не было СТ на DPF 2 или DPF 0 (95), и вирусная РНК была обнаружена у всех зараженных пестивирусом непораженных поросят, кроме одной (95). Тем не менее, механизм дисфункции центральной нервной системы у большинства поросят, но не у всех инфицированных поросят, в настоящее время неизвестен. Экология и патогенез взаимодействия с хозяином-вирусом на данный момент не определены, но озадачивают. Исследование роли хронической инфекции или дисфункционального иммунного ответа в клиническом выражении СТ и механизма дисфункции центральной нервной системы является оправданным. Литература, касающаяся механизмов треморных расстройств у людей и животных, ограничена, несмотря на высокую распространенность и важность такой симптоматики в медицине и ветеринарии.

В этом исследовании был идентифицирован недавно описанный дивергентный пестивирус свиньи у поросят с СТ и в непораженных когортах и использован этот вирус для воспроизведения СТ путем разработки инновационной методики инокуляции. Успешная разработка методик выделения вирусов, специфических анализов с антителами, методик детекции *in situ* и усовершенствованные молекулярные инструменты, несомненно, приведут к лучшему пониманию патогенеза и эпидемиологии этого вируса.

ПРИМЕР 3

Целью этого исследования является оценка эффективности пестивирусной вакцины при введении пестивируса наивным или серонегативным самкам.

План исследования

В этом эксперименте было использовано 10 самок. Самок рандомизировали на три группы. Животных 1-ой группы (n=4) вакцинировали на D0 и D14 с помощью прототипные пестивирусной вакцины непосредственно перед или вскоре после скрещивания. Животные 2-ой группы (n=4), вакцинировали плацебо прототипной вакциной. Животные 3-ей группы (n=2) оставались невакцинированными (строгий контроль). Животные в каждой группе находились в отдельных комнатах. Примерно через 42 дня

беременности самок групп 1 и 2 заражали пестивирусом таким путем, как внутривенная, внутримышечная, интраназальная, внутривагинальная или внутриматочная инокуляция. Следуя задаче, у самок ежедневно контролировали клинические симптомы на протяжении всего исследования. Дважды в неделю на протяжении беременности собирали образцы сыворотки, фекалий и брали мазки из носа. Примерно через 80 дней беременности всем свиноматкам проводили ультразвуковую оценку. Во время опороса поросят визуально оценивали на наличие клинических симптомов. Для обнаружения пестивируса собирали сыворотку, пуповинную кровь и плаценту. Поросят обрабатывали и делали видеозаписи. Поросят оставляли со свиноматкой. Поросят, достигших возраста 24 часа, визуально оценивали на наличие клинических симптомов и фиксировали на видеозаписи. Поросят подвергали эвтаназии в возрасте 48 часов. Перед эвтаназией поросят визуально оценивали на наличие клинических симптомов и делали видеозапись. Отобранные ткани и кровь собирали во время вскрытия. Образцы подвергали скринингу на наличие РНК пестивируса и антитела против пестивируса.

Таблица 6. Организация эксперимента

Группа	n	Вакцинация (D0, D14)	Заражение (~42 дня беременности)
1	4	Прототипная пестивирусная вакцина	Да
2	4	Отсутствует	Да
3	2	Строгий	Нет

Таблица 7. Схема основных событий, DPC означает день после заражения

День исследования	День события
TBD	- Самок доставляют в ISU - Оценка самок
D0- D14	- Кормовая основа для всех самок - Ежедневные клинические наблюдения

D18-D24	- Проверка эструса с прогибом спины и скрещивание всех самок
D0, D14	- Вакцинация самок - Сбор образцов сыворотки, фекалий и взятие мазков из носа перед вакцинацией
D54	- Проверка на беременность у всех самок
D66 (~день 42 беременности)	- Заражение самок - Сбор образцов сыворотки, фекалий и мазка из носа перед заражением
~D137 (день опороса)	- Ожидаемая дата опороса - Обработка поросят - Видео всех поросят во время опороса - Сбор пуповинной крови и плаценты - Коллекция образцов крови, назальных и фекальных образцов от поросят
~D138 (24 часа после опороса)	- Видео всех поросят во время опороса - Коллекция образцов крови, назальных и фекальных образцов от поросят
~ D139 (48 часов после родов)	- Видео всех поросят во время опороса - Коллекция образцов крови, назальных и фекальных образцов от поросят - Вскрытие всех поросят и свиноматок (сбор тканей)

Для проведения слепого анализа лицо (администратор), вводящее вакцину по настоящему изобретению и осуществляющее контроль, не было одним и тем же лицом, ответственным за клиническое наблюдение и взятие образцов у исследуемых животных. Лабораторные испытания были такими же, как описано в примере 2.

ПРИМЕР 4

Основная цель этого исследования состояла в том, чтобы определить возможность индукции серологического ответа, специфичного для пестивируса, после введения инактивированной цельной вирусной вакцины. В частности, наивные животные

подвергались внутримышечной инъекции концентрированного инактивированного вируса и оценивались с помощью серологического ELISA до и после вакцинации.

Был обнаружен новый вирус наиболее близкородственный с пестивирусом летучих мышей с помощью технологии глубокого секвенирования в нескольких случаях исследования вспышек заболевания. Клинический анамнез этих случаев включал врожденный тремор (2 случая), анемичных поросят (1 случай) или поросята с прогибом в спине, что, как считается, связано с PCVAD (1 случай). На основании полученных данных был разработан кПЦР, а распространенность идентифицированного вируса была определена в двух наборах образцов, собранных в Iowa State University Veterinary Diagnostic Laboratory (ISU VDL). Было обнаружено, что предполагаемая распространенность составляет 7,3% (8/110) в наборе гомогенатов легких и 5,2% (13/252) в наборе клинических образцов случаев с полисерозитом в анамнезе. Дополнительные образцы двух ферм с клиническим анамнезом врожденного тремора были собраны в сотрудничестве с преподавателем ISU VDL (д-р Паулу Арруда). Эти образцы были использованы для инокуляции свиней и была получена сыворотка, содержащая высокие уровни вируса (пример 1). В последующем исследовании было показано, что внутриматочная инокуляция сыворотки беременным самкам привела к высокому проценту свиней, рожденных с врожденным тремором (пример 2). Благодаря способности пестивируса вызывать клиническое заболевание, существует интерес в разработке вакцины. В это исследование была включена обычная инактивированная вакцина.

Обычная инактивированная вакцина включена в исследование. Кроме того, в исследование включен вирусный вектор. Поскольку использование живых вирусных векторов для экспрессии соответствующих антигенов является ключевым компонентом стратегии Lead2Grow, это исследование обеспечит оценку вектора у свиней. В этом исследовании использован аденовирусный вектор собак (CAV-2, лицензированный для использования в Solo-Jec CAV-2), экспрессирующий белок E2 пестивируса. Вектор является репликационным компетентным вектором, и по-видимому, вызывает

обширный длительный иммунный ответ. В качестве контроля конструкции включена дополнительная конструкция CAV, экспрессирующая ген HA гриппа А.

Критерии включения животных

Поскольку исследование проводилось на животных, родившихся в условиях BSL2, и серологические анализы в настоящее время недоступны для пестивируса, то предварительный скрининг образцов сыворотки не проводился. Только свиньи, здоровые во время вакцинации, были включены в исследование. Если во время вакцинации исследователь замечал нездоровое животное, то этих животных не вакцинировали и подвергали гуманной эвтаназии.

Уход за животными

Всех животных размещали в вивариях при Sioux Center, IA, на протяжении всего исследования. Животных вскармливали на коммерческом рационе, который соответствовал их размеру, возрасту и состоянию в соответствии с приемлемыми методами животноводства в данном регионе (могут быть включены антибиотики). Вода была доступна ad libitum. Пол и место для корма удовлетворяли требованиям, изложенным в соглашении «Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching», третье издание, январь 2010.

Никакие другие биологические или фармацевтические продукты не вводились испытуемым животным без предварительного одобрения с помощью монитора исследования.

Критерий удаления после включения

Любое умирающее животное подвергалось эвтаназии по усмотрению наблюдающего ветеринара/исследователя. Умирающее животное определяли как животное, которое отказывается от еды или питья или сильно обезвожено из-за тяжелых клинических симптомов. Любое животное, которое погибло или подвергалось эвтаназии в течение всего периода исследования, вскрывалось ветеринаром. Вскрытие проводили, как описано ниже. Наблюдатель и исследователь консультировались для определения того, были ли данные от удаленных исследуемых животных включены в анализ данных и окончательный отчет.

Уход за животными

Все животные были подвергались гуманной эвтаназии, учитывались и утилизируются путем сжигания в конце исследования. Все процедуры были выполнены, как описано для SOP.

Организация эксперимента

Общее описание

Этот эксперимент был разработан для оценки серологического ответа прототипных пестивирусных вакцин у обычных животных. См. таблицу 8 ниже для объяснения экспериментальных групп.

Во время отъема шесть животных в возрасте 6 недель рандомизировали в 1-ую и 2-ую группу, и им вводили дозу 2 мл либо вакцины, либо плацебо в соответствии с таблицей 8. Животных рандомизировали и объединяли в отдельные клетки в одной комнате. Животные в 3-ей группе были соединены в отдельной комнате. Общие наблюдения за состоянием здоровья регистрировали на протяжении всего исследования, и никаких побочных реакций не наблюдали. Примерно через 14 дней после вакцинации сыворотку собирали и выдерживали при 4°C до завершения обработки для серологической оценки. Бустерную вакцинацию идентичных материалов вводили через 21 день после первичной вакцинации. Сыворотку животных собирали через 13 дней после бустерной инъекции (день 34).

Образцы сыворотки анализировали на наличие сероконверсии, когда анализы стали доступны. Пероральные образцы, мазки носа и фекальные мазки собирали у свиней ежедневно в группе 3 с D0 по D7. Образцы анализировали на наличие живых CAV. Места инъекций наблюдали на реакции в течение минимум трех дней после введения вакцины. Животным проводили эвтаназию в конце испытания. См. таблицу 9 ниже, чтобы ознакомиться с подробностями исследовательских мероприятий и конкретными деталями процедуры.

Таблица 8. Организация эксперимента

Группа	Комната	N (поросята)	Вакциноterapia (6 и 9 недель после опороса)	Доза/способ введения
1	1	4	Вакцина с прототипом инактивированного пестивируса	2 мл/IM

2	1	8	Плацебо (забуференный фосфатом физиологический раствор+12,5% эмульсиген D)	2 мл/IM
3	2	~7	Прототипная вакцина Pesti-CAV-2	2 мл/IM

Таблица 9. Расписание ключевых событий по комнатам

День исследования	День события	Испытание
TBD	- Осуществление GHO ежедневно до D0	Отсутствуют
D0	- Вакцинация #1 - Наблюдения за участками инъекций в течение трех дней после вакцинации - Сбор сыворотки у всех имеющихся животных	Образец сыворотки: серологический анализ
D0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7	- Сбор пероральных, назальных и фекальных мазков от животных в группе 3	Образцы образцов: образцы, сохраненные для будущих испытаний/оценки снижения веса
D21	- Вакцинация #2 - Сбор сыворотки у животных - Наблюдения за участками инъекций в течение трех дней после вакцинации	Образец сыворотки: серологический анализ
D0-D35	Общие наблюдения за состоянием здоровья (1 раз в день)	Отсутствуют

D35	<p>- Вскрытие</p> <p>- Сбор терминальной сыворотки (1×250 мл флакон) у всех животных</p>	<p>Образцы сыворотки: серологический анализ</p>
-----	---	---

Вакцинный материал

Супернатант из инфицированных клеток SK6 концентрировали в 10 раз путем ультрацентрифугирования и инактивировали 5 мМ раствором BEI в течение 6 часов при 37°C. Вакцина была приготовлена с 12,5% эмульсигеном D, хранящимся при 4°C до времени введения. Свиньи в группе 2 получали плацебо-материал (забуференный фосфатом физиологический раствор+12,5% эмульсиген D). Дозу 2 мл соответствующей вакцины вводили в мускулатуру шеи с использованием соответствующего размера стерильных иглы и шприца.

Вакцинация

Перед введением любого вакцинного материала исследователь или сотрудник изучали общее состояние всех животных и включение в исследование. На D0 и D21 дозу подходящей вакцины в объеме 2 мл вводили либо в мускулатуру шеи, используя иглу и шприц подходящего размера, стерильную иглу и шприц, либо вводили в нос (1 мл в ноздрю), используя стерильный шприц и канюлю. Для инъекций IM использовали мышцы правой стороны шеи для инъекций на D0, а мышцы левой стороны шеи для инъекций на D21. Номер лота, количество дозы, идентификационные номера животных и сроки введения вакцинного материала были задокументированы в записи подтверждения вакцинации.

Клинические наблюдения

Во время вакцинации животных ежедневно оценивали, используя обычную форму наблюдения за состоянием здоровья. Участки мест инъекции контролировались в течение как минимум трех дней после вакцинации. Если на участках в местах инъекции были обнаружены повреждения, то эти участки наблюдали до тех пор, пока повреждение не прекращалось или до окончания исследования.

Сбор крови

На даты взятия проб крови исследователь или назначенное

лицо собирали от трех до девяти мл венозной цельной крови через переднюю полую вену. Использовали стерильную иглу размером 18-20gхот 1 дюйма (2,54 см) до 1,5 дюймов (3,81 см) VACCUTAINER®, держатель иглы VACCUTAINER® и пробирки сывороточного сепаратора соответствующего размера (SST). Кровь на льду отправляли в течение ночи в IVI Biological R&D в Ames, Iowa, в день сбора, если она была собрана с понедельника по четверг. Если сыворотку собирали в пятницу или субботу, то сыворотку отделяли от кровяного сгустка центрифугированием и выливали в криогенный флакон с закручивающейся крышкой, указывая по меньшей мере номер исследования, день исследования и идентификационный номер животного. Обработанные образцы сыворотки хранили при -70°C и отправляли на сухом льду в Ames на следующий день отправки. В BIVI-Ames образцы сыворотки отслеживали с помощью электронной системы управления FreezerWorks. Образцы сыворотки в BIVI-Ames поддерживали при $2-8^{\circ}\text{C}$, если тестирование проводили в течение <48 часов после доставки, или поддерживали при -70°C , если их проводили позднее. Образцы хранили в течение как минимум шесть месяцев после завершения этого исследования.

Образцы мазков

Материалы на льду отправляли в течение ночи в BIVI Biological R&D in Ames, Iowa. Если сбор происходил в выходные дни, то образцы замораживали при -70°C и отправляли на сухом льду на следующий день после взятия проб. Образцы в BIVI-Ames поддерживали при $2-8^{\circ}\text{C}$, если тестирование проводили в течение <2 часов после доставки, или поддерживали при -70°C , если их проводили позднее. Образцы отслеживали с помощью электронной системы управления FreezerWorks. Образцы хранили в течение как минимум шесть месяцев после завершения этого исследования.

Вскрытие

Если во время исследования имелось агонизирующее животное, то животное подвергали эвтаназии и вскрывали по усмотрению наблюдающего ветеринара. Для определения причины смерти собирали соответствующие образцы. Образцы могли быть отправлены в диагностическую лабораторию для подтверждения.

Во время некондиционного испытания животных подвергали глубокой анестезии по одному SOP, и у каждого животного собирали кровь в 1×250 мл бутылочку для центрифугирования (свободный сбор). Животное подвергали эвтаназии после SOP, и место инъекции пальпировали. Если во время вскрытия четко пальпировались реакции в месте инъекции, то брали образец (свежий и фиксированный). Если во время исследования у животного присутствовали клинические симптомы или имелись доказательства клинического заболевания, то животное вскрывали. Для определения причины смерти собирали соответствующие образцы. Образцы могли быть отправлены в диагностическую лабораторию для подтверждения.

Дезинфекция помещений, процедуры входа и обслуживания

Прототипные вакцины не считаются инфекционными для людей. При работе с животными носили перчатки, маски и одноразовые комбинезоны TYVEK®. Сапоги и средства индивидуальной защиты (PPE) были отдельными для каждого помещения. При смене работы с животными 3-ей группы на работу с животными в 1-ой и 2-ой группах требовалась обработка душем. Не допускался перенос предметов или PPE между комнатами. Дезинфекция оборудования подробно описывалась, и описание помещалось в отчет исследователя.

Серологический ответ

Центрифугированную сыворотку абсорбировали из первичных клеток легких свиньи, чтобы уменьшить фон твердофазного ферментного анализа (ELISA). Пластины ELISA покрывали 300 нг концентрированного инактивированного пестивируса. Абсорбированную тестируемую сыворотку вакцинированных животных, животных плацебо, сыворотки реконвалесцентного положительного контроля и сыворотки наивных животных оценивали в двух повторах, данные представлены на фиг.7. Все сыворотки, собранные во всех группах, по данным ELISA на 0-й день (OD <0,15) были отрицательными. Через 13 дней после бустерной инокуляции инактивированного пестивируса у всех четырех животных наблюдался сильный серологический ответ, в то время как ни у одного из плацебо контроля значение не превышало 0,7 OD пороговой величины

для анализа. Используя критерий суммы рангов Уилкоксона, статистически значимое увеличение OD в вакцинированной группе по сравнению с плацебо (p -значение=0,004) указывало на специфический серологический ответ на пестивирус.

ПРИМЕР 5

Основная цель этого исследования состояла в том, чтобы выделить и продуктивно реплицировать новый пестивирус *ex vivo*. В частности, вирусная репродукция была достигнута в клетках, полученных из природных хозяев (свиньи), и их мониторинг проводили с помощью молекулярно-биологических методов.

Получение инокулята

Ткани инфицированных поросят из примера 2 собирали и взвешивали индивидуально, и добавляли минимальную необходимую среду, модифицированную SAFC, (MEM) до конечного значения масса:объем, равного 10%. Ткани диспергировали путем высокоскоростного встряхивания с металлическими бусами, осветляли микроцентрифугированием и фильтровали через фильтр 0,2 мкм. Дополнительно, собирали кровь от каждого умирающего поросенка, зараженного пестивирусом. Каждый тканевой гомогенизат и образец сыворотки анализировали на наличие и относительную концентрацию пестивируса, используя кПЦР. Образцы с наивысшим титром объединяли по типу образца терминальной сыворотки, гомогенатов селезенки и почек. Затем эти объединенные образцы использовали в качестве инокулята.

Инокуляция первичных тканей свиней

Попытки вырастить вирус осуществляли, используя инокулят, как описано выше, как на первичных эмбриональных легких, так и на первичных эмбриональных культурах клеток почек свиньи. Культуры первичных клеток получали из тканей, собранных у свиней, перенесших кесарево сечение и не получавших молозиво (CDGD).

Инокулят разбавляли равным объемом MEM и стерилизовали, пропуская через фильтры 0,8 мкм/0,2 мкм. Образцы дополнительно разбавляли либо 1:2, либо 1:10 перед инокуляцией в попытке удалить сыворотку или клетки-хозяева, вызывающие токсичность.

Культуральный рост осуществляли на ростовых средах (MEM с

10% облученной фетальной бычьей сывороткой и 2,5% 1 М НЕРЕС). Через семь дней после культивирования материалы подвергали 3-циклам замораживания/оттаивания, а затем инокулировали на свежие клетки, обеспечивая инфекцию вирусом, в течение 1 часа при 37°C, 5% CO₂ при покачивании. Через 1 час инокулят удаляли и заменяли растительной средой. Пассажи проводили в течение 11 раундов на первичных клетках легкого и в течение 4 раундов на первичных клетках почек. Пороговые значения цикла для первичных клеток почек изменялись от 21,3 до 22,5, что свидетельствовало о продуктивной репликации. Пороговые значения цикла для первичного легкого также указывали на продуктивную репликацию вируса, и они суммированы в таблице 8.

Таблица 8. Организация эксперимента

Клеточный тип для пассажа вируса	Пассаж вируса	Значение кПЦР Ct пестивируса
Первичное легкое	P1	28,6
Первичное легкое	P4	21,6
Первичное легкое	P7	20,9
Первичное легкое	P11	21,8
SK6	X+1	22,6
SK6	X+4	22,0
SK6	X+10	17,2
SK6	X+14	16,45

Инокуляция иммортализованных клеток свиней

Подобно первоначальным условиям инокуляции первичных клеток, иммортализованные клетки почек свиней (SK6) инокулировали путем добавления супернатанта первичной культуры легких с 11 пассажами (замораживание/оттаивание в течение трех циклов) и инкубировали в течение 1 часа при 37°C, 5% CO₂ при покачивании. Через 6 дней инкубации при 37°C 5% CO₂ материал пассировали в свежие клетки SK6 таким же образом. Нуклеиновые кислоты каждого пассажа экстрагировали после 14 пассажей и контролировали с помощью кПЦР. При последовательных пассажах пороговая величина цикла уменьшалась (см. таблицу 8) до ~17, что свидетельствовало о приблизительно 10-кратном увеличении

вирусного титра.

Инаktivация вирусного урожая

Супернатанты из 11 пассажа клеток SK6 объединяли и концентрировали ~10-кратно высокоскоростным центрифугированием до вирусного осадка. Вирусный осадок ресуспендировали в ~1/10^{ых} исходного объема инертном буфере (1хзабуференный фосфатом физиологический раствор). Концентрированный вирус инаktivировали с использованием циклического бинарного этиленимина (BEI) с конечной концентрацией 5 мМ в течение 6 часов и при постоянном перемешивании при 37°C. По завершении инаktivации BEI инаktivировали раствором тиосульфата натрия (17% по объему) при инкубации при 37°C в течение 15 минут. Инаktivированный пестивирус готовили с 12,5% конечной концентрацией эмульгигена D и использовали в качестве предполагаемой кандидатной вакцины в примере 4.

Все композиции и способы, раскрытые и заявленные в настоящем описании, в свете настоящего описания могут быть получены и выполнены без излишнего экспериментирования. Хотя композиции и способы по настоящему изобретению были описаны с точки зрения предпочтительных вариантов осуществления, специалистам в данной области будет очевидно, что могут быть сделаны изменения в композициях и способах, а также в стадиях или последовательностях стадий, описанных в настоящем описании, без отхода от концепции, сущности и объема изобретения. Более конкретно, будет очевидно, что некоторые агенты, которые являются как химически, так и физиологически близкими, могут быть заменены агентами, описанными в настоящем описании, и при этом будут достигнуты одинаковые или сходные результаты. Все такие сходные замены и модификации, очевидные для специалистов в данной области, считаются находящимися в пределах сущности, объема и концепции изобретения, как определено в следующей формуле изобретения.

СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> (как в заявлении!!!)
Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH
Iowa State University Research Foundation, Inc.

<120> ПЕСТИВИРУСНЫЕ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВРОЖДЕННОГО ТРЕМОРА
<130> 24152-0041W01

<140> PCT/US2016/049709
<141> 2016-08-31

<150> US 62/212,124
<151> 2015-08-31

<160> 26

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 11550
<212> ДНК
<213> пестивирус типа 2

<400> 1
cataatgctt taattggccg cattatgtgt gggacatcct aaatatttat gagccctgcg 60
gtgagtgggg gaaagagggt aaccaggcct ctagtaccac aggcaccaat ggacagggca 120
actcaaact gagagagagg taccgaactc ttaagccccg agtacggggc agacgtcacc 180
gagtagtaca cccaagacc accacttcta ggtgtagggg ctactgaggc tcgggtggac 240
gtgggcgcg ccaaagagaa atcgggtggtg gacctggggg tcggggccac catgccctt 300
tacggggtag accttactgc ttgatagagt gccggcggat gcctcaggta agagtataaa 360
atccgttgtt cattaacatg gaaaaacaga ttgcatatta cttaaaaaaa gaaaaacaaa 420
gaaatgggtg gacggaactg gtggtaggag aaagtcatac aaaaataacc acgctttctg 480
gaaagaccta tcgaggcacc tgggaaatgg agaaacggcc aaatccttat ggaacctatc 540
tccccagacc tagtcccaa cagcttacag ccctacacc ccaccagtg gtgaattgta 600
agggtggttga gtacaaggag atggacccta attatggtga ttgcccaat acgaacgggg 660
tgtttgttga cgaagggtt agaaggctga gcagccctcc attaggcatt tggaagataa 720
gattggacta tagtgacttg gtaaacataa gcagaccaac ccccgctagt gggaaaaact 780
cttaccaagt tgagacctgc agtggggagc tggctacagt gacactggta cacaataggg 840
tgctcgtgga agattgcagg gggctatacc aatggaaacc caactgtgaa ggaattgtgc 900
tctatgtgaa aacttgttct gactgggcag atcaggtaga aaaacaggag aaagaaagcc 960
cccaaaacc acagcgcca ccaaggcgag acccacgaaa agggttacaa ccacaagtcc 1020
ccaaagagac tgaggtcaca gaaaagaaga gacaacctag tgtcacctta gtatcggggg 1080
ggcagaaggc ccaagtcac tacaaggca ggaccaaaaa caaaaagacc ccggatggag 1140
tctatagata cccaggagct aaagaagggg acgtagtaaa ggtcaggaag atgctgaaga 1200

attggcatat	agccttagtg	atgtacctga	tacatatcat	aactccaggc	cttgccaagg	1260
tccagtgggtt	cttaaaagat	gaaaactcga	cggggatcaa	ccagatactg	tggcaaagac	1320
agatcaacag	atccttacat	ggagaatggc	ctaaccagat	ctgccacggt	atgccaatg	1380
aaactatcac	ggatgaggaa	ttacgcagtc	tgggaatggt	agatacaagc	cctagaacaa	1440
actacacctg	ttgccagttg	caatatcatg	agtggaagaa	acatggttgg	tgcaactatc	1500
cacaaaaaca	ggcgtggatc	acgaggataa	cgccctaca	agctaacctt	accgggcctt	1560
atgagggacc	tgagtgcgcc	gtcatctgcc	gatttaacgg	cagctacaac	atcgtaaaac	1620
aggccagaga	tgaggtgagt	ccactgacag	ggtgcaagga	agggcatcct	tttctattct	1680
ctggtgaaag	atccgacacc	tcatgcctaa	ggcccccttc	cactagttgg	gtaagaccag	1740
tgaaaatgga	cgaggcatca	atggccgatg	gctttgccca	tggggttgat	aaggcgataa	1800
tactaatcag	gaagggggca	tcaggaataa	tcaatttctt	agacactatt	gggaggtggc	1860
taccggtagc	tgaagcaact	atagtaccat	attgtgatac	ttacactgtg	acagggatgt	1920
atgtccatgt	aaagaattgc	ctccctagag	ggttacctaa	gcattcaaaa	ataatctccc	1980
cgacaatgat	atatctggga	gaaggagacc	cgcccataa	tatccagcac	ttatctggct	2040
caggtatagc	aaagtgggtc	ctagttctac	tcgggattct	gggtgagtgg	tatggagaat	2100
tggtctccac	aatatactta	ctactagaat	acgggtctga	gtggttggaa	catgaaagcc	2160
tggtcacgga	agggttgatt	cctggcatta	atattacaat	agaactccca	gctagtcata	2220
cagtgcctgg	ttgggtgtgg	gtcgcaggcc	agtgggtatg	cgtgaagcca	gactggtggc	2280
ctacacagat	ttggattgaa	accgtgggtg	cagagacctg	gcatatacta	aaaatattgg	2340
cgtcagccct	ggtgaacata	gttgcagcgt	tcgtaaacct	ggaattgggt	tatctggtca	2400
taatactagt	caaaatatca	aaaggaacc	tgataggtgc	catattatgg	tgcttggtac	2460
tgtcaggcgc	tgaaggctcg	tgctacaaaa	gacaagacta	ttacaacacc	caactagtcg	2520
tcgaagaaaa	aacaggcgta	gaaaaacgat	ctataatggg	caagtggacc	gtgataacca	2580
gggaaggtcg	ggagccaaga	ttaatggagc	aaataaatat	ggtattgaat	gatagcctgt	2640
cagaaaccta	ctgctataat	aggctaaaca	ccagcacttg	ggggcggcaa	ccggcaagac	2700
aaagagggtg	tggtcaaacc	gtgccctatt	ggcctgggtg	caatgttcta	gaagaacaat	2760
actacagcac	aggttactgg	gtgaatgtaa	caggcggttg	ccagctgaga	gaaggcgat	2820
ggctatcaag	aaagggtaac	gtacagtgtc	agcgtaacgg	ctcatccttg	atgctgcaat	2880
tggcgataaa	agaagagaat	gacactatgg	aaataccatg	tgaccacgtg	gaaactgaaa	2940
gtatgggtcc	agttgcacag	ggcacttgtg	tgtacagctg	ggcattcgcc	ccaagagggg	3000
ggtactataa	caggaaggat	ggttattggc	tccagtacat	aaagaaaaac	gactaccagt	3060
attggacaaa	aatgcctact	gcctcgtccg	ccgcaacct	gtaccgccac	ttgctcccct	3120

tactggtggc	ctgcctcatg	ggcggtagga	tatcgggtgtg	gtttgtggca	atgctcctgt	3180
ctctacaggt	ggaagctagt	gaagtaggca	ctaaacaact	ggctgtcacg	ctaaccctgt	3240
ggaaaatgga	ctggacagaa	ctacttttct	atattgtctt	gatgctagcc	gttaaggaag	3300
aacttataaa	aaaaattgtg	accgctagcc	ttgtggcctt	aaaaaatagt	ccagtagcct	3360
tgagttttct	tattgtactc	agacttgtgg	ggggcagtga	agcactccca	gtaggtttat	3420
tattagaaaa	aatgtgcata	gaccaaccgg	agtttggaac	tcctttcctg	atctacctat	3480
gggacaactg	gaagtggact	gtgttagtca	gcttctccgc	actgaaccat	gaaaaaacta	3540
taaaactggc	aagaaaactg	ttgttggcaa	cacatataac	agcgctcaca	ttgactggct	3600
tgagtgattc	aatcttctat	atgatgctta	taacaacaaa	tttgtaata	aagacattca	3660
tatacttgct	gggggctagt	atgaattggg	tcgagagaga	aaaaaagaaa	ttgctagtga	3720
agaggagact	aatatacaag	aaagccgtta	cttgcagtca	ggatgagaat	gtattggaga	3780
ataaattcaa	caagataact	gtaaacgcgg	atttcacccc	atgcaagctt	gaacttctac	3840
aattacttag	ggctttttta	gtctctttgt	gtttttccta	ctacaaacct	ctcctgtatg	3900
cagagactac	cttaactgta	atagtaattg	gcgtacaaga	gtacaacgta	gccatggccc	3960
gcgggcgaag	tgtggtccac	aggctactag	ccatggccta	ttacatatac	ggccgcatac	4020
agggtgacat	gttccagctc	gccactatcc	agtgcctgct	gtcaggtccg	aggaaaatta	4080
tgaaacacat	ggtagagaat	ccaactctca	agaagctctg	gcaaggcgaa	acagaactct	4140
tcaaccaggg	tgtagtcaa	tccaagatag	tgaatccaaa	gaaaattggg	ctggaagaat	4200
tacacaaggg	catgtgtggc	ctccaacag	tagtgcaaaa	tttggtcata	tatgcaaaga	4260
agaatgactc	tcttatttta	ggagagctgg	gttaccccc	tggggatctc	accagtgatg	4320
ggtgggaaat	tttaggtcct	ggcagaatcc	caaagatcac	taacgtcgag	tctgctaaga	4380
tggacttact	ctccaaactt	atgacctttc	tggggattga	aagctcgagg	gtccccagga	4440
ccccagtcca	ctcaacaagg	aaattattga	agatagtaag	gggcttggaa	acaggatggg	4500
ggtacactca	cgcagggggg	ataagtagcg	caaacacgt	tacaggtgaa	aagaacttaa	4560
tgaccacat	ggagggtagg	aagggaaaat	atctcctaca	atctcaagaa	catggtgctg	4620
acgaggtaga	gtacggagta	aaaactgatc	aaaaagctcc	cgacaatgcc	ttatgctact	4680
gttttaacc	tgaagctaca	aacataaaa	gagagacggg	agccatggtg	ttcatgaaga	4740
agataggaaa	aaagtggact	ctcgtaacat	cagacggcaa	taaagcctat	tataatgtaa	4800
acaatttgaa	agggtgtct	ggactaccaa	taatgctgca	ctccaccggg	gccatagtgg	4860
ggaggattaa	atcagcgtat	tcagatgaaa	acgacctggt	ggaggaactt	attgactcta	4920
gaactattag	taagagcaat	gagacaaacc	tggaccacct	tatcaaggaa	ttggcagaca	4980
tgccggagggg	ggagttccgc	tcaattacc	ttggaacggg	agccgggaaa	accacagaac	5040

tgcctaggca	atacctcaca	acagtaggtg	cccataaatc	cgtgctggtc	ttagtcccct	5100
taaaagcacc	tgctgaaagt	gtttgccgct	ttatgaggtc	taaataccct	accatcaact	5160
tttccttaag	agtgggggaa	cggaaagagg	gagatgtgag	cagcggcatc	acctacgcta	5220
cttacggatt	ttgctgccag	ctaaacctag	tccaacttaa	agaatggata	tccaggtact	5280
caatggtttt	ttttgatgaa	tatcacacag	caactccaga	acaaatagcc	ataataagca	5340
agattcatgc	actgaaagtt	aagaccagga	tagtggctat	gtcagcaacc	ccccgggta	5400
ccgtgacgac	tgaaggcagg	aagtttgaca	ttgaagaggt	agggggttgct	accatagaga	5460
aaggagagga	acaaaaagg	gggcgcatag	cggtcgctgg	tatgcaggtc	ccattagaag	5520
acttaacagg	aaagaactgc	ctggtgttcg	tggcaaccaa	agaagccgcg	gagacggagg	5580
ctaaagaact	gcgcaccaga	ggaattaacg	ccacctacta	ctattcaggt	atagacccta	5640
agactctgga	acatgggatg	accaatcagc	catactgtat	tgtagctacc	aatgccattg	5700
aatcaggtat	aacctgtcct	gacttggatg	tggtcataga	caccatgcag	aagtacgaaa	5760
aagtagtgaa	tttctcggca	aagatgccct	tgattgtcac	ttcattagta	aagaaaaaaaa	5820
tcaccagggga	agaacagggc	cagaggaaag	gtcagagtggg	caggcaaaag	aaaggaaaat	5880
actactacc	ctcgggggtg	gtaccgaatg	ggtcaaaaga	cctaagctat	ttaatcctac	5940
aggccaaga	atatggtgtc	ttggaacaag	tcaatataac	agagtacttc	atcataatga	6000
atgaggactg	gggtctctat	gacgtagatg	aagtagaagt	gagaatactt	gagagaaatga	6060
acaaggaaat	cttgctacca	ctaggtattg	tggagaagca	aatcttgga	agaagtactc	6120
accggaaaa	agtggcactg	ttgtataaca	aattagtgca	gaaaaatcct	atagtatacc	6180
ctagagtaca	ggaaggtgag	gtcagcaagg	aatacaatac	ctataatctg	gccgtatatg	6240
acaagctaaa	agatgtcaac	ccacaagcca	tttatgttct	agcagaagag	gagagagcca	6300
cagaaatgat	gggtctcgag	tttgaacaag	acccatctga	cttacaggat	tcggtagttc	6360
agctttgtga	agatatcaag	aggtatacaa	aactctctgg	gatcactgag	aaactgctag	6420
taggtacgat	ggtggggtat	attggataca	aagccttaac	cagaaaccac	gtgccctggg	6480
tcagcaaaga	gtattgttat	gagctgaccg	attcaccgga	tacttacgaa	aaactattcg	6540
cacctttgga	cgtcgacgtc	caaaactccg	gtgaaggaaa	acaccagag	caactggcag	6600
accatcaatt	gaggcaacta	ctggagactg	ggagagacaa	ggcaattgat	ttcctaaaag	6660
gaatccgca	gttactagt	ggggccataa	acagtccaaa	ggcactaagt	atatgggaga	6720
aaatatatca	gtatttgaag	aagcatcagg	gcgagatcat	ctcatcagca	gcgtggggca	6780
gtgcgacggc	ccttcacgac	agtattaaat	ctagactagg	agatgaggtc	gctactgcag	6840
taataatcct	caagtattta	gcatttgggtg	aaagagaact	gtctgggcta	actaggcaag	6900
ttctaattga	catcatagta	tattatatag	ttaacaagcc	ccggttcgaa	ggagacgact	6960

acgcaaagag	aaaaggaaga	aggctagtca	tcgaagtcct	gatgggggca	ctggcgactt	7020
atgcggtgtc	caatTTTTGG	ggTgtgtcca	ttaataagat	actgcaacca	atttctgatt	7080
atctacceta	tgccaccgcc	actttggctt	ttcttcgccc	aaccttcatg	gaatcagcag	7140
tggTggtcgc	ttcctctatc	tatagagctt	ttctctccat	taagcatgcg	gaaaacagga	7200
gtcttgtcac	gcaggTcgct	tctgcccgcc	tcgaagtcac	gggcctgacc	ccagtatcgg	7260
ctggcctagg	cgtcttTgctg	gggcttgggt	tgtgtgtgct	ccatatgaac	attgacaaga	7320
atgaggagaa	aaggacactt	atactgaaaa	tgtttgtcaa	aaactttata	gaccaggcgg	7380
cactagacga	gttgataaaa	ctggagccag	aaaaaataat	cctctcattg	ttggagggta	7440
tccaaacctg	cacaaaccCG	attagagcaa	tcatgatttt	gtacagggtg	tactacaagg	7500
gagaaacttt	cacagaagct	ttgtctaaga	tggccggcaa	gtctctcatt	gtgatggTca	7560
tagtcgagtt	cctggaattg	acaggccaaa	cccaaggagg	gtatatagat	cttagtgcta	7620
atttctgac	ctttctcctc	gagaaactaa	aaaaaatgac	taacctcgcc	atcggggaag	7680
ctagaaaggT	cttgctcccc	atcccatact	tgtactgtga	aacctggcag	tctgacgccA	7740
gaatcaaggc	ccctgaatcc	tacgaccaag	tggtagtgga	atgcaaatgt	ggcgcttcag	7800
cgaggTattc	cttcccgcat	ggagttcatg	agatattgga	agaaaaaagg	actaattggT	7860
gcaagaactt	cttcttatgg	ggaccecaact	tccacaatcc	ggatccaaaa	aggatgacat	7920
tctatgaata	cggccaagca	aaaaagtgtc	ctgttatcat	aattggTgaa	gacataacct	7980
tcggcaaata	tggcatatat	atcaaatttg	gccataggcc	tgatggaggg	aggTtaataa	8040
ggggTaccac	ccacgctact	atcagtaggg	aggaattgct	ggaaatccta	acagccccaa	8100
gccaagtggc	cataggcaag	gtcaagctaa	ccgattactg	taatcaaaaa	ggaataatag	8160
acaggaaatt	ggccgtactt	gaaggTgaca	aaatacattt	ttggaaagca	caccgtggat	8220
ccaaaatcac	agaccaactc	actattgaga	atctgacaga	tgatttgggg	tcagaaatca	8280
gggacatcac	atgggagctg	tacacaggTg	gaacgtgcac	cgtaaaaagg	gtgtccctta	8340
gatcatgCgc	accaggTcat	agaactaagg	ctatggTctt	gtgtgattgc	actgatgtgc	8400
ttagccctg	ttacctaaata	aacggcagga	gaccatcccc	atTTgacgTc	gcggaaggTt	8460
atgaatgtca	ccaccggaag	ccccgagcga	cgTatgaaga	cctagaaatg	gaggaaatac	8520
taaagagacg	agTccctgtc	tacgatcctc	tgtgtttgtt	tgacactgat	agTaaactgc	8580
tacctcccga	cacctactac	ttggaagaag	atcaagagga	ctttgagtac	gcattgagat	8640
gctggggcct	cggggTttat	gtagcagacg	ggcctgtcac	ttcccccccg	gacataagaa	8700
tacaccatag	ttcggtatta	ctactgctga	cacctggagt	aaactcagag	ttgccttac	8760
agTacatacg	ttgttacctt	catcaggcag	aggTggacat	ctacattagg	agTcagcttt	8820
tggaggagga	agacactgct	acggaggTgg	aaggctccca	ggaagatggT	gatgaaggga	8880

tgggcgatgc	ggtaatagag	gatgaggata	catcgtccac	aacagaatca	ataccccac	8940
tagaagagga	ggaagggggc	gaagagccaa	tcacctatgt	ggtcataagg	ggattacaag	9000
aagaaagata	cgccagccat	cttaaactaa	atgactggat	cagtgaaaac	atttcagagc	9060
cacacagagt	ccaaattatg	ctagatggga	cagtgagagt	cacaataaaa	gagggcacaag	9120
tgaaacattt	gtttggggtc	tatagaatag	aaaactccct	ggaagcaatg	tttaaagaga	9180
ccatagctga	cctccccgta	gctacccaac	cgccccaggg	gccagtctat	acggctaaag	9240
agctggccca	agggaacatc	gccccggctc	aacctgcagc	gaattattac	ggaatgatag	9300
aggggagagg	cgaccaatg	acggcattcg	aagccttata	agtcttgccg	tcacaaaaag	9360
tcttagccaa	ggacgtgaag	gtgaacaccc	gcagggcgca	ggttttttta	aataaagtca	9420
ggagaattgc	tgaggtcaga	gcgtcggaac	tgacattaaa	atgcttaccg	atacttggca	9480
aagtaaattg	gaggaaattg	attagagagg	aaaccaacat	ccccaaccaa	aggttggcat	9540
caataatgac	ctcaatagga	attagactag	aaaaactgcc	agtgggttaga	gcaaacactt	9600
ccggctctaa	gttcagacag	tcaatcttag	aaaaaatgga	taagtatgaa	aatgaacaag	9660
tcccaggggt	acatgaaaag	atgtgggcag	cgttcctggc	aactgccagg	caagatttaa	9720
gaaataccta	tgaggaagta	acttatcttg	aattagaggg	cggaatcaat	cggaaaggag	9780
cccaggttt	ctttgaaaaa	gaaagctcaa	taggagaagt	gctggaaaaa	aaagaaaaaa	9840
ttgacgtcac	aatccaagag	attgaaaaag	gcaaccactt	atactatgaa	acagccatgc	9900
caaaaaatga	gaaaagagat	gtgcttgatg	attggttgtc	agaggatttc	gtcacttata	9960
agaaaccacg	tgtgatacag	taccctgagg	cagtcacccg	gttggccatc	accaaataa	10020
tgtataagtg	ggtgaagcaa	aagcctatag	tgattcccgg	ttatgagggg	aaaaccccga	10080
tctttgaaat	atttgaaaaa	gtcagtgacg	attgggctca	gttcaaaaat	ccggtagccg	10140
tcagcttcga	caccagagcc	tgggacactc	aagtaacaag	agaagacctc	aggctggtag	10200
ggcggataca	gaaatactat	tacaaaaaaa	aatattggaa	gttcattgac	aatttgacag	10260
ccatgatgga	ggaagtgcct	gtaatcactg	tagaaggaga	tatgttcctc	agagttggac	10320
agcgcggatc	cggacagcct	gatacctcag	caggcaattc	catgctaaat	gtgctgacta	10380
tgttggtagc	tttctctgaa	tccacaaatc	tgcccatagc	ggctgcctgg	aaggcctgtc	10440
ggatccacgt	ctgtggtgac	gacggtttct	taatcacaga	atcggaatta	gggaggaagt	10500
ttgctgaaaa	agggtttcct	ctgttagctg	catttggcaa	acccccaaaa	attacagagg	10560
gagcgagcct	aaaggtaacc	agcaactttg	acggaataga	gttttgtagt	catacccta	10620
tcagagtcca	aacaccaaac	atcaggtgga	tgccagcgag	accaacagca	acaatcctag	10680
gcaaaatgag	taccaggctg	ggtgaggggtg	ccaccaggctc	gggagaagaa	tacgaaaaac	10740
agggtggcatt	cgcatatcta	ctgatgtacc	cctggaaccc	gctggtcagg	agaatcagcc	10800

tcctattggt atcgactact gacccaatgg ggaaagagga aaccccatgc tccgatgagg 10860
 ggggtgaagta tgttggggac cctatcgctg catacagggga tgtatggggg cacaaattag 10920
 aggatgtagg ccatgttgat caaccgcagt tatcccggat gaactatagc atgacttact 10980
 tagggatttg gaaaccaaag acaagtcagc ggctagtcga acagtgttgt cgtctggccg 11040
 agaaaagcaa ttgtgtggta cgtgctgact ccctgataaa gaaaaaggtc aagatcactt 11100
 atgaccgagg gataggagt gctcaggtca ttcgtaggtg ggaagagctt gagtggacca 11160
 gaaggaaacc tgaactcacc aatgtaattg tagaagatga tatcttccta gtcctgtgga 11220
 agagattttc aaagtacatt tttcagaaaa tgaagttcat gcagagaatg ttcgccctt 11280
 attaagtggg gggcactcat ttaaattata accagtatct ggtaagtata agatttgtgt 11340
 aaataaagta tataactgaa aggggcaagt ggccgtatag gctgggggtga tcgccgcacc 11400
 ccccccttca ctaggcgcct caaccccatg taccatgggg ttgttgtaaa tacttgaatg 11460
 aatggagtaa tacgggtaac aaacttatag gccagtattg cccatttgc tttatagtgg 11520
 tgacgacctg tatagggtccg atctgatatc 11550

<210> 2
 <211> 3635
 <212> БЕЛОК
 <213> пестивирус типа 2

 <400> 2

Met Glu Lys Gln Ile Ala Tyr Tyr Leu Lys Lys Glu Lys Gln Arg Asn
 1 5 10 15

 Gly Trp Thr Glu Leu Val Val Gly Glu Ser His Thr Lys Ile Thr Thr
 20 25 30

 Leu Ser Gly Lys Thr Tyr Arg Gly Thr Trp Glu Met Glu Lys Arg Pro
 35 40 45

 Asn Pro Tyr Gly Thr Tyr Leu Pro Arg Pro Ser Pro Gln Gln Leu Thr
 50 55 60

 Ala Leu His Pro His Pro Val Val Asn Cys Lys Val Val Glu Tyr Lys
 65 70 75 80

 Glu Met Asp Pro Asn Tyr Gly Asp Cys Pro Asn Thr Asn Gly Val Phe
 85 90 95

 Val Asp Glu Lys Gly Arg Arg Leu Ser Ser Pro Pro Leu Gly Ile Trp
 100 105 110

 Lys Ile Arg Leu Asp Tyr Ser Asp Leu Val Asn Ile Ser Arg Pro Thr

115

120

125

Pro Ala Ser Gly Lys Asn Ser Tyr Gln Val Glu Thr Cys Ser Gly Glu
 130 135 140

Leu Ala Thr Val Thr Leu Val His Asn Arg Val Leu Val Glu Asp Cys
 145 150 155 160

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

Val Lys Thr Cys Ser Asp Trp Ala Asp Gln Val Glu Lys Gln Glu Lys
 180 185 190

Glu Ser Pro Pro Lys Pro Gln Arg Pro Pro Arg Arg Asp Pro Arg Lys
 195 200 205

Gly Leu Gln Pro Gln Val Pro Lys Glu Thr Glu Val Thr Glu Lys Lys
 210 215 220

Arg Gln Pro Ser Val Thr Leu Val Ser Gly Gly Gln Lys Ala Gln Val
 225 230 235 240

Ile Tyr Lys Gly Arg Thr Lys Asn Lys Lys Thr Pro Asp Gly Val Tyr
 245 250 255

Arg Tyr Pro Gly Ala Lys Glu Gly Asp Val Val Lys Val Arg Lys Met
 260 265 270

Leu Lys Asn Trp His Ile Ala Leu Val Met Tyr Leu Ile His Ile Ile
 275 280 285

Thr Pro Gly Leu Ala Lys Val Gln Trp Phe Leu Lys Asp Glu Asn Ser
 290 295 300

Thr Gly Ile Asn Gln Ile Leu Trp Gln Arg Gln Ile Asn Arg Ser Leu
 305 310 315 320

His Gly Glu Trp Pro Asn Gln Ile Cys His Gly Met Pro Asn Glu Thr
 325 330 335

Ile Thr Asp Glu Glu Leu Arg Ser Leu Gly Met Val Asp Thr Ser Pro
 340 345 350

Arg Thr Asn Tyr Thr Cys Cys Gln Leu Gln Tyr His Glu Trp Lys Lys
 355 360 365

His Gly Trp Cys Asn Tyr Pro Gln Lys Gln Ala Trp Ile Thr Arg Ile

370

375

380

Thr Ala Leu Gln Ala Asn Leu Thr Gly Pro Tyr Glu Gly Pro Glu Cys
385 390 395 400

Ala Val Ile Cys Arg Phe Asn Gly Ser Tyr Asn Ile Val Lys Gln Ala
405 410 415

Arg Asp Glu Val Ser Pro Leu Thr Gly Cys Lys Glu Gly His Pro Phe
420 425 430

Leu Phe Ser Gly Glu Arg Ser Asp Thr Ser Cys Leu Arg Pro Pro Ser
435 440 445

Thr Ser Trp Val Arg Pro Val Lys Met Asp Glu Ala Ser Met Ala Asp
450 455 460

Gly Phe Ala His Gly Val Asp Lys Ala Ile Ile Leu Ile Arg Lys Gly
465 470 475 480

Ala Ser Gly Ile Ile Asn Phe Leu Asp Thr Ile Gly Arg Trp Leu Pro
485 490 495

Val Ala Glu Ala Thr Ile Val Pro Tyr Cys Asp Thr Tyr Thr Val Thr
500 505 510

Gly Met Tyr Val His Val Lys Asn Cys Leu Pro Arg Gly Leu Pro Lys
515 520 525

His Ser Lys Ile Ile Ser Pro Thr Met Ile Tyr Leu Gly Glu Gly Asp
530 535 540

Pro Ala His Asn Ile Gln His Leu Phe Gly Ser Gly Ile Ala Lys Trp
545 550 555 560

Val Leu Val Leu Leu Gly Ile Leu Gly Glu Trp Tyr Gly Glu Leu Ala
565 570 575

Ser Thr Ile Tyr Leu Leu Leu Glu Tyr Gly Ser Glu Trp Leu Glu His
580 585 590

Glu Ser Leu Val Thr Glu Gly Leu Ile Pro Gly Ile Asn Ile Thr Ile
595 600 605

Glu Leu Pro Ala Ser His Thr Val Pro Gly Trp Val Trp Val Ala Gly
610 615 620

Gln Trp Val Cys Val Lys Pro Asp Trp Trp Pro Thr Gln Ile Trp Ile

885

890

895

Thr Lys Met Pro Thr Ala Ser Ser Ala Ala Thr Met Tyr Arg His Leu
 900 905 910

Leu Pro Leu Leu Val Ala Cys Leu Met Gly Gly Arg Ile Ser Val Trp
 915 920 925

Phe Val Ala Met Leu Leu Ser Leu Gln Val Glu Ala Ser Glu Val Gly
 930 935 940

Thr Lys Gln Leu Ala Val Thr Leu Thr Leu Trp Lys Met Asp Trp Thr
 945 950 955 960

Glu Leu Leu Phe Tyr Ile Val Leu Met Leu Ala Val Lys Glu Glu Leu
 965 970 975

Ile Lys Lys Ile Val Thr Ala Ser Leu Val Ala Leu Lys Asn Ser Pro
 980 985 990

Val Ala Leu Ser Phe Leu Ile Val Leu Arg Leu Val Gly Gly Ser Glu
 995 1000 1005

Ala Leu Pro Val Gly Leu Leu Leu Glu Lys Met Cys Ile Asp Gln
 1010 1015 1020

Pro Glu Phe Gly Thr Pro Phe Leu Ile Tyr Leu Trp Asp Asn Trp
 1025 1030 1035

Lys Trp Thr Val Leu Val Ser Phe Ser Ala Leu Asn His Glu Lys
 1040 1045 1050

Thr Ile Lys Leu Ala Arg Lys Leu Leu Leu Ala Thr His Ile Thr
 1055 1060 1065

Ala Leu Thr Leu Thr Gly Leu Ser Asp Ser Ile Phe Tyr Met Met
 1070 1075 1080

Leu Ile Thr Thr Asn Leu Leu Ile Lys Thr Phe Ile Tyr Leu Leu
 1085 1090 1095

Gly Ala Ser Met Asn Trp Val Glu Arg Glu Lys Lys Lys Leu Leu
 1100 1105 1110

Val Lys Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Lys Ala Val Thr Cys Ser Gln
 1115 1120 1125

Asp Glu Asn Val Leu Glu Asn Lys Phe Asn Lys Ile Thr Val Asn

1130							1135								1140
Ala	Asp	Phe	Thr	Pro	Cys	Lys	Leu	Glu	Leu	Leu	Gln	Leu	Leu	Arg	
1145						1150					1155				
Ala	Phe	Leu	Val	Ser	Leu	Cys	Phe	Ser	Tyr	Tyr	Lys	Pro	Leu	Leu	
1160						1165					1170				
Tyr	Ala	Glu	Thr	Thr	Leu	Thr	Val	Ile	Val	Ile	Gly	Val	Gln	Glu	
1175						1180					1185				
Tyr	Asn	Val	Ala	Met	Ala	Arg	Gly	Arg	Ser	Val	Val	His	Arg	Leu	
1190						1195					1200				
Leu	Ala	Met	Ala	Tyr	Tyr	Ile	Tyr	Gly	Arg	Ile	Gln	Gly	Asp	Met	
1205						1210					1215				
Phe	Gln	Leu	Ala	Thr	Ile	Gln	Cys	Leu	Leu	Ser	Ser	Pro	Arg	Lys	
1220						1225					1230				
Ile	Met	Lys	His	Met	Val	Glu	Asn	Pro	Thr	Leu	Lys	Lys	Leu	Trp	
1235						1240					1245				
Gln	Gly	Glu	Thr	Glu	Leu	Phe	Asn	Gln	Gly	Val	Ser	Gln	Ser	Lys	
1250						1255					1260				
Ile	Val	Asn	Pro	Lys	Lys	Ile	Gly	Leu	Glu	Glu	Leu	His	Lys	Gly	
1265						1270					1275				
Met	Cys	Gly	Leu	Pro	Thr	Val	Val	Gln	Asn	Leu	Val	Ile	Tyr	Ala	
1280						1285					1290				
Lys	Lys	Asn	Asp	Ser	Leu	Ile	Leu	Gly	Glu	Leu	Gly	Tyr	Pro	Pro	
1295						1300					1305				
Gly	Asp	Leu	Thr	Ser	Asp	Gly	Trp	Glu	Ile	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	
1310						1315					1320				
Ile	Pro	Lys	Ile	Thr	Asn	Val	Glu	Ser	Ala	Lys	Met	Asp	Leu	Leu	
1325						1330					1335				
Ser	Lys	Leu	Met	Thr	Phe	Leu	Gly	Ile	Glu	Ser	Ser	Arg	Val	Pro	
1340						1345					1350				
Arg	Thr	Pro	Val	His	Ser	Thr	Arg	Lys	Leu	Leu	Lys	Ile	Val	Arg	
1355						1360					1365				
Gly	Leu	Glu	Thr	Gly	Trp	Gly	Tyr	Thr	His	Ala	Gly	Gly	Ile	Ser	

1370														
Ser	Ala	Lys	His	Val	Thr	Gly	Glu	Lys	Asn	Leu	Met	Thr	His	Met
1385						1390					1395			
Glu	Gly	Arg	Lys	Gly	Lys	Tyr	Ile	Leu	Gln	Ser	Gln	Glu	His	Gly
1400						1405					1410			
Ala	Asp	Glu	Val	Glu	Tyr	Gly	Val	Lys	Thr	Asp	Gln	Lys	Ala	Pro
1415						1420					1425			
Asp	Asn	Ala	Leu	Cys	Tyr	Cys	Phe	Asn	Pro	Glu	Ala	Thr	Asn	Ile
1430						1435					1440			
Lys	Gly	Glu	Thr	Gly	Ala	Met	Val	Phe	Met	Lys	Lys	Ile	Gly	Lys
1445						1450					1455			
Lys	Trp	Thr	Leu	Val	Thr	Ser	Asp	Gly	Asn	Lys	Ala	Tyr	Tyr	Asn
1460						1465					1470			
Val	Asn	Asn	Leu	Lys	Gly	Trp	Ser	Gly	Leu	Pro	Ile	Met	Leu	His
1475						1480					1485			
Ser	Thr	Gly	Ala	Ile	Val	Gly	Arg	Ile	Lys	Ser	Ala	Tyr	Ser	Asp
1490						1495					1500			
Glu	Asn	Asp	Leu	Val	Glu	Glu	Leu	Ile	Asp	Ser	Arg	Thr	Ile	Ser
1505						1510					1515			
Lys	Ser	Asn	Glu	Thr	Asn	Leu	Asp	His	Leu	Ile	Lys	Glu	Leu	Ala
1520						1525					1530			
Asp	Met	Arg	Arg	Gly	Glu	Phe	Arg	Ser	Ile	Thr	Leu	Gly	Thr	Gly
1535						1540					1545			
Ala	Gly	Lys	Thr	Thr	Glu	Leu	Pro	Arg	Gln	Tyr	Leu	Thr	Thr	Val
1550						1555					1560			
Gly	Ala	His	Lys	Ser	Val	Leu	Val	Leu	Val	Pro	Leu	Lys	Ala	Pro
1565						1570					1575			
Ala	Glu	Ser	Val	Cys	Arg	Phe	Met	Arg	Ser	Lys	Tyr	Pro	Thr	Ile
1580						1585					1590			
Asn	Phe	Ser	Leu	Arg	Val	Gly	Glu	Arg	Lys	Glu	Gly	Asp	Val	Ser
1595						1600					1605			
Ser	Gly	Ile	Thr	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Gly	Phe	Cys	Cys	Gln	Leu	Asn

1610						1615						1620			
Leu	Val	Gln	Leu	Lys	Glu	Trp	Ile	Ser	Arg	Tyr	Ser	Met	Val	Phe	
	1625					1630					1635				
Phe	Asp	Glu	Tyr	His	Thr	Ala	Thr	Pro	Glu	Gln	Ile	Ala	Ile	Ile	
	1640					1645					1650				
Ser	Lys	Ile	His	Ala	Leu	Lys	Val	Lys	Thr	Arg	Ile	Val	Ala	Met	
	1655					1660					1665				
Ser	Ala	Thr	Pro	Pro	Gly	Thr	Val	Thr	Thr	Glu	Gly	Arg	Lys	Phe	
	1670					1675					1680				
Asp	Ile	Glu	Glu	Val	Gly	Val	Ala	Thr	Ile	Glu	Lys	Gly	Glu	Glu	
	1685					1690					1695				
Pro	Lys	Arg	Gly	Arg	Ile	Ala	Val	Ala	Gly	Met	Gln	Val	Pro	Leu	
	1700					1705					1710				
Glu	Asp	Leu	Thr	Gly	Lys	Asn	Cys	Leu	Val	Phe	Val	Ala	Thr	Lys	
	1715					1720					1725				
Glu	Ala	Ala	Glu	Thr	Glu	Ala	Lys	Glu	Leu	Arg	Thr	Arg	Gly	Ile	
	1730					1735					1740				
Asn	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Ile	Asp	Pro	Lys	Thr	Leu	Glu	
	1745					1750					1755				
His	Gly	Met	Thr	Asn	Gln	Pro	Tyr	Cys	Ile	Val	Ala	Thr	Asn	Ala	
	1760					1765					1770				
Ile	Glu	Ser	Gly	Ile	Thr	Cys	Pro	Asp	Leu	Asp	Val	Val	Ile	Asp	
	1775					1780					1785				
Thr	Met	Gln	Lys	Tyr	Glu	Lys	Val	Val	Asn	Phe	Ser	Ala	Lys	Met	
	1790					1795					1800				
Pro	Leu	Ile	Val	Thr	Ser	Leu	Val	Lys	Lys	Lys	Ile	Thr	Arg	Glu	
	1805					1810					1815				
Glu	Gln	Gly	Gln	Arg	Lys	Gly	Arg	Val	Gly	Arg	Gln	Lys	Lys	Gly	
	1820					1825					1830				
Lys	Tyr	Tyr	Tyr	Pro	Ser	Gly	Val	Val	Pro	Asn	Gly	Ser	Lys	Asp	
	1835					1840					1845				
Leu	Ser	Tyr	Leu	Ile	Leu	Gln	Ala	Gln	Glu	Tyr	Gly	Val	Leu	Glu	

1850						1855						1860			
Gln	Val	Asn	Ile	Thr	Glu	Tyr	Phe	Ile	Ile	Met	Asn	Glu	Asp	Trp	
	1865					1870					1875				
Gly	Leu	Tyr	Asp	Val	Asp	Glu	Val	Glu	Val	Arg	Ile	Leu	Glu	Arg	
	1880					1885					1890				
Met	Asn	Lys	Glu	Ile	Leu	Leu	Pro	Leu	Gly	Ile	Val	Glu	Lys	Gln	
	1895					1900					1905				
Ile	Leu	Glu	Arg	Ser	Thr	His	Pro	Glu	Lys	Val	Ala	Leu	Leu	Tyr	
	1910					1915					1920				
Asn	Lys	Leu	Val	Gln	Lys	Asn	Pro	Ile	Val	Tyr	Pro	Arg	Val	Gln	
	1925					1930					1935				
Glu	Gly	Glu	Val	Ser	Lys	Glu	Tyr	Asn	Thr	Tyr	Asn	Leu	Ala	Val	
	1940					1945					1950				
Tyr	Asp	Lys	Leu	Lys	Asp	Val	Asn	Pro	Gln	Ala	Ile	Tyr	Val	Leu	
	1955					1960					1965				
Ala	Glu	Glu	Glu	Arg	Ala	Thr	Glu	Met	Met	Gly	Leu	Glu	Phe	Glu	
	1970					1975					1980				
Gln	Asp	Pro	Ser	Asp	Leu	Gln	Asp	Ser	Val	Val	Gln	Leu	Cys	Glu	
	1985					1990					1995				
Asp	Ile	Lys	Arg	Tyr	Thr	Lys	Leu	Ser	Gly	Ile	Thr	Glu	Lys	Leu	
	2000					2005					2010				
Leu	Val	Gly	Thr	Met	Val	Gly	Tyr	Ile	Gly	Tyr	Lys	Ala	Leu	Thr	
	2015					2020					2025				
Arg	Asn	His	Val	Pro	Trp	Val	Ser	Lys	Glu	Tyr	Cys	Tyr	Glu	Leu	
	2030					2035					2040				
Thr	Asp	Ser	Pro	Asp	Thr	Tyr	Glu	Asn	Ser	Phe	Ala	Pro	Leu	Asp	
	2045					2050					2055				
Val	Asp	Val	Gln	Asn	Ser	Gly	Glu	Gly	Lys	His	Pro	Glu	Gln	Leu	
	2060					2065					2070				
Ala	Asp	His	Gln	Leu	Arg	Gln	Leu	Leu	Glu	Thr	Gly	Arg	Asp	Lys	
	2075					2080					2085				
Ala	Ile	Asp	Phe	Leu	Lys	Gly	Ile	Arg	Glu	Phe	Thr	Ser	Gly	Ala	

2090						2095						2100			
Ile	Asn	Ser	Pro	Lys	Ala	Leu	Ser	Ile	Trp	Glu	Lys	Ile	Tyr	Gln	
	2105					2110					2115				
Tyr	Leu	Lys	Lys	His	Gln	Gly	Glu	Ile	Ile	Ser	Ser	Ala	Ala	Trp	
	2120					2125					2130				
Gly	Ser	Ala	Thr	Ala	Leu	His	Asp	Ser	Ile	Lys	Ser	Arg	Leu	Gly	
	2135					2140					2145				
Asp	Glu	Val	Ala	Thr	Ala	Val	Ile	Ile	Leu	Lys	Tyr	Leu	Ala	Phe	
	2150					2155					2160				
Gly	Glu	Arg	Glu	Leu	Ser	Gly	Leu	Thr	Arg	Gln	Val	Leu	Ile	Asp	
	2165					2170					2175				
Ile	Ile	Val	Tyr	Tyr	Ile	Val	Asn	Lys	Pro	Arg	Phe	Glu	Gly	Asp	
	2180					2185					2190				
Asp	Tyr	Ala	Lys	Arg	Lys	Gly	Arg	Arg	Leu	Val	Ile	Glu	Val	Leu	
	2195					2200					2205				
Met	Gly	Ala	Leu	Ala	Thr	Tyr	Ala	Val	Ser	Asn	Phe	Trp	Gly	Val	
	2210					2215					2220				
Ser	Ile	Asn	Lys	Ile	Leu	Gln	Pro	Ile	Ser	Asp	Tyr	Leu	Pro	Tyr	
	2225					2230					2235				
Ala	Thr	Ala	Thr	Leu	Ala	Phe	Leu	Arg	Pro	Thr	Phe	Met	Glu	Ser	
	2240					2245					2250				
Ala	Val	Val	Val	Ala	Ser	Ser	Ile	Tyr	Arg	Ala	Phe	Leu	Ser	Ile	
	2255					2260					2265				
Lys	His	Ala	Glu	Asn	Arg	Ser	Leu	Val	Thr	Gln	Val	Ala	Ser	Ala	
	2270					2275					2280				
Ala	Leu	Glu	Val	Met	Gly	Leu	Thr	Pro	Val	Ser	Ala	Gly	Leu	Gly	
	2285					2290					2295				
Val	Leu	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Cys	Val	Leu	His	Met	Asn	Ile	Asp	
	2300					2305					2310				
Lys	Asn	Glu	Glu	Lys	Arg	Thr	Leu	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Val	Lys	
	2315					2320					2325				
Asn	Phe	Ile	Asp	Gln	Ala	Ala	Leu	Asp	Glu	Leu	Asp	Lys	Leu	Glu	

2330							2335										2340
Pro	Glu	Lys	Ile	Ile	Leu	Ser	Leu	Leu	Glu	Gly	Ile	Gln	Thr	Cys			
2345						2350					2355						
Thr	Asn	Pro	Ile	Arg	Ala	Ile	Met	Ile	Leu	Tyr	Arg	Val	Tyr	Tyr			
2360						2365					2370						
Lys	Gly	Glu	Thr	Phe	Thr	Glu	Ala	Leu	Ser	Lys	Met	Ala	Gly	Lys			
2375						2380					2385						
Ser	Leu	Ile	Val	Met	Val	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Glu	Leu	Thr	Gly			
2390						2395					2400						
Gln	Thr	Gln	Gly	Gly	Tyr	Ile	Asp	Leu	Ser	Ala	Asn	Leu	Leu	Thr			
2405						2410					2415						
Phe	Leu	Leu	Glu	Lys	Leu	Lys	Lys	Met	Thr	Asn	Leu	Ala	Ile	Gly			
2420						2425					2430						
Glu	Ala	Arg	Lys	Val	Leu	Leu	Pro	Ile	Pro	Tyr	Leu	Tyr	Cys	Glu			
2435						2440					2445						
Thr	Trp	Gln	Ser	Asp	Ala	Arg	Ile	Lys	Ala	Pro	Glu	Ser	Tyr	Asp			
2450						2455					2460						
Gln	Val	Val	Val	Glu	Cys	Lys	Cys	Gly	Ala	Ser	Ala	Arg	Tyr	Ser			
2465						2470					2475						
Phe	Arg	Asp	Gly	Val	His	Glu	Ile	Leu	Glu	Glu	Lys	Arg	Thr	Asn			
2480						2485					2490						
Trp	Cys	Lys	Asn	Phe	Phe	Leu	Trp	Gly	Pro	Asn	Phe	His	Asn	Pro			
2495						2500					2505						
Asp	Pro	Lys	Arg	Met	Thr	Phe	Tyr	Glu	Tyr	Gly	Gln	Ala	Lys	Lys			
2510						2515					2520						
Cys	Pro	Val	Ile	Ile	Ile	Gly	Glu	Asp	Ile	Thr	Phe	Gly	Lys	Tyr			
2525						2530					2535						
Gly	Ile	Tyr	Ile	Lys	Phe	Gly	His	Arg	Pro	Asp	Gly	Gly	Arg	Leu			
2540						2545					2550						
Ile	Arg	Gly	Thr	Thr	His	Ala	Thr	Ile	Ser	Arg	Glu	Glu	Leu	Leu			
2555						2560					2565						
Glu	Ile	Leu	Thr	Ala	Pro	Ser	Gln	Val	Ala	Ile	Gly	Lys	Val	Lys			

2570

2575

2580

Leu Thr Asp Tyr Cys Asn Gln Lys Gly Ile Ile Asp Arg Lys Leu
2585 2590 2595

Ala Val Leu Glu Gly Asp Lys Ile His Phe Trp Lys Ala His Arg
2600 2605 2610

Gly Ser Lys Ile Thr Asp Gln Leu Thr Ile Glu Asn Leu Thr Asp
2615 2620 2625

Asp Leu Gly Ser Glu Ile Arg Asp Ile Thr Trp Glu Leu Tyr Thr
2630 2635 2640

Gly Gly Thr Cys Thr Val Lys Gly Val Ser Leu Arg Ser Cys Ala
2645 2650 2655

Pro Gly His Arg Thr Lys Ala Met Val Leu Cys Asp Cys Thr Asp
2660 2665 2670

Val Leu Ser Pro Cys Tyr Leu Ile Asn Gly Arg Arg Pro Ser Pro
2675 2680 2685

Phe Asp Val Ala Glu Gly Tyr Glu Cys His His Arg Lys Pro Arg
2690 2695 2700

Ala Thr Tyr Glu Asp Leu Glu Met Glu Glu Ile Leu Lys Arg Arg
2705 2710 2715

Val Pro Val Tyr Asp Pro Leu Cys Leu Phe Asp Thr Asp Ser Lys
2720 2725 2730

Leu Leu Pro Pro Asp Thr Tyr Tyr Leu Glu Glu Asp Gln Glu Asp
2735 2740 2745

Phe Glu Tyr Ala Leu Arg Cys Trp Gly Leu Gly Val Tyr Val Ala
2750 2755 2760

Asp Gly Pro Val Thr Ser Pro Pro Asp Ile Arg Ile His His Ser
2765 2770 2775

Ser Val Leu Leu Leu Leu Thr Pro Gly Val Asn Ser Glu Leu Pro
2780 2785 2790

Leu Gln Tyr Ile Arg Cys Tyr Pro His Gln Ala Glu Val Asp Ile
2795 2800 2805

Tyr Ile Arg Ser Gln Leu Leu Glu Glu Glu Asp Thr Ala Thr Glu

2810						2815						2820			
Val	Glu	Gly	Ser	Gln	Glu	Asp	Gly	Asp	Glu	Gly	Met	Gly	Asp	Ala	
	2825					2830					2835				
Val	Ile	Glu	Asp	Glu	Asp	Thr	Ser	Ser	Thr	Thr	Glu	Ser	Ile	Pro	
	2840					2845					2850				
Pro	Leu	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Glu	Glu	Pro	Ile	Thr	Tyr	Val	
	2855					2860					2865				
Val	Ile	Arg	Gly	Leu	Gln	Glu	Glu	Arg	Tyr	Ala	Ser	His	Leu	Lys	
	2870					2875					2880				
Leu	Asn	Asp	Trp	Ile	Ser	Glu	Asn	Ile	Ser	Glu	Pro	His	Arg	Val	
	2885					2890					2895				
Gln	Ile	Met	Leu	Asp	Gly	Thr	Val	Arg	Val	Thr	Ile	Lys	Glu	Gly	
	2900					2905					2910				
Lys	Val	Lys	His	Leu	Phe	Gly	Val	Tyr	Arg	Ile	Glu	Asn	Ser	Leu	
	2915					2920					2925				
Glu	Ala	Met	Phe	Lys	Glu	Thr	Ile	Ala	Asp	Leu	Pro	Val	Ala	Thr	
	2930					2935					2940				
Gln	Pro	Pro	Gln	Gly	Pro	Val	Tyr	Thr	Ala	Lys	Glu	Leu	Ala	Gln	
	2945					2950					2955				
Gly	Asn	Ile	Ala	Pro	Val	Gln	Pro	Ala	Ala	Asn	Tyr	Tyr	Gly	Met	
	2960					2965					2970				
Ile	Glu	Gly	Arg	Gly	Asp	Pro	Met	Thr	Ala	Phe	Glu	Ala	Leu	Ser	
	2975					2980					2985				
Val	Leu	Arg	Ser	Gln	Lys	Val	Leu	Ala	Lys	Asp	Val	Lys	Val	Asn	
	2990					2995					3000				
Thr	Arg	Arg	Ala	Gln	Val	Phe	Leu	Asn	Lys	Val	Arg	Arg	Ile	Ala	
	3005					3010					3015				
Glu	Val	Arg	Ala	Ser	Glu	Leu	Thr	Leu	Lys	Cys	Leu	Pro	Ile	Leu	
	3020					3025					3030				
Gly	Lys	Val	Asn	Gly	Arg	Lys	Leu	Ile	Arg	Glu	Glu	Thr	Asn	Ile	
	3035					3040					3045				
Pro	Asn	Gln	Arg	Leu	Ala	Ser	Ile	Met	Thr	Ser	Ile	Gly	Ile	Arg	

3050						3055						3060			
Leu	Glu	Lys	Leu	Pro	Val	Val	Arg	Ala	Asn	Thr	Ser	Gly	Ser	Lys	
	3065					3070					3075				
Phe	Arg	Gln	Ser	Ile	Leu	Glu	Lys	Met	Asp	Lys	Tyr	Glu	Asn	Glu	
	3080					3085					3090				
Gln	Val	Pro	Gly	Leu	His	Glu	Lys	Met	Trp	Ala	Ala	Phe	Leu	Ala	
	3095					3100					3105				
Thr	Ala	Arg	Gln	Asp	Leu	Arg	Asn	Thr	Tyr	Glu	Glu	Val	Thr	Tyr	
	3110					3115					3120				
Leu	Glu	Leu	Glu	Ala	Gly	Ile	Asn	Arg	Lys	Gly	Ala	Pro	Gly	Phe	
	3125					3130					3135				
Phe	Glu	Lys	Glu	Ser	Ser	Ile	Gly	Glu	Val	Leu	Glu	Lys	Lys	Glu	
	3140					3145					3150				
Lys	Ile	Asp	Val	Thr	Ile	Gln	Glu	Ile	Glu	Lys	Gly	Asn	His	Leu	
	3155					3160					3165				
Tyr	Tyr	Glu	Thr	Ala	Met	Pro	Lys	Asn	Glu	Lys	Arg	Asp	Val	Leu	
	3170					3175					3180				
Asp	Asp	Trp	Leu	Ser	Glu	Asp	Phe	Val	Thr	Tyr	Lys	Lys	Pro	Arg	
	3185					3190					3195				
Val	Ile	Gln	Tyr	Pro	Glu	Ala	Val	Thr	Arg	Leu	Ala	Ile	Thr	Lys	
	3200					3205					3210				
Ile	Met	Tyr	Lys	Trp	Val	Lys	Gln	Lys	Pro	Ile	Val	Ile	Pro	Gly	
	3215					3220					3225				
Tyr	Glu	Gly	Lys	Thr	Pro	Ile	Phe	Glu	Ile	Phe	Glu	Lys	Val	Ser	
	3230					3235					3240				
Ala	Asp	Trp	Ala	Gln	Phe	Lys	Asn	Pro	Val	Ala	Val	Ser	Phe	Asp	
	3245					3250					3255				
Thr	Arg	Ala	Trp	Asp	Thr	Gln	Val	Thr	Arg	Glu	Asp	Leu	Arg	Leu	
	3260					3265					3270				
Val	Gly	Arg	Ile	Gln	Lys	Tyr	Tyr	Tyr	Lys	Lys	Lys	Tyr	Trp	Lys	
	3275					3280					3285				
Phe	Ile	Asp	Asn	Leu	Thr	Ala	Met	Met	Glu	Glu	Val	Pro	Val	Ile	

3290						3295						3300			
Thr	Val	Glu	Gly	Asp	Met	Phe	Leu	Arg	Val	Gly	Gln	Arg	Gly	Ser	
	3305					3310					3315				
Gly	Gln	Pro	Asp	Thr	Ser	Ala	Gly	Asn	Ser	Met	Leu	Asn	Val	Leu	
	3320					3325					3330				
Thr	Met	Leu	Val	Ala	Phe	Ser	Glu	Ser	Thr	Asn	Leu	Pro	Ile	Ala	
	3335					3340					3345				
Ala	Ala	Trp	Lys	Ala	Cys	Arg	Ile	His	Val	Cys	Gly	Asp	Asp	Gly	
	3350					3355					3360				
Phe	Leu	Ile	Thr	Glu	Ser	Glu	Leu	Gly	Arg	Lys	Phe	Ala	Glu	Lys	
	3365					3370					3375				
Gly	Val	Pro	Leu	Leu	Ala	Ala	Phe	Gly	Lys	Pro	Gln	Lys	Ile	Thr	
	3380					3385					3390				
Glu	Gly	Ala	Ser	Leu	Lys	Val	Thr	Ser	Asn	Phe	Asp	Gly	Ile	Glu	
	3395					3400					3405				
Phe	Cys	Ser	His	Thr	Pro	Ile	Arg	Val	Gln	Thr	Pro	Asn	Ile	Arg	
	3410					3415					3420				
Trp	Met	Pro	Ala	Arg	Pro	Thr	Ala	Thr	Ile	Leu	Gly	Lys	Met	Ser	
	3425					3430					3435				
Thr	Arg	Leu	Gly	Glu	Gly	Ala	Thr	Arg	Ser	Gly	Glu	Glu	Tyr	Glu	
	3440					3445					3450				
Lys	Gln	Val	Ala	Phe	Ala	Tyr	Leu	Leu	Met	Tyr	Pro	Trp	Asn	Pro	
	3455					3460					3465				
Leu	Val	Arg	Arg	Ile	Ser	Leu	Leu	Leu	Leu	Ser	Thr	Thr	Asp	Pro	
	3470					3475					3480				
Met	Gly	Lys	Glu	Glu	Thr	Pro	Cys	Ser	Asp	Glu	Gly	Val	Lys	Tyr	
	3485					3490					3495				
Val	Gly	Asp	Pro	Ile	Ala	Ala	Tyr	Arg	Asp	Val	Trp	Gly	His	Lys	
	3500					3505					3510				
Leu	Glu	Asp	Val	Gly	His	Val	Asp	Gln	Pro	Gln	Leu	Ser	Arg	Met	
	3515					3520					3525				
Asn	Tyr	Ser	Met	Thr	Tyr	Leu	Gly	Ile	Trp	Lys	Pro	Lys	Thr	Ser	

3530 3535 3540

Gln Arg Leu Val Glu Gln Cys Cys Arg Leu Ala Glu Lys Ser Asn
3545 3550 3555

Cys Val Val Arg Ala Asp Ser Leu Ile Lys Lys Lys Val Lys Ile
3560 3565 3570

Thr Tyr Asp Pro Gly Ile Gly Val Ala Gln Val Ile Arg Arg Trp
3575 3580 3585

Glu Glu Leu Glu Trp Thr Arg Arg Lys Pro Glu Leu Thr Asn Val
3590 3595 3600

Ile Val Glu Asp Asp Ile Phe Leu Val Leu Trp Lys Arg Phe Ser
3605 3610 3615

Lys Tyr Ile Phe Gln Lys Met Lys Phe Met Gln Arg Met Phe Ala
3620 3625 3630

Pro Tyr
3635

<210> 3
<211> 540
<212> ДНК
<213> пестивирус типа 2

<400> 3
atggaaaaac agattgcata ttacttaaaa aaagaaaaaac aaagaaatgg gtggacggaa 60
ctgggtgtag gagaaagtca taaaaaata accacgcttt ctggaaagac ctatcgagggc 120
acctgggaaa tggagaaacg gccaaatcct tatggaacct atctccccag acctagtccc 180
caacagctta cagccctaca cccccacca gtggtgaatt gtaaggtggt tgagtacaag 240
gagatggacc ctaattatgg tgattgccca aatacgaacg ggggtgtttgt tgacgaaaag 300
ggtagaaggc tgagcagccc tccattaggc atttggaaga taagattgga ctatagtgc 360
ttggtaaaca taagcagacc aacccccgct agtgggaaaa actcttacca agttgagacc 420
tgcagtgggg agctggctac agtgacactg gtacacaata ggggtgctcgt ggaagattgc 480
agggggctat accaatggaa acccaactgt gaaggaattg tgctctatgt gaaaacttgt 540

<210> 4
<211> 180
<212> БЕЛОК
<213> пестивирус типа 2

<400> 4

Met Glu Lys Gln Ile Ala Tyr Tyr Leu Lys Lys Glu Lys Gln Arg Asn

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

```

<210> 5
<211> 333
<212> ДНК
<213> пестивирус типа 2

<400> 5
tctgactggg cagatcaggt agaaaaacag gagaaagaaa gcccccaaaa accacagcgg          60
ccaccaaggc gagaccacg aaaaggggta caaccacaag tccccaaaga gactgaggtc          120
acagaaaaga agagacaacc tagtgtcacc ttagtatcgg gggggcagaa ggcccaagtc          180
atctacaaag gcaggaccaa aaacaaaaag accccggatg gagtctatag ataccagga          240
gctaaagaag gggacgtagt aaaggtcagg aagatgctga agaattggca tatagcetta          300
gtgatgtacc tgatacatat cataactcca ggc                                          333

```

<210> 6
<211> 111
<212> БЕЛОК
<213> пестивирус типа 2

<400> 6

Ser Asp Trp Ala Asp Gln Val Glu Lys Gln Glu Lys Glu Ser Pro Pro
1 5 10 15

Lys Pro Gln Arg Pro Pro Arg Arg Asp Pro Arg Lys Gly Leu Gln Pro
20 25 30

Gln Val Pro Lys Glu Thr Glu Val Thr Glu Lys Lys Arg Gln Pro Ser
35 40 45

Val Thr Leu Val Ser Gly Gly Gln Lys Ala Gln Val Ile Tyr Lys Gly
50 55 60

Arg Thr Lys Asn Lys Lys Thr Pro Asp Gly Val Tyr Arg Tyr Pro Gly
65 70 75 80

Ala Lys Glu Gly Asp Val Val Lys Val Arg Lys Met Leu Lys Asn Trp
85 90 95

His Ile Ala Leu Val Met Tyr Leu Ile His Ile Ile Thr Pro Gly
100 105 110

<210> 7
<211> 627
<212> ДНК
<213> пестивирус типа 2

<400> 7

cttgccaagg tccagtgggt cttaaaagat gaaaactcga cggggatcaa ccagatactg 60
tggcaaagac agatcaacag atccttacat ggagaatggc ctaaccagat ctgccacggg 120
atgcccaatg aaactatcac ggatgaggaa ttacgcagtc tgggaatggg agatacaagc 180
cctagaacaa actacacctg ttgccagttg caatatcatg agtgggaagaa acatgggttg 240
tgcaactatc cacaaaaaca ggcgtggatc acgaggataa cggccctaca agctaacctt 300
accgggcctt atgagggacc tgagtgcgcc gtcactctgcc gatttaacgg cagctacaac 360
atcgtaaac aggccagaga tgaggtgagt cactgacag ggtgcaagga agggcatcct 420
tttctattct ctggtgaaag atccgacacc tcatgcctaa ggcccccttc cactagttgg 480
gtaagaccag tgaaaatgga cgaggcatca atggccgatg gctttgccca tggggttgat 540
aaggcgataa tactaatcag gaagggggca tcaggaataa tcaatttcct agacactatt 600
gggaggtggc taccggtagc tgaagca 627

<210> 8
<211> 209
<212> БЕЛОК
<213> пестивирус типа 2

<400> 8

Leu Ala Lys Val Gln Trp Phe Leu Lys Asp Glu Asn Ser Thr Gly Ile
1 5 10 15

Asn Gln Ile Leu Trp Gln Arg Gln Ile Asn Arg Ser Leu His Gly Glu
20 25 30

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

Glu Glu Leu Arg Ser Leu Gly Met Val Asp Thr Ser Pro Arg Thr Asn
50 55 60

Tyr Thr Cys Cys Gln Leu Gln Tyr His Glu Trp Lys Lys His Gly Trp
65 70 75 80

Cys Asn Tyr Pro Gln Lys Gln Ala Trp Ile Thr Arg Ile Thr Ala Leu
85 90 95

Gln Ala Asn Leu Thr Gly Pro Tyr Glu Gly Pro Glu Cys Ala Val Ile
100 105 110

Cys Arg Phe Asn Gly Ser Tyr Asn Ile Val Lys Gln Ala Arg Asp Glu
115 120 125

Val Ser Pro Leu Thr Gly Cys Lys Glu Gly His Pro Phe Leu Phe Ser
130 135 140

Gly Glu Arg Ser Asp Thr Ser Cys Leu Arg Pro Pro Ser Thr Ser Trp
145 150 155 160

Val Arg Pro Val Lys Met Asp Glu Ala Ser Met Ala Asp Gly Phe Ala
165 170 175

His Gly Val Asp Lys Ala Ile Ile Leu Ile Arg Lys Gly Ala Ser Gly
180 185 190

Ile Ile Asn Phe Leu Asp Thr Ile Gly Arg Trp Leu Pro Val Ala Glu
195 200 205

Ala

<210> 9
<211> 600
<212> ДНК
<213> пестивирус типа 2

<400> 9
actatagtac catattgtga tacttacact gtgacagggga tgtatgtcca tgtaaagaat 60
tgcctcccta gagggttacc taagcattca aaaataatct ccccgacaat gatatatctg 120
ggagaaggag acccggccca taatatccag cacttatttg gctcaggtat agcaaagtgg 180
gtcctagttc tactcgggat tctgggtgag tggatggag aattggcttc cacaatatac 240
ttactactag aatacgggtc tgagtggttg gaacatgaaa gcctgggtcac ggaagggttg 300
attcctggca ttaatattac aatagaactc ccagctagtc atacagtgcc tggttgggtg 360
tgggtcgcag gccagtgggt atgctggaag ccagactggt ggctacaca gatttggatt 420
gaaaccgtgg tggcagagac ctggcatata ctaaaaatat tggcgtcagc cctgggtgaac 480
atagttgcag cgttcgtaaa cctggaattg gtttatctgg tcataatact agtcaaaata 540
tcaaaaggga acctgatagg tgccatatta tggtgcttgt tactgtcagg cgctgaaggc 600

<210> 10
<211> 200
<212> БЕЛОК
<213> пестивирус типа 2

<400> 10

Thr Ile Val Pro Tyr Cys Asp Thr Tyr Thr Val Thr Gly Met Tyr Val
1 5 10 15

His Val Lys Asn Cys Leu Pro Arg Gly Leu Pro Lys His Ser Lys Ile
20 25 30

Ile Ser Pro Thr Met Ile Tyr Leu Gly Glu Gly Asp Pro Ala His Asn
35 40 45

Ile Gln His Leu Phe Gly Ser Gly Ile Ala Lys Trp Val Leu Val Leu
50 55 60

Leu Gly Ile Leu Gly Glu Trp Tyr Gly Glu Leu Ala Ser Thr Ile Tyr
65 70 75 80

Leu Leu Leu Glu Tyr Gly Ser Glu Trp Leu Glu His Glu Ser Leu Val
85 90 95

Thr Glu Gly Leu Ile Pro Gly Ile Asn Ile Thr Ile Glu Leu Pro Ala
100 105 110

Ser His Thr Val Pro Gly Trp Val Trp Val Ala Gly Gln Trp Val Cys

115

120

125

Val Lys Pro Asp Trp Trp Pro Thr Gln Ile Trp Ile Glu Thr Val Val
 130 135 140

Ala Glu Thr Trp His Ile Leu Lys Ile Leu Ala Ser Ala Leu Val Asn
 145 150 155 160

Ile Val Ala Ala Phe Val Asn Leu Glu Leu Val Tyr Leu Val Ile Ile
 165 170 175

Leu Val Lys Ile Ser Lys Gly Asn Leu Ile Gly Ala Ile Leu Trp Cys
 180 185 190

Leu Leu Leu Ser Gly Ala Glu Gly
 195 200

<210> 11

<211> 1116

<212> ДНК

<213> пестивирус типа 2

<400> 11

tcgtgctaca aaagacaaga ctattacaac acccaactag tcgtcgaaga aaaaacaggg 60
 gtagaaaaac gatctataat gggcaagtgg accgtgataa ccaggaagg tcgggagcca 120
 agattaatgg agcaaataaa tatggatttg aatgatagcc tgtcagaaac ctactgctat 180
 aataggctaa acaccagcac ttgggggagg caaccggcaa gacaaagagg gtgtgggtcaa 240
 accgtgccct attggcctgg tgacaatggt ctagaagaac aatactacag cacagggttac 300
 tgggtgaatg taacaggcgg ttgccagctg agagaaggcg tatggctatc aagaaaggg 360
 aacgtacagt gtcagcgtaa cggctcatcc ttgatgctgc aattggcgat aaaagaagag 420
 aatgacacta tggaaatacc atgtgacca gtggaaactg aaagtatggg tccagttgca 480
 cagggcactt gtgtgtacag ctgggcattc gcccgaagag ggtggtacta taacaggaag 540
 gatggttatt ggctccagta cataaagaaa aacgactacc agtattggac aaaaatgct 600
 actgcctcgt ccgccgaac catgtaccgc cacttgctcc cttactggg ggctgcctc 660
 atgggaggta ggatatcggg gtggtttgtg gcaatgctcc tgtctctaca ggtggaagct 720
 agtgaagtag gcactaaaca actggctgtc acgctaacc tgtggaaaat ggactggaca 780
 gaactacttt tctatattgt cttgatgcta gccgttaagg aagaacttat aaaaaaatt 840
 gtgaccgcta gccttgaggc cttaaaaaat agtccagtag ccttgagttt tcttattgta 900
 ctcagacttg tggggggcag tgaagcactc ccagtagggt tattattaga aaaaatgtgc 960
 atagaccaac cggagtttgg aactcctttc ctgatctacc tatgggacaa ctggaagtgg 1020
 actgtgttag tcagcttctc cgcactgaac catgaaaaaa ctataaaact ggcaagaaaa 1080

ctgttggttg caacacatat aacagcgctc acattg

1116

<210> 12

<211> 372

<212> БЕЛОК

<213> пестивирус типа 2

<400> 12

Ser Cys Tyr Lys Arg Gln Asp Tyr Tyr Asn Thr Gln Leu Val Val Glu
1 5 10 15

Glu Lys Thr Gly Val Glu Lys Arg Ser Ile Met Gly Lys Trp Thr Val
20 25 30

Ile Thr Arg Glu Gly Arg Glu Pro Arg Leu Met Glu Gln Ile Asn Met
35 40 45

Val Leu Asn Asp Ser Leu Ser Glu Thr Tyr Cys Tyr Asn Arg Leu Asn
50 55 60

Thr Ser Thr Trp Gly Arg Gln Pro Ala Arg Gln Arg Gly Cys Gly Gln
65 70 75 80

Thr Val Pro Tyr Trp Pro Gly Asp Asn Val Leu Glu Glu Gln Tyr Tyr
85 90 95

Ser Thr Gly Tyr Trp Val Asn Val Thr Gly Gly Cys Gln Leu Arg Glu
100 105 110

Gly Val Trp Leu Ser Arg Lys Gly Asn Val Gln Cys Gln Arg Asn Gly
115 120 125

Ser Ser Leu Met Leu Gln Leu Ala Ile Lys Glu Glu Asn Asp Thr Met
130 135 140

Glu Ile Pro Cys Asp Pro Val Glu Thr Glu Ser Met Gly Pro Val Ala
145 150 155 160

Gln Gly Thr Cys Val Tyr Ser Trp Ala Phe Ala Pro Arg Gly Trp Tyr
165 170 175

Tyr Asn Arg Lys Asp Gly Tyr Trp Leu Gln Tyr Ile Lys Lys Asn Asp
180 185 190

Tyr Gln Tyr Trp Thr Lys Met Pro Thr Ala Ser Ser Ala Ala Thr Met
195 200 205

Tyr Arg His Leu Leu Pro Leu Leu Val Ala Cys Leu Met Gly Gly Arg

210

215

220

Ile Ser Val Trp Phe Val Ala Met Leu Leu Ser Leu Gln Val Glu Ala
225 230 235 240

Ser Glu Val Gly Thr Lys Gln Leu Ala Val Thr Leu Thr Leu Trp Lys
245 250 255

Met Asp Trp Thr Glu Leu Leu Phe Tyr Ile Val Leu Met Leu Ala Val
260 265 270

Lys Glu Glu Leu Ile Lys Lys Ile Val Thr Ala Ser Leu Val Ala Leu
275 280 285

Lys Asn Ser Pro Val Ala Leu Ser Phe Leu Ile Val Leu Arg Leu Val
290 295 300

Gly Gly Ser Glu Ala Leu Pro Val Gly Leu Leu Leu Glu Lys Met Cys
305 310 315 320

Ile Asp Gln Pro Glu Phe Gly Thr Pro Phe Leu Ile Tyr Leu Trp Asp
325 330 335

Asn Trp Lys Trp Thr Val Leu Val Ser Phe Ser Ala Leu Asn His Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Lys Leu Ala Arg Lys Leu Leu Leu Ala Thr His Ile Thr
355 360 365

Ala Leu Thr Leu
370

<210> 13

<211> 2802

<212> ДНК

<213> пестивирус типа 2

<400> 13

```

actggcttga gtgattcaat cttctatatg atgcttataa caacaaattt gttaataaag      60
acattcatat acttgctggg ggctagtagt aattggggtcg agagagaaaa aaagaaattg      120
ctagtgaaga ggagactaat atacaagaaa gccgttactt gcagtcagga tgagaatgta      180
ttggagaata aattcaaca gataactgta aacgcggatt tcaccccatg caagcttgaa      240
cttctacaat tacttagggc ttttttagtc tctttgtggt tttcctacta caaacctctc      300
ctgtatgcag agactacctt aactgtaata gtaattggcg tacaagagta caacgtagcc      360
atggcccgcg ggccaagtgt ggtccacagg ctactagcca tggcctatta catatacggc      420
cgcatacagg gtgacatggt ccagctcgcc actatccagt gcctgctgtc gagtccgagg      480

```

aaaattatga aacacatggt agagaatcca actctcaaga agctctggca aggcgaaaca	540
gaactcttca accaggggtg tagtcaatcc aagatagtga atccaaagaa aattgggctg	600
gaagaattac acaagggcat gtgtggcctc ccaacagtag tgcaaaattt ggtcatatat	660
gcaaagaaga atgactctct tatttttagga gagctggggt acccccctgg ggatctcacc	720
agtgatgggt gggaaatttt aggtcctggc agaatcccaa agatcactaa cgtcgagtct	780
gctaagatgg acttactctc caaacttatg acctttctgg ggattgaaag ctcgagggctc	840
cccaggacc cagtccactc aacaaggaaa ttattgaaga tagtaagggg cttggaaaca	900
ggatgggggt aactcacgc aggggggata agtagcgcaa aacacgttac aggtgaaaag	960
aacttaatga cccacatgga gggtaggaag ggaaaatata tcctacaatc tcaagaacat	1020
ggtgctgacg aggtagagta cggagtaaaa actgatcaaa aagctcccga caatgcctta	1080
tgctactgtt ttaaccctga agctacaaac ataaaaggag agacgggagc catgggtgttc	1140
atgaagaaga taggaaaaaa gtggactctc gtaacatcag acggcaataa agcctattat	1200
aatgtaaaca atttgaaagg gtggctctgga ctaccaataa tgctgcactc caccggggcc	1260
atagtgggga ggattaaatc agcgtattca gatgaaaacg acctggtgga ggaacttatt	1320
gactctagaa ctattagtaa gagcaatgag acaaacctgg accaccttat caaggaattg	1380
gcagacatgc ggagggggga gttccgctca attacccttg gaacgggagc cgggaaaacc	1440
acagaactgc ctaggcaata cctcacaaca gtaggtgccc ataaatccgt gctggcttta	1500
gtccccttaa aagcacctgc tgaaagtgtt tgccgcttta tgaggtctaa atacctacc	1560
atcaactttt ccttaagagt gggggaacgg aaagaggag atgtgagcag cggcatcacc	1620
tacgctactt acggattttg ctgccagcta aacctagtcc aacttaaaga atggatatcc	1680
aggtactcaa tggttttttt tgatgaatat cacacagcaa ctccagaaca aatagccata	1740
ataagcaaga ttcatgcact gaaagttaag accaggatag tggctatgtc agcaaccccc	1800
ccgggtaccg tgacgactga aggcaggaag tttgacattg aagaggtagg ggttgctacc	1860
atagagaaag gagaggaacc aaaaaggggg cgcatagcgg tcgctggtat gcagggtcca	1920
ttagaagact taacaggaaa gaactgcctg gtgttcgtgg caaccaaaga agccgcggag	1980
acggaggcta aagaactgcg caccagagga attaacgcca cctactacta ttcaggata	2040
gaccctaaga ctctggaaca tgggatgacc aatcagccat actgtattgt agctaccaat	2100
gccattgaat caggtataac ctgtcctgac ttggatgtgg tcatagacac catgcagaag	2160
tacgaaaaag tagtgaattt ctcggcaaag atgcccttga ttgtcacttc attagtaaag	2220
aaaaaatca ccagggaaga acagggccag aggaaaggtc gagtgggcag gcaaaagaaa	2280
ggaaaatact actaccctc gggggtggtta ccgaatgggt caaaagacct aagctattta	2340
atcctacagg cccaagaata tgggtgtcttg gaacaagtca atataacaga gtacttcac	2400

ataatgaatg aggactgggg tctctatgac gtagatgaag tagaagtgag aataacttgag 2460
 agaatgaaca aggaaatctt gctaccacta ggtattgtgg agaagcaaat cttggaaaga 2520
 agtactcacc cggaaaaagt ggcaactgttg tataacaaat tagtgcagaa aaatcctata 2580
 gtatacccta gactacagga aggtgaggtc agcaaggaat acaataccta taatctggcc 2640
 gtatatgaca agctaaaaga tgtcaacca caagccattt atgttctagc agaagaggag 2700
 agagccacag aatgatggg tctcgagttt gaacaagacc catctgactt acaggattcg 2760
 gtagttcagc tttgtgaaga tatcaagagg tatacaaaac tc 2802

<210> 14
 <211> 934
 <212> БЕЛОК
 <213> пестивирус типа 2
 <400> 14

Thr Gly Leu Ser Asp Ser Ile Phe Tyr Met Met Leu Ile Thr Thr Asn
 1 5 10 15

Leu Leu Ile Lys Thr Phe Ile Tyr Leu Leu Gly Ala Ser Met Asn Trp
 20 25 30

Val Glu Arg Glu Lys Lys Lys Leu Leu Val Lys Arg Arg Leu Ile Tyr
 35 40 45

Lys Lys Ala Val Thr Cys Ser Gln Asp Glu Asn Val Leu Glu Asn Lys
 50 55 60

Phe Asn Lys Ile Thr Val Asn Ala Asp Phe Thr Pro Cys Lys Leu Glu
 65 70 75 80

Leu Leu Gln Leu Leu Arg Ala Phe Leu Val Ser Leu Cys Phe Ser Tyr
 85 90 95

Tyr Lys Pro Leu Leu Tyr Ala Glu Thr Thr Leu Thr Val Ile Val Ile
 100 105 110

Gly Val Gln Glu Tyr Asn Val Ala Met Ala Arg Gly Arg Ser Val Val
 115 120 125

His Arg Leu Leu Ala Met Ala Tyr Tyr Ile Tyr Gly Arg Ile Gln Gly
 130 135 140

Asp Met Phe Gln Leu Ala Thr Ile Gln Cys Leu Leu Ser Ser Pro Arg
 145 150 155 160

Lys Ile Met Lys His Met Val Glu Asn Pro Thr Leu Lys Lys Leu Trp

165

170

175

Gln Gly Glu Thr Glu Leu Phe Asn Gln Gly Val Ser Gln Ser Lys Ile
 180 185 190

Val Asn Pro Lys Lys Ile Gly Leu Glu Glu Leu His Lys Gly Met Cys
 195 200 205

Gly Leu Pro Thr Val Val Gln Asn Leu Val Ile Tyr Ala Lys Lys Asn
 210 215 220

Asp Ser Leu Ile Leu Gly Glu Leu Gly Tyr Pro Pro Gly Asp Leu Thr
 225 230 235 240

Ser Asp Gly Trp Glu Ile Leu Gly Pro Gly Arg Ile Pro Lys Ile Thr
 245 250 255

Asn Val Glu Ser Ala Lys Met Asp Leu Leu Ser Lys Leu Met Thr Phe
 260 265 270

Leu Gly Ile Glu Ser Ser Arg Val Pro Arg Thr Pro Val His Ser Thr
 275 280 285

Arg Lys Leu Leu Lys Ile Val Arg Gly Leu Glu Thr Gly Trp Gly Tyr
 290 295 300

Thr His Ala Gly Gly Ile Ser Ser Ala Lys His Val Thr Gly Glu Lys
 305 310 315 320

Asn Leu Met Thr His Met Glu Gly Arg Lys Gly Lys Tyr Ile Leu Gln
 325 330 335

Ser Gln Glu His Gly Ala Asp Glu Val Glu Tyr Gly Val Lys Thr Asp
 340 345 350

Gln Lys Ala Pro Asp Asn Ala Leu Cys Tyr Cys Phe Asn Pro Glu Ala
 355 360 365

Thr Asn Ile Lys Gly Glu Thr Gly Ala Met Val Phe Met Lys Lys Ile
 370 375 380

Gly Lys Lys Trp Thr Leu Val Thr Ser Asp Gly Asn Lys Ala Tyr Tyr
 385 390 395 400

Asn Val Asn Asn Leu Lys Gly Trp Ser Gly Leu Pro Ile Met Leu His
 405 410 415

Ser Thr Gly Ala Ile Val Gly Arg Ile Lys Ser Ala Tyr Ser Asp Glu

420

425

430

Asn Asp Leu Val Glu Glu Leu Ile Asp Ser Arg Thr Ile Ser Lys Ser
435 440 445

Asn Glu Thr Asn Leu Asp His Leu Ile Lys Glu Leu Ala Asp Met Arg
450 455 460

Arg Gly Glu Phe Arg Ser Ile Thr Leu Gly Thr Gly Ala Gly Lys Thr
465 470 475 480

Thr Glu Leu Pro Arg Gln Tyr Leu Thr Thr Val Gly Ala His Lys Ser
485 490 495

Val Leu Val Leu Val Pro Leu Lys Ala Pro Ala Glu Ser Val Cys Arg
500 505 510

Phe Met Arg Ser Lys Tyr Pro Thr Ile Asn Phe Ser Leu Arg Val Gly
515 520 525

Glu Arg Lys Glu Gly Asp Val Ser Ser Gly Ile Thr Tyr Ala Thr Tyr
530 535 540

Gly Phe Cys Cys Gln Leu Asn Leu Val Gln Leu Lys Glu Trp Ile Ser
545 550 555 560

Arg Tyr Ser Met Val Phe Phe Asp Glu Tyr His Thr Ala Thr Pro Glu
565 570 575

Gln Ile Ala Ile Ile Ser Lys Ile His Ala Leu Lys Val Lys Thr Arg
580 585 590

Ile Val Ala Met Ser Ala Thr Pro Pro Gly Thr Val Thr Thr Glu Gly
595 600 605

Arg Lys Phe Asp Ile Glu Glu Val Gly Val Ala Thr Ile Glu Lys Gly
610 615 620

Glu Glu Pro Lys Arg Gly Arg Ile Ala Val Ala Gly Met Gln Val Pro
625 630 635 640

Leu Glu Asp Leu Thr Gly Lys Asn Cys Leu Val Phe Val Ala Thr Lys
645 650 655

Glu Ala Ala Glu Thr Glu Ala Lys Glu Leu Arg Thr Arg Gly Ile Asn
660 665 670

Ala Thr Tyr Tyr Tyr Ser Gly Ile Asp Pro Lys Thr Leu Glu His Gly

675

680

685

Met Thr Asn Gln Pro Tyr Cys Ile Val Ala Thr Asn Ala Ile Glu Ser
690 695 700

Gly Ile Thr Cys Pro Asp Leu Asp Val Val Ile Asp Thr Met Gln Lys
705 710 715 720

Tyr Glu Lys Val Val Asn Phe Ser Ala Lys Met Pro Leu Ile Val Thr
725 730 735

Ser Leu Val Lys Lys Lys Ile Thr Arg Glu Glu Gln Gly Gln Arg Lys
740 745 750

Gly Arg Val Gly Arg Gln Lys Lys Gly Lys Tyr Tyr Tyr Pro Ser Gly
755 760 765

Val Val Pro Asn Gly Ser Lys Asp Leu Ser Tyr Leu Ile Leu Gln Ala
770 775 780

Gln Glu Tyr Gly Val Leu Glu Gln Val Asn Ile Thr Glu Tyr Phe Ile
785 790 795 800

Ile Met Asn Glu Asp Trp Gly Leu Tyr Asp Val Asp Glu Val Glu Val
805 810 815

Arg Ile Leu Glu Arg Met Asn Lys Glu Ile Leu Leu Pro Leu Gly Ile
820 825 830

Val Glu Lys Gln Ile Leu Glu Arg Ser Thr His Pro Glu Lys Val Ala
835 840 845

Leu Leu Tyr Asn Lys Leu Val Gln Lys Asn Pro Ile Val Tyr Pro Arg
850 855 860

Val Gln Glu Gly Glu Val Ser Lys Glu Tyr Asn Thr Tyr Asn Leu Ala
865 870 875 880

Val Tyr Asp Lys Leu Lys Asp Val Asn Pro Gln Ala Ile Tyr Val Leu
885 890 895

Ala Glu Glu Glu Arg Ala Thr Glu Met Met Gly Leu Glu Phe Glu Gln
900 905 910

Asp Pro Ser Asp Leu Gln Asp Ser Val Val Gln Leu Cys Glu Asp Ile
915 920 925

Lys Arg Tyr Thr Lys Leu

<210> 15
 <211> 2061
 <212> ДНК
 <213> пестивирус типа 2

<400> 15
 ggtcctggca gaatcccaaa gatcactaac gtcgagtctg ctaagatgga cttactctcc 60
 aaacttatga cttttctggg gattgaaagc tcgaggggtcc ccaggacccc agtccactca 120
 acaaggaaat tattgaagat agtaaggggc ttggaacag gatgggggta cactcacgca 180
 ggggggataa gtagcgcaaa acacgttaca ggtgaaaaga acttaatgac ccacatggag 240
 ggtaggaagg gaaaatata cctacaatct caagaacatg gtgctgacga ggtagagtac 300
 ggagtaaaaa ctgatcaaaa agctcccagc aatgccttat gctactgttt taaccctgaa 360
 gctacaaaca taaaaggaga gacgggagcc atgggtgttca tgaagaagat aggaaaaaag 420
 tggactctcg taacatcaga cggcaataaa gcctattata atgtaaaca tttgaaaggg 480
 tggctctggac taccaataat gctgcactcc accggggcca tagtggggag gattaaatca 540
 gcgtattcag atgaaaacga cctgggtggag gaacttattg actctagaac tattagtaag 600
 agcaatgaga caaacctgga ccaccttacc aaggaattgg cagacatgag gaggggggag 660
 ttccgctcaa ttacccttgg aacgggagcc gggaaaacca cagaactgcc taggcaatac 720
 ctcaaacag taggtgccca taaatccgtg ctggctcttag tccccttaa agcacctgct 780
 gaaagtgttt gccgctttat gaggtctaaa taccctacca tcaacttttc cttaagagtg 840
 ggggaacgga aagagggaga tgtgagcagc ggcacacct acgctactta cggattttgc 900
 tgccagctaa acctagtcca acttaaagaa tggatatcca ggtactcaat ggtttttttt 960
 gatgaatac acacagcaac tccagaaca atagccataa taagcaagat tcatgcactg 1020
 aaagttaaga ccaggatagt ggctatgtca gcaaccccc cgggtaccgt gacgactgaa 1080
 ggcaggaagt ttgacattga agaggtaggg gttgctacca tagagaaagg agaggaacca 1140
 aaaagggggc gcatagcggc cgctgggatg caggtcccat tagaagactt aacaggaaag 1200
 aactgcctgg tgttcgtggc aaccaagaa gccgaggaga cggaggctaa agaactgagc 1260
 accagaggaa ttaacgccac ctactactat tcaggtatag accctaagac tctggaacat 1320
 gggatgacca atcagccata ctgtattgta gctaccaatg ccattgaatc aggtataacc 1380
 tgtcctgact tggatgtggc catagacacc atgcagaagt acgaaaaagt agtgaatttc 1440
 tcggcaaaga tgcccttgat tgtcacttca ttagtaaaga aaaaaatcac cagggaaaga 1500
 cagggccaga ggaaaggctc agtgggcagg caaaagaaag gaaaatacta ctaccctcag 1560
 ggggtggtac cgaatgggtc aaaagacctc agctatttaa tcctacaggc ccaagaatat 1620
 ggtgtcttgg aacaagtcaa tataacagag tacttcatca taatgaatga ggactggggg 1680

ctctatgacg tagatgaagt agaagtgaga atacttgaga gaatgaacaa ggaaatcttg 1740
 ctaccactag gtattgtgga gaagcaaatc ttggaaagaa gtactcaccc ggaaaaagtg 1800
 gcaactgttgt ataacaaatt agtgcagaaa aatcctatag tataccctag agtacaggaa 1860
 ggtgagggtca gcaaggaata caatacctat aatctggccg tatatgacaa gctaaaagat 1920
 gtcaaccac aagccattta tgttctagca gaagaggaga gagccacaga aatgatgggt 1980
 ctcgagtttg aacaagacc c atctgactta caggattcgg tagttcagct ttgtgaagat 2040
 atcaagaggt atacaaaact c 2061

<210> 16
 <211> 687
 <212> БЕЛОК
 <213> пестивирус типа 2

<400> 16

Gly Pro Gly Arg Ile Pro Lys Ile Thr Asn Val Glu Ser Ala Lys Met
 1 5 10 15

Asp Leu Leu Ser Lys Leu Met Thr Phe Leu Gly Ile Glu Ser Ser Arg
 20 25 30

Val Pro Arg Thr Pro Val His Ser Thr Arg Lys Leu Leu Lys Ile Val
 35 40 45

Arg Gly Leu Glu Thr Gly Trp Gly Tyr Thr His Ala Gly Gly Ile Ser
 50 55 60

Ser Ala Lys His Val Thr Gly Glu Lys Asn Leu Met Thr His Met Glu
 65 70 75 80

Gly Arg Lys Gly Lys Tyr Ile Leu Gln Ser Gln Glu His Gly Ala Asp
 85 90 95

Glu Val Glu Tyr Gly Val Lys Thr Asp Gln Lys Ala Pro Asp Asn Ala
 100 105 110

Leu Cys Tyr Cys Phe Asn Pro Glu Ala Thr Asn Ile Lys Gly Glu Thr
 115 120 125

Gly Ala Met Val Phe Met Lys Lys Ile Gly Lys Lys Trp Thr Leu Val
 130 135 140

Thr Ser Asp Gly Asn Lys Ala Tyr Tyr Asn Val Asn Asn Leu Lys Gly
 145 150 155 160

Trp Ser Gly Leu Pro Ile Met Leu His Ser Thr Gly Ala Ile Val Gly

165

170

175

Arg Ile Lys Ser Ala Tyr Ser Asp Glu Asn Asp Leu Val Glu Glu Leu
 180 185 190

Ile Asp Ser Arg Thr Ile Ser Lys Ser Asn Glu Thr Asn Leu Asp His
 195 200 205

Leu Ile Lys Glu Leu Ala Asp Met Arg Arg Gly Glu Phe Arg Ser Ile
 210 215 220

Thr Leu Gly Thr Gly Ala Gly Lys Thr Thr Glu Leu Pro Arg Gln Tyr
 225 230 235 240

Leu Thr Thr Val Gly Ala His Lys Ser Val Leu Val Leu Val Pro Leu
 245 250 255

Lys Ala Pro Ala Glu Ser Val Cys Arg Phe Met Arg Ser Lys Tyr Pro
 260 265 270

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

Ser Ser Gly Ile Thr Tyr Ala Thr Tyr Gly Phe Cys Cys Gln Leu Asn
 290 295 300

Leu Val Gln Leu Lys Glu Trp Ile Ser Arg Tyr Ser Met Val Phe Phe
 305 310 315 320

Asp Glu Tyr His Thr Ala Thr Pro Glu Gln Ile Ala Ile Ile Ser Lys
 325 330 335

Ile His Ala Leu Lys Val Lys Thr Arg Ile Val Ala Met Ser Ala Thr
 340 345 350

Pro Pro Gly Thr Val Thr Thr Glu Gly Arg Lys Phe Asp Ile Glu Glu
 355 360 365

Val Gly Val Ala Thr Ile Glu Lys Gly Glu Glu Pro Lys Arg Gly Arg
 370 375 380

Ile Ala Val Ala Gly Met Gln Val Pro Leu Glu Asp Leu Thr Gly Lys
 385 390 395 400

Asn Cys Leu Val Phe Val Ala Thr Lys Glu Ala Ala Glu Thr Glu Ala
 405 410 415

Lys Glu Leu Arg Thr Arg Gly Ile Asn Ala Thr Tyr Tyr Tyr Ser Gly

420

425

430

Ile Asp Pro Lys Thr Leu Glu His Gly Met Thr Asn Gln Pro Tyr Cys
 435 440 445

Ile Val Ala Thr Asn Ala Ile Glu Ser Gly Ile Thr Cys Pro Asp Leu
 450 455 460

Asp Val Val Ile Asp Thr Met Gln Lys Tyr Glu Lys Val Val Asn Phe
 465 470 475 480

Ser Ala Lys Met Pro Leu Ile Val Thr Ser Leu Val Lys Lys Lys Ile
 485 490 495

Thr Arg Glu Glu Gln Gly Gln Arg Lys Gly Arg Val Gly Arg Gln Lys
 500 505 510

Lys Gly Lys Tyr Tyr Tyr Pro Ser Gly Val Val Pro Asn Gly Ser Lys
 515 520 525

Asp Leu Ser Tyr Leu Ile Leu Gln Ala Gln Glu Tyr Gly Val Leu Glu
 530 535 540

Gln Val Asn Ile Thr Glu Tyr Phe Ile Ile Met Asn Glu Asp Trp Gly
 545 550 555 560

Leu Tyr Asp Val Asp Glu Val Glu Val Arg Ile Leu Glu Arg Met Asn
 565 570 575

Lys Glu Ile Leu Leu Pro Leu Gly Ile Val Glu Lys Gln Ile Leu Glu
 580 585 590

Arg Ser Thr His Pro Glu Lys Val Ala Leu Leu Tyr Asn Lys Leu Val
 595 600 605

Gln Lys Asn Pro Ile Val Tyr Pro Arg Val Gln Glu Gly Glu Val Ser
 610 615 620

Lys Glu Tyr Asn Thr Tyr Asn Leu Ala Val Tyr Asp Lys Leu Lys Asp
 625 630 635 640

Val Asn Pro Gln Ala Ile Tyr Val Leu Ala Glu Glu Glu Arg Ala Thr
 645 650 655

Glu Met Met Gly Leu Glu Phe Glu Gln Asp Pro Ser Asp Leu Gln Asp
 660 665 670

Ser Val Val Gln Leu Cys Glu Asp Ile Lys Arg Tyr Thr Lys Leu

675

680

685

<210> 17
<211> 201
<212> ДНК
<213> пестивирус типа 2

<400> 17
tctgggatca ctgagaaact gctagtaggt acgatggtgg ggtatattgg atacaaagcc 60
ttaaccagaa accacgtgcc ctgggtcagc aaagagtatt gttatgagct gaccgattca 120
ccggatactt acgaaaactc attcgcacct ttggacgtcg acgtccaaaa ctccggtgaa 180
ggaaaacacc sagagсаact g 201

<210> 18
<211> 67
<212> БЕЛОК
<213> пестивирус типа 2

<400> 18
Ser Gly Ile Thr Glu Lys Leu Leu Val Gly Thr Met Val Gly Tyr Ile
1 5 10 15
Gly Tyr Lys Ala Leu Thr Arg Asn His Val Pro Trp Val Ser Lys Glu
20 25 30
Tyr Cys Tyr Glu Leu Thr Asp Ser Pro Asp Thr Tyr Glu Asn Ser Phe
35 40 45
Ala Pro Leu Asp Val Asp Val Gln Asn Ser Gly Glu Gly Lys His Pro
50 55 60
Glu Gln Leu
65

<210> 19
<211> 2433
<212> ДНК
<213> пестивирус типа 2

<400> 19
gcagaccatc aattgaggca actactggag actgggagag acaaggcaat tgatttccta 60
aaaggaatcc gcgagttcac tagtggggcc ataaacagtc caaaggcact aagtatatgg 120
gagaaaatat atcagtattt gaagaagcat cagggcgaga tcatctcatc agcagcgtgg 180
ggcagtgcga cggcccttca cgacagtatt aaatctagac taggagatga ggctcgctact 240
gcagtaataa tcctcaagta tttagcattt ggtgaaagag aactgtctgg gctaactagg 300
caagttctaa ttgacatcat agtatattat atagttaaca agccccggtt cgaaggagac 360
gactacgcaa agagaaaagg aagaaggcta gtcacgaag tcctgatggg ggcactggcg 420

acttatgcgg	tgtccaat	ttgggggtg	tccattaata	agataactgca	accaat	480
gattatctac	cctatgccac	cgccactttg	gcttttcttc	gcccacactt	catggaatca	540
gcagtgggtg	tcgcttcctc	tatctataga	gcttttctct	ccattaagca	tgcggaaaac	600
aggagtcttg	tcacgcaggt	cgcttctgcc	gccctcgaag	tcatgggcct	gaccccagta	660
tcggctggcc	taggcgtctt	gctggggctt	gggttgtgtg	tgctccatat	gaacattgac	720
aagaatgagg	agaaaaggac	acttatactg	aaaatgtttg	tcaaaaactt	tatagaccag	780
gcggcactag	acgagttgga	taaactggag	ccagaaaaaa	taatcctctc	attgttggag	840
ggtatccaaa	cctgcacaaa	cccgattaga	gcaatcatga	ttttgtacag	ggtgtactac	900
aagggagaaa	ctttcacaga	agctttgtct	aagatggccg	gcaagtctct	cattgtgatg	960
gtcatagtcg	agttcctgga	attgacaggc	caaacccaag	gagggtatat	agatcttagt	1020
gctaatttgc	tgacctttct	cctcgagaaa	ctaaaaaaaa	tgactaacct	cgccatcggg	1080
gaagctagaa	aggtcttgct	ccccatccca	tacttgtact	gtgaaacctg	gcagtctgac	1140
gccagaatca	aggcccctga	atcctacgac	caagtggtag	tggaatgcaa	atgtggcgct	1200
tcagcgaggt	attccttccg	cgatggagtt	catgagatat	tggaagaaaa	aaggactaat	1260
tggtgcaaga	acttcttctt	atggggaccc	aacttccaca	atccggatcc	aaaaaggatg	1320
acattctatg	aatacggcca	agcaaaaaag	tgtcctgtta	tcataattgg	tgaagacata	1380
accttcggca	aatatggcat	atatatcaaa	tttggccata	ggcctgatgg	agggagggta	1440
ataaggggta	ccaccacgc	tactatcagt	agggaggaat	tgctggaaat	cctaacagcc	1500
ccaagccaag	tggccatagg	caaggtcaag	ctaaccgatt	actgtaatca	aaaaggaata	1560
atagacagga	aattggccgt	acttgaaggt	gacaaaatac	atTTTTGGAA	agcacaccgt	1620
ggatccaaaa	tcacagacca	actcactatt	gagaatctga	cagatgattt	ggggtcagaa	1680
atcagggaca	tcacatggga	gctgtacaca	ggtggaacgt	gcaccgtaaa	aggggtgtcc	1740
cttagatcat	gcgcaccagg	tcatagaact	aaggctatgg	tcttgtgtga	ttgcaactgat	1800
gtgcttagcc	cctgttacct	aataaacggc	aggagacat	ccccatttga	cgtcgcgga	1860
ggttatgaat	gtcaccaccg	gaagccccga	gcgacgtatg	aagacctaga	aatggaggaa	1920
ataactaaaga	gacgagtccc	tgtctacgat	cctctgtggt	tgTTTgacac	tgatagtaaa	1980
ctgctacctc	ccgacaccta	ctacttggaa	gaagatcaag	aggactttga	gtacgcattg	2040
agatgctggg	gcctcggggg	ttatgtagca	gacgggcctg	tacttcccc	cccggacata	2100
agaatacacc	atagttcgg	attactactg	ctgacacctg	gagtaaactc	agagttgccc	2160
ttacagtaca	tacgttgtta	ccctcatcag	gcagaggtgg	acatctacat	taggagtcag	2220
cttttggagg	aggaagacac	tgctacggag	gtggaaggct	cccaggaaga	tggtgatgaa	2280
gggatggg	atgCGGTAAT	agaggatgag	gatacatcgt	ccacaacaga	atcaataccc	2340

ccactagaag aggaggaagg gggcgaagag ccaatcacct atgtgggtcat aaggggatta 2400

caagaagaaa gatacgccag ccatcttaaa cta 2433

<210> 20

<211> 811

<212> БЕЛОК

<213> пестивирус типа 2

<400> 20

Ala Asp His Gln Leu Arg Gln Leu Leu Glu Thr Gly Arg Asp Lys Ala
1 5 10 15

Ile Asp Phe Leu Lys Gly Ile Arg Glu Phe Thr Ser Gly Ala Ile Asn
20 25 30

Ser Pro Lys Ala Leu Ser Ile Trp Glu Lys Ile Tyr Gln Tyr Leu Lys
35 40 45

Lys His Gln Gly Glu Ile Ile Ser Ser Ala Ala Trp Gly Ser Ala Thr
50 55 60

Ala Leu His Asp Ser Ile Lys Ser Arg Leu Gly Asp Glu Val Ala Thr
65 70 75 80

Ala Val Ile Ile Leu Lys Tyr Leu Ala Phe Gly Glu Arg Glu Leu Ser
85 90 95

Gly Leu Thr Arg Gln Val Leu Ile Asp Ile Ile Val Tyr Tyr Ile Val
100 105 110

Asn Lys Pro Arg Phe Glu Gly Asp Asp Tyr Ala Lys Arg Lys Gly Arg
115 120 125

Arg Leu Val Ile Glu Val Leu Met Gly Ala Leu Ala Thr Tyr Ala Val
130 135 140

Ser Asn Phe Trp Gly Val Ser Ile Asn Lys Ile Leu Gln Pro Ile Ser
145 150 155 160

Asp Tyr Leu Pro Tyr Ala Thr Ala Thr Leu Ala Phe Leu Arg Pro Thr
165 170 175

Phe Met Glu Ser Ala Val Val Val Ala Ser Ser Ile Tyr Arg Ala Phe
180 185 190

Leu Ser Ile Lys His Ala Glu Asn Arg Ser Leu Val Thr Gln Val Ala
195 200 205

Ser Ala Ala Leu Glu Val Met Gly Leu Thr Pro Val Ser Ala Gly Leu
210 215 220

Gly Val Leu Leu Gly Leu Gly Leu Cys Val Leu His Met Asn Ile Asp
225 230 235 240

Lys Asn Glu Glu Lys Arg Thr Leu Ile Leu Lys Met Phe Val Lys Asn
245 250 255

Phe Ile Asp Gln Ala Ala Leu Asp Glu Leu Asp Lys Leu Glu Pro Glu
260 265 270

Lys Ile Ile Leu Ser Leu Leu Glu Gly Ile Gln Thr Cys Thr Asn Pro
275 280 285

Ile Arg Ala Ile Met Ile Leu Tyr Arg Val Tyr Tyr Lys Gly Glu Thr
290 295 300

Phe Thr Glu Ala Leu Ser Lys Met Ala Gly Lys Ser Leu Ile Val Met
305 310 315 320

Val Ile Val Glu Phe Leu Glu Leu Thr Gly Gln Thr Gln Gly Gly Tyr
325 330 335

Ile Asp Leu Ser Ala Asn Leu Leu Thr Phe Leu Leu Glu Lys Leu Lys
340 345 350

Lys Met Thr Asn Leu Ala Ile Gly Glu Ala Arg Lys Val Leu Leu Pro
355 360 365

Ile Pro Tyr Leu Tyr Cys Glu Thr Trp Gln Ser Asp Ala Arg Ile Lys
370 375 380

Ala Pro Glu Ser Tyr Asp Gln Val Val Val Glu Cys Lys Cys Gly Ala
385 390 395 400

Ser Ala Arg Tyr Ser Phe Arg Asp Gly Val His Glu Ile Leu Glu Glu
405 410 415

Lys Arg Thr Asn Trp Cys Lys Asn Phe Phe Leu Trp Gly Pro Asn Phe
420 425 430

His Asn Pro Asp Pro Lys Arg Met Thr Phe Tyr Glu Tyr Gly Gln Ala
435 440 445

Lys Lys Cys Pro Val Ile Ile Ile Gly Glu Asp Ile Thr Phe Gly Lys
450 455 460

Tyr Gly Ile Tyr Ile Lys Phe Gly His Arg Pro Asp Gly Gly Arg Leu
 465 470 475 480

Ile Arg Gly Thr Thr His Ala Thr Ile Ser Arg Glu Glu Leu Leu Glu
 485 490 495

Ile Leu Thr Ala Pro Ser Gln Val Ala Ile Gly Lys Val Lys Leu Thr
 500 505 510 515

Asp Tyr Cys Asn Gln Lys Gly Ile Ile Asp Arg Lys Leu Ala Val Leu
 515 520 525

Glu Gly Asp Lys Ile His Phe Trp Lys Ala His Arg Gly Ser Lys Ile
 530 535 540

Thr Asp Gln Leu Thr Ile Glu Asn Leu Thr Asp Asp Leu Gly Ser Glu
 545 550 555 560

Ile Arg Asp Ile Thr Trp Glu Leu Tyr Thr Gly Gly Thr Cys Thr Val
 565 570 575

Lys Gly Val Ser Leu Arg Ser Cys Ala Pro Gly His Arg Thr Lys Ala
 580 585 590

Met Val Leu Cys Asp Cys Thr Asp Val Leu Ser Pro Cys Tyr Leu Ile
 595 600 605

Asn Gly Arg Arg Pro Ser Pro Phe Asp Val Ala Glu Gly Tyr Glu Cys
 610 615 620

His His Arg Lys Pro Arg Ala Thr Tyr Glu Asp Leu Glu Met Glu Glu
 625 630 635 640

Ile Leu Lys Arg Arg Val Pro Val Tyr Asp Pro Leu Cys Leu Phe Asp
 645 650 655

Thr Asp Ser Lys Leu Leu Pro Pro Asp Thr Tyr Tyr Leu Glu Glu Asp
 660 665 670

Gln Glu Asp Phe Glu Tyr Ala Leu Arg Cys Trp Gly Leu Gly Val Tyr
 675 680 685

Val Ala Asp Gly Pro Val Thr Ser Pro Pro Asp Ile Arg Ile His His
 690 695 700

Ser Ser Val Leu Leu Leu Leu Thr Pro Gly Val Asn Ser Glu Leu Pro
 705 710 715 720

Leu Gln Tyr Ile Arg Cys Tyr Pro His Gln Ala Glu Val Asp Ile Tyr
725 730 735

Ile Arg Ser Gln Leu Leu Glu Glu Glu Asp Thr Ala Thr Glu Val Glu
740 745 750

Gly Ser Gln Glu Asp Gly Asp Glu Gly Met Gly Asp Ala Val Ile Glu
755 760 765

Asp Glu Asp Thr Ser Ser Thr Thr Glu Ser Ile Pro Pro Leu Glu Glu
770 775 780

Glu Glu Gly Gly Glu Glu Pro Ile Thr Tyr Val Val Ile Arg Gly Leu
785 790 795 800

Gln Glu Glu Arg Tyr Ala Ser His Leu Lys Leu
805 810

<210> 21

<211> 2256

<212> ДНК

<213> пестивирус типа 2

<400> 21

aatgactgga tcagtgaaaa catttcagag ccacacagag tccaaattat gctagatggg 60
acagtgagag tcacaataaa agagggcaaa gtgaaacatt tgtttgggggt ctatagaata 120
gaaaactccc tggaagcaat gtttaaagag accatagctg acctccccgt agctacccaa 180
ccgccccagg ggccagtcta tacggctaaa gagctggccc aagggaacat cgccccggtc 240
caacctgcag cgaattatta cggaatgata gaggggagag gcgaccaat gacggcattc 300
gaagccttat cagtcttgcg gtcacaaaa gtcttagcca aggacgtgaa ggtgaacacc 360
cgcagggcgc aggttttttt aaataaagtc aggagaattg ctgaggtcag agcgtcggaa 420
ctgacattaa aatgcttacc gatacttggc aaagtaaagtg ggaggaaatt gattagagag 480
gaaaccaaca tccccacca aaggttggca tcaataatga cctcaatagg aattagacta 540
gaaaaactgc cagtggttag agcaaacact tccggctcta agttcagaca gtcaatctta 600
gaaaaaatgg ataagtatga aatgaacaa gtcccagggt tacatgaaaa gatgtgggca 660
gcgttctctg caactgccag gcaagattta agaaatacct atgaggaagt aacttatctt 720
gaattagagg ccggaatcaa tcggaaagga gccccagggt tctttgaaaa agaaagctca 780
ataggagaag tgctgaaaa aaaagaaaa attgacgtca caatccaaga gattgaaaaa 840
ggcaaccact tatactatga aacagccatg ccaaaaaatg agaaaagaga tgtgcttgat 900
gattggttgt cagaggattt cgtcacttat aagaaaccac gtgtgataca gtaccctgag 960
gcagtcacc gggtggccat caccaaaata atgtataagt ggggtgaagca aaagcctata 1020

gtgattcccc gttatgaggg aaaaaccccc atctttgaaa tatttgaaaa agtcagtgca 1080
 gattgggctc agttcaaaaa tccggtagcc gtcagcttcg acaccagagc ctgggacact 1140
 caagtaacaa gagaagacct caggctggta gggcggatac agaaatacta ttacaaaaaa 1200
 aaatattgga agttcattga caatttgaca gccatgatgg aggaagtgcc tgtaatcact 1260
 gtagaaggag atatgttcct cagagttgga cagcgcggat ccggacagcc tgatacctca 1320
 gcaggcaatt ccatgctaaa tgtgctgact atgttggtag ctttctctga atccacaaat 1380
 ctgcccatag cggctgcctg gaaggcctgt cggatccacg tctgtggtga cgacggtttc 1440
 ttaatcacag aatcggaatt agggaggaag tttgctgaaa aagggtgtcc tctgttagct 1500
 gcatttggca aacccccaaa aattacagag ggagcgagcc taaaggtaac cagcaacttt 1560
 gacggaatag agttttgtag tcatacccct atcagagtcc aaacaccaa catcaggtgg 1620
 atgccagcga gaccaacagc aacaatccta ggcaaaatga gtaccaggct gggtgaggg 1680
 gccaccaggt cgggagaaga atacgaaaaa cagggtggcat tcgcatatct actgatgtac 1740
 ccctggaacc cgctggtcag gagaatcagc ctctattgt tatcgactac tgaccaatg 1800
 gggaaagagg aaaccccatg ctccgatgag ggggtgaagt atgttgggga ccctatcgct 1860
 gcatacaggg atgtatgggg gcacaaatta gaggatgtag gccatggtga tcaaccgcag 1920
 ttatcccgga tgaactatag catgacttac ttagggattt ggaaaccaa gacaagtcag 1980
 cggctagtcg aacagtgttg tcgtctggcc gagaaaagca attgtgtggt acgtgctgac 2040
 tcctgataa agaaaaaggt caagatcact tatgaccggy ggataggagt ggctcaggtc 2100
 attcgtaggt gggaagagct tgagtggacc agaaggaaac ctgaactcac caatgtaatt 2160
 gtagaagatg atatcttctc agtcctgtgg aagagatttt caaagtacat ttttcagaaa 2220
 atgaagttca tgcaagaaat gttcggccct tatta 2256

<210> 22
 <211> 751
 <212> БЕЛОК
 <213> пестивирус типа 2

<400> 22

Asn Asp Trp Ile Ser Glu Asn Ile Ser Glu Pro His Arg Val Gln Ile
 1 5 10 15

Met Leu Asp Gly Thr Val Arg Val Thr Ile Lys Glu Gly Lys Val Lys
 20 25 30

His Leu Phe Gly Val Tyr Arg Ile Glu Asn Ser Leu Glu Ala Met Phe
 35 40 45

Lys Glu Thr Ile Ala Asp Leu Pro Val Ala Thr Gln Pro Pro Gln Gly

50

55

60

Pro Val Tyr Thr Ala Lys Glu Leu Ala Gln Gly Asn Ile Ala Pro Val
65 70 75 80

Gln Pro Ala Ala Asn Tyr Tyr Gly Met Ile Glu Gly Arg Gly Asp Pro
85 90 95

Met Thr Ala Phe Glu Ala Leu Ser Val Leu Arg Ser Gln Lys Val Leu
100 105 110

Ala Lys Asp Val Lys Val Asn Thr Arg Arg Ala Gln Val Phe Leu Asn
115 120 125

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

Cys Leu Pro Ile Leu Gly Lys Val Asn Gly Arg Lys Leu Ile Arg Glu
145 150 155 160

Glu Thr Asn Ile Pro Asn Gln Arg Leu Ala Ser Ile Met Thr Ser Ile
165 170 175

Gly Ile Arg Leu Glu Lys Leu Pro Val Val Arg Ala Asn Thr Ser Gly
180 185 190

Ser Lys Phe Arg Gln Ser Ile Leu Glu Lys Met Asp Lys Tyr Glu Asn
195 200 205

Glu Gln Val Pro Gly Leu His Glu Lys Met Trp Ala Ala Phe Leu Ala
210 215 220

Thr Ala Arg Gln Asp Leu Arg Asn Thr Tyr Glu Glu Val Thr Tyr Leu
225 230 235 240

Glu Leu Glu Ala Gly Ile Asn Arg Lys Gly Ala Pro Gly Phe Phe Glu
245 250 255

Lys Glu Ser Ser Ile Gly Glu Val Leu Glu Lys Lys Glu Lys Ile Asp
260 265 270

Val Thr Ile Gln Glu Ile Glu Lys Gly Asn His Leu Tyr Tyr Glu Thr
275 280 285

Ala Met Pro Lys Asn Glu Lys Arg Asp Val Leu Asp Asp Trp Leu Ser
290 295 300

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

305 310 315 320

 Ala Val Thr Arg Leu Ala Ile Thr Lys Ile Met Tyr Lys Trp Val Lys
 325 330 335

 Gln Lys Pro Ile Val Ile Pro Gly Tyr Glu Gly Lys Thr Pro Ile Phe
 340 345 350

 Glu Ile Phe Glu Lys Val Ser Ala Asp Trp Ala Gln Phe Lys Asn Pro
 355 360 365

 Val Ala Val Ser Phe Asp Thr Arg Ala Trp Asp Thr Gln Val Thr Arg
 370 375 380

 Glu Asp Leu Arg Leu Val Gly Arg Ile Gln Lys Tyr Tyr Tyr Lys Lys
 385 390 395 400

 Lys Tyr Trp Lys Phe Ile Asp Asn Leu Thr Ala Met Met Glu Glu Val
 405 410 415

 Pro Val Ile Thr Val Glu Gly Asp Met Phe Leu Arg Val Gly Gln Arg
 420 425 430

 Gly Ser Gly Gln Pro Asp Thr Ser Ala Gly Asn Ser Met Leu Asn Val
 435 440 445

 Leu Thr Met Leu Val Ala Phe Ser Glu Ser Thr Asn Leu Pro Ile Ala
 450 455 460

 Ala Ala Trp Lys Ala Cys Arg Ile His Val Cys Gly Asp Asp Gly Phe
 465 470 475 480

 Leu Ile Thr Glu Ser Glu Leu Gly Arg Lys Phe Ala Glu Lys Gly Val
 485 490 495

 Pro Leu Leu Ala Ala Phe Gly Lys Pro Gln Lys Ile Thr Glu Gly Ala
 500 505 510

 Ser Leu Lys Val Thr Ser Asn Phe Asp Gly Ile Glu Phe Cys Ser His
 515 520 525

 Thr Pro Ile Arg Val Gln Thr Pro Asn Ile Arg Trp Met Pro Ala Arg
 530 535 540

 Pro Thr Ala Thr Ile Leu Gly Lys Met Ser Thr Arg Leu Gly Glu Gly
 545 550 555 560

 Ala Thr Arg Ser Gly Glu Glu Tyr Glu Lys Gln Val Ala Phe Ala Tyr

565

570

575

Leu Leu Met Tyr Pro Trp Asn Pro Leu Val Arg Arg Ile Ser Leu Leu
 580 585 590

Leu Leu Ser Thr Thr Asp Pro Met Gly Lys Glu Glu Thr Pro Cys Ser
 595 600 605

Asp Glu Gly Val Lys Tyr Val Gly Asp Pro Ile Ala Ala Tyr Arg Asp
 610 615 620

Val Trp Gly His Lys Leu Glu Asp Val Gly His Val Asp Gln Pro Gln
 625 630 635 640

Leu Ser Arg Met Asn Tyr Ser Met Thr Tyr Leu Gly Ile Trp Lys Pro
 645 650 655

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

Ser Asn Cys Val Val Arg Ala Asp Ser Leu Ile Lys Lys Lys Val Lys
 675 680 685

Ile Thr Tyr Asp Pro Gly Ile Gly Val Ala Gln Val Ile Arg Arg Trp
 690 695 700

Glu Glu Leu Glu Trp Thr Arg Arg Lys Pro Glu Leu Thr Asn Val Ile
 705 710 715 720

Val Glu Asp Asp Ile Phe Leu Val Leu Trp Lys Arg Phe Ser Lys Tyr
 725 730 735

Ile Phe Gln Lys Met Lys Phe Met Gln Arg Met Phe Ala Pro Tyr
 740 745 750

<210> 23

<211> 17

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> лабораторно-синтезированная последовательность ДНК

<400> 23

tgcctggtat tcgtggc

17

<210> 24

<211> 19

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> лабораторно-синтезированная последовательность ДНК

<400> 24
 tcatcccatg ttccagagt 19

<210> 25
 <211> 21
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> лабораторно-синтезированная последовательность ДНК

<400> 25
 cctccgtctc cgcggctttg g 21

<210> 26
 <211> 143
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> лабораторно-синтезированная последовательность ДНК

<400> 26
 aacaggaaag aactgcctgg tattcgtggc аассааагаа gccgcggaga cggaggctaa 60
 agaactgсgc accagaggaa ttaacgccac ctattcaggt atagacccta agactctgga 120
 acatgggatg ассаатсаgc cat 143

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, содержащая инактивированный пестивирус, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO:1.

2. Композиция, содержащая инактивированный пестивирус, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO:2.

3. Композиция по п.1 или 2, где пестивирус представляет собой химически инактивированный пестивирус, и где пестивирус инактивирован обработкой инактивирующим средством, выбранным из группы, состоящей из бинарного этиленimina, этиленimina, ацетилметиленимина, бета-этиленimina, бета-пропиолактона, глутарового альдегида, озона и формальдегида.

4. Композиция по п.1 или 2, где пестивирус является физически инактивированным пестивирусом, и где пестивирус инактивирован обработкой УФ-излучением, рентгеновским излучением, гамма-излучением, замораживанием-оттаиванием и/или нагреванием.

5. Композиция по п.1 или 2, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый носитель и/или эксципиент.

6. Композиция по п.5, где фармацевтически приемлемым носителем и/или эксципиентом является адъювант.

7. Композиция по п.6, где адъювант представляет собой адъювант на основе эмульсии типа масло-в-воде.

8. Композиция, содержащая аттенуированный пестивирус, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO:1.

9. Композиция, содержащая аттенуированный пестивирус, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO:2.

10. Композиция по п.8 или 9, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый носитель и/или эксципиент.

11. Композиция по п.10, где фармацевтически приемлемым носителем и/или эксципиентом является адъювант.

12. Композиция по п.11, где адъювант представляет собой адъювант на основе эмульсии типа масло-в-воде.

13. Композиция по п.8 или 9, где пестивирус находится в лиофилизированной форме.

14. Композиция по п.8 или 9, в которой композиция содержит по меньшей мере около 10^4 вирусных частиц.

15. Композиция, содержащая вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 или 21.

16. Композиция, содержащая вектор, кодирующий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 или 22.

17. Композиция по п.15 или 16, где вектор представляет собой вектор экспрессии бакуловируса или вектор аденовируса собак.

18. Способ защиты поросят от болезней, связанных с пестивирусом, включающий введение беременной свиноматке или молодой свинье, свиноматке или молодой свинье перед размножением композиции по п.1, 2, 8, 9, 14 и/или 15 в количестве, достаточном для защиты поросят.

19. Способ по п.18, где заболевание представляет собой врожденный тремор.

20. Способ по п.18, в котором способ включает введение композиции беременной свиноматке или молодой свинье.

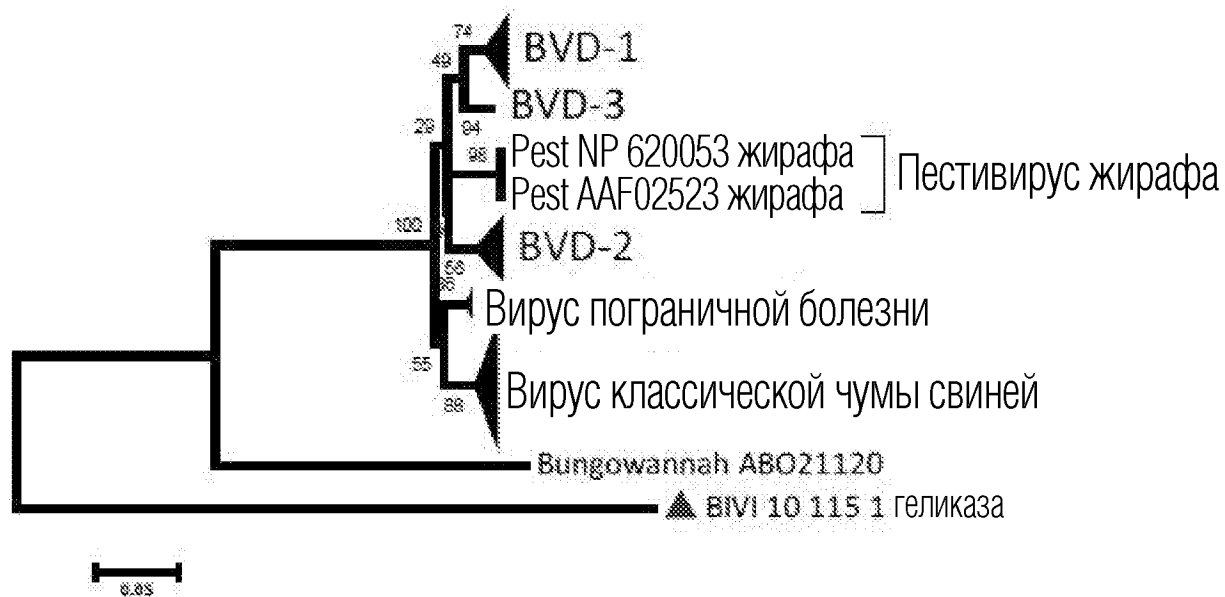
21. Способ по п.18, где способ включает введение композиции свиноматке или молодой свинье до размножения.

22. Способ по п.18, где способ включает введение композиции свиноматке или молодой свинье внутримышечно.

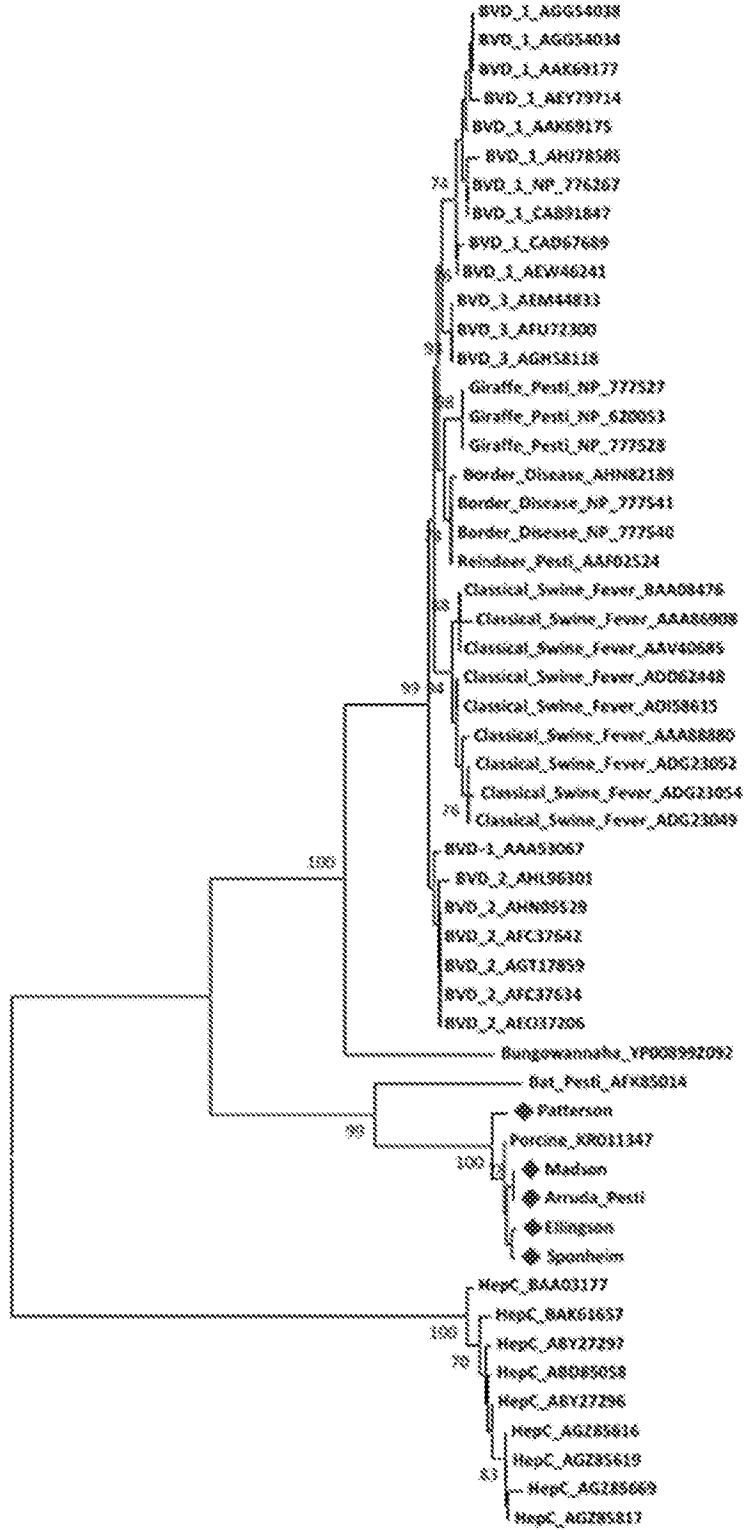
23. Способ по п.18, где введение представляет собой первое введение, и где способ дополнительно включает второе введение через одну-три недели после первого введения.

По доверенности

ФИГ. 1



ФИГ. 2



0.1

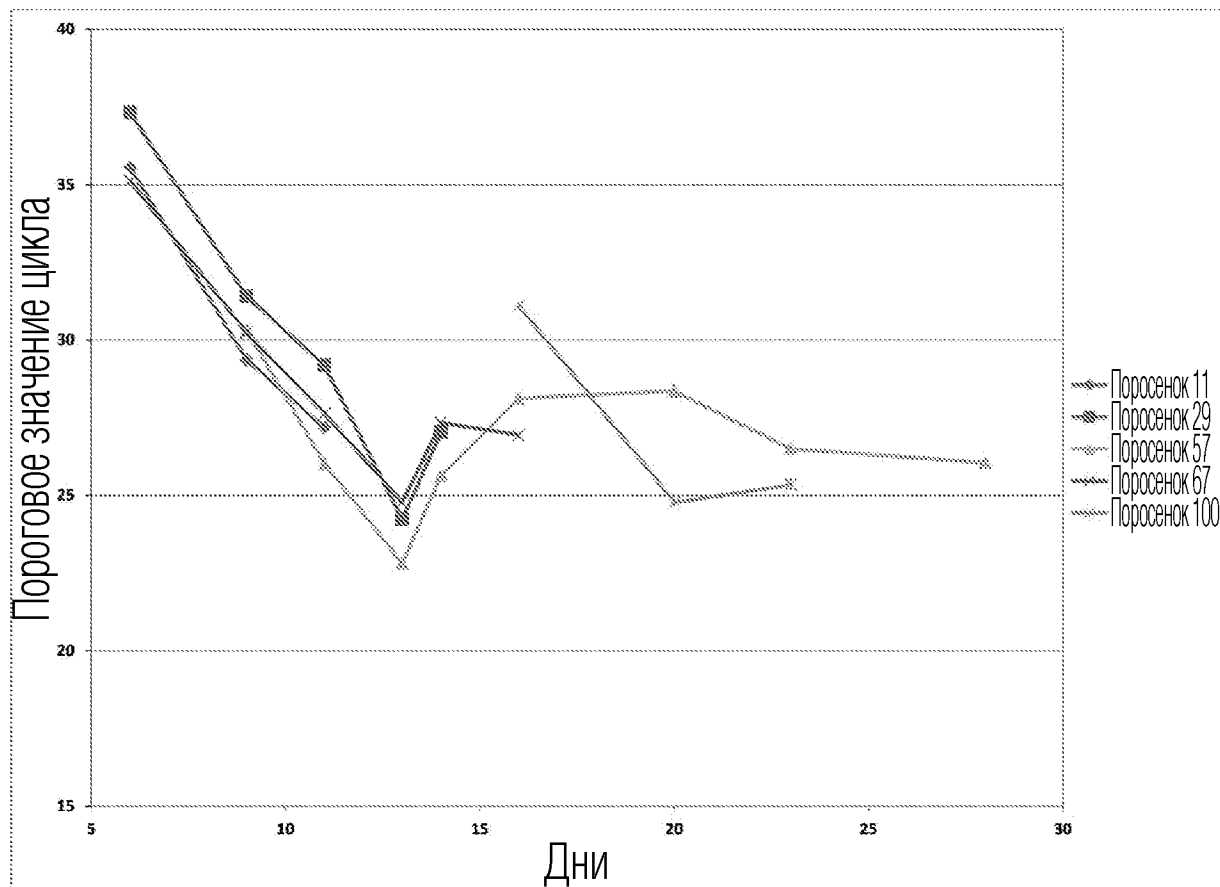
ФИГ. 3

Идентичность по аминокислотам

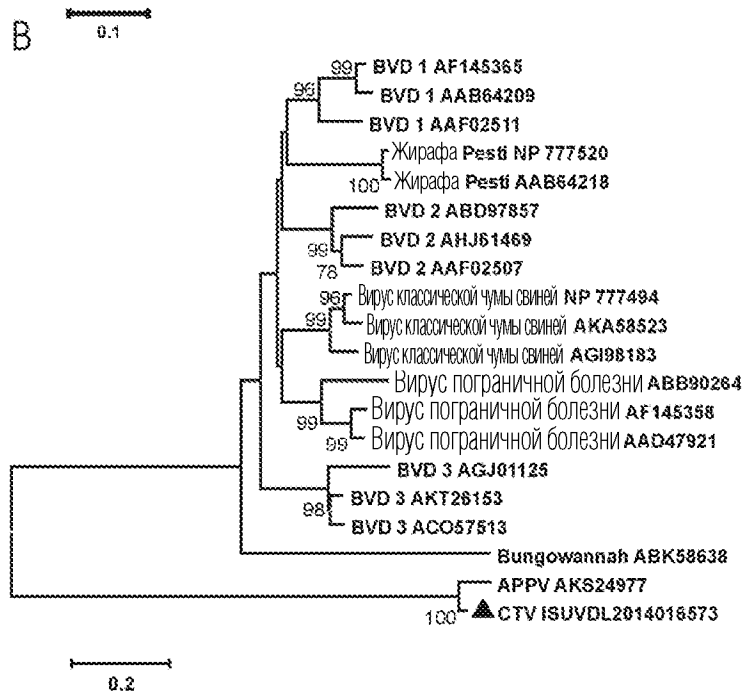
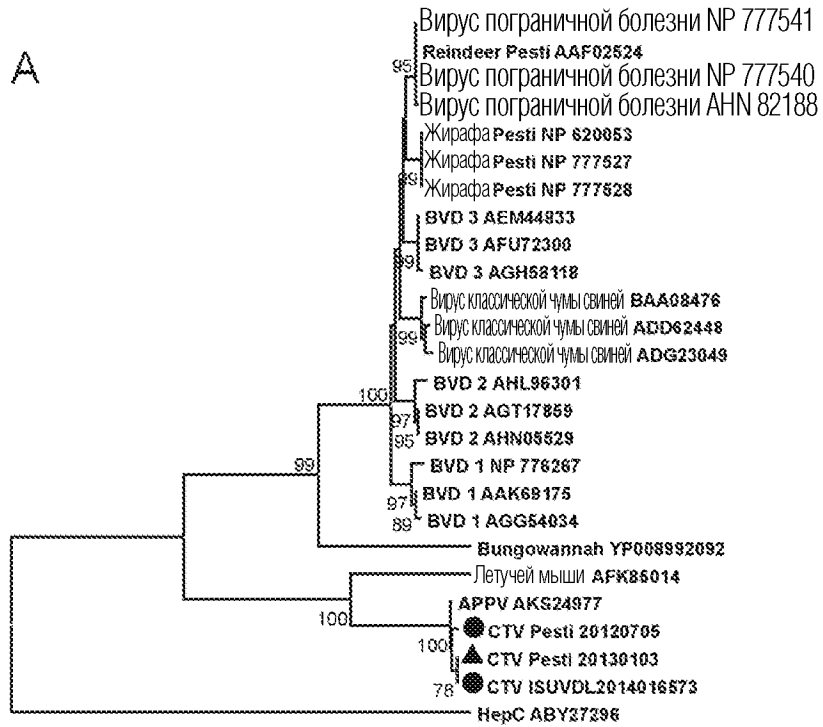
Идентичность по нуклеотидам

	Patterson	Sponheim	Madson	Ellingson	Arruda
Patterson		95.6%	95.1%	98.3%	95.6%
Sponheim	93.9%		98.3%	97.1%	98.6%
Madson	83.7%	89.2%		95.9%	100%
Ellingson	98.5%	93.4%	88.7%		97.5%
Arruda	88.1%	88.1%	99.1%	88.9	

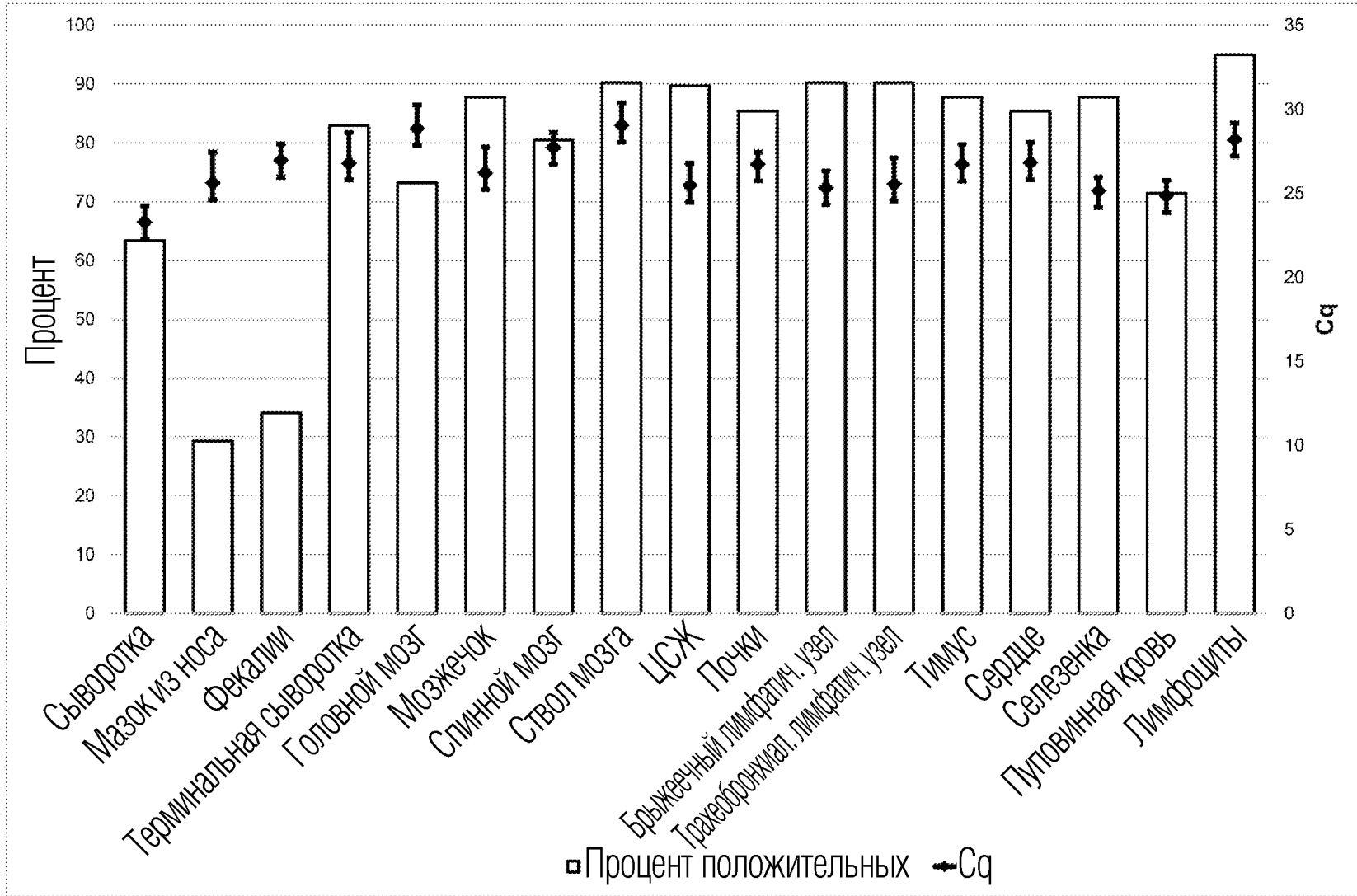
ФИГ. 4



ФИГ. 5



ФИГ. 6



ФИГ. 7

