

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **036116**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.09.30

(21) Номер заявки
201792593

(22) Дата подачи заявки
2016.08.31

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

(54) **ПЕСТИВИРУСНЫЕ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВРОЖДЕННОГО ТРЕМОРА**(31) **62/212,124**(32) **2015.08.31**(33) **US**(43) **2018.08.31**(86) **PCT/US2016/049709**(87) **WO 2017/040672 2017.03.09**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**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, Шварц Кент
Джей (US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) ANNE-LIE BLOMSTROM ET AL.:
"Astrovirus as a possible cause of congenital
tremor type AII in piglets?" ACTA VETERINARIA
SCANDINAVICA, vol. 56, no. 1, 16 December 2014
(2014-12-16), XP021207657, BIOMED CENTRAL
LTD, LO ISSN: 1751-0147, DOI: 10.1186/
S13028-014-0082-Y abstract

BAILEY L. ARRUDA ET AL.: "Identification
of a Divergent Lineage Porcine Pestivirus in Nursing
Piglets with Congenital Tremors and Reproduction
of Disease following Experimental Inoculation",
PLOS ONE, vol. 11, no. 2, E0150104, 24

February 2016 (2016-02-24), XP055319736, DOI:
10.1371/journal.pone.0150104 the whole document
DATABASE ENA [Online] 2 February
2016 (2016-02-02), "Porcine pestivirus 1 isolate
ISDVDL2014016573 polyprotein gene, complete
cds.", XP002764270, retrieved from EBI accession
no. EM STD:KU194229 Database accession no.
KU194229 the whole document

DATABASE UniProtKB [Online] 13
April 2016 (2016-04-13), "RecName:
Full=Genome polyprotein {ECO:0000256
SAAS:SAAS00058068}", XP002764271, retrieved
from Uniprot Consortium accession no.
UNIPROT:A0A120H3X4 Database accession no.
A0A120H3X4 sequence

BEN. M. HAUSE ET AL.: "Discovery of
a novel putative atypical porcine pestivirus in
pigs in the USA", JOURNAL OF GENERAL
VIROLOGY, vol. 96, no. 10, 24 July 2015
(2015-07-24), pages 2994-2998, XP055230950, GB
ISSN: 0022-1317, DOI: 10.1099/jgv.0.000251 E-
publication date according to Medline: 24.July 2015;
abstract

DATABASE ENA [Online] 7 August 2015
(2015-08-07), "Porcine pestivirus 1 strain 000515
polyprotein mRNA, complete cds.", XP002764272,
retrieved from EBI accession no. EM STD:KR011347
Database accession no. KR011347 sequence

Roman M. Pogranichniy: "Retrospective
Theses and Dissertations 2005 Search for etiology
of porcine reproductive and neurologic syndrome:
identification and characterization of a novel swine
pestivirus Recommended Citation", 1 January 2005
(2005-01-01), pages 1-161, XP055319748, Retrieved
from the Internet: URL: <http://lib.dr.iastate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=2330&context=rtd> [retrieved on
2016-11-15] the whole document

(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 им, врожденный тремор, и к способам получения пестивирусной вакцины.

**036116
B1**

**036116
B1**

Связанные заявки

По настоящей заявке испрашивается приоритет заявки на патент США № 62/212124, поданной 31 августа 2015 г., 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, AII, 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 цирковирусные 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., Na 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, β-этиленмин, β-пропиолактон, глутаровый альдегид, озон и/или формальдегид.

В некоторых вариантах осуществления пестивирус представляет собой физически инактивирован-

ный пестивирус, например пестивирус, инактивированный обработкой УФ-излучением, рентгеновским излучением, γ -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 настоящем 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 адьювант, например, адьювант на основе эмульсии типа масло-в-воде.

В некоторых вариантах осуществления композиции 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 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% 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 пестивируса, 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 пестивируса.

Изоляты пестивируса 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 адьювант. 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 плазматические белковые растворы. Кроме того, иммуногенные и вакцинные композиции по настоящему изобретению могут включать фармацевтически или ветеринарно приемлемые носители, разбавители, изотонические средства, стабилизаторы или адьюванты.

Способы по изобретению могут также включать смешивание композиции по изобретению с ветеринарно приемлемым носителем, адьювантом или их комбинацией. Специалистам в данной области будет понятно, что выбор носителя, адьюванта 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 hyorhynchopneumoniae*, цирковируса свиней, включая, но этим не ограничиваясь, цирковиром свиньи 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 изобрете-

нию, 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 ч. 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 интравaginaльное 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, внутримедулярное или внутрilegeчное 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 фиг. 1 и 2 проиллюстрированы филогенетические деревья, идентифицирующие новые пестивирусы по изобретению;

на фиг. 3 представлено сравнение аминокислотной идентичности (процент идентичности) последовательностей пестивирусов по изобретению;

на фиг. 4 показан цикл виремии у поросят, исследованный в примере 1;

на фиг. 5A и 5B 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 (5A) и Npro (5B), 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 С_q 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.

CATAATGCTTTAATTTGGCCGCATATGTGTGGGACATCCTAAATATTTATGAGCCCTGC

GGTGAGTGGGGGAAAGAGGTTAACCAGCCCTCTAGTACCACAGGCACCAATGGACAGGGCAACT
 CAAACCTGAGAGAGAGGTACCGAACTCTTAAGCCCCGAGTACGGGGCAGACGTCACCGAGTAGT
 ACACCCAAAGACCACCACTTCTAGGTGTAGGGTCTACTGAGGCTCGGGTGGACGTGGGCGGCC
 CAAAGAGAAATCGGTGGTGGACCTGGGGGTCGGGGCCACCATGCCCTTTACGGGGTAGACCTT
 ACTGCTTGATAGAGTGCCGGCGGATGCCTCAGGTAAGAGTATAAAATCCGTTGTTTCATTAACAT
 GGAAAAACAGATTGCATATTACTTAAAAAAGAAAAACAAAGAAATGGGTGGACCGAACTGGTG
 GTAGGAGAAAGTCATACAAAAATAACCACGCTTTCTGGAAAGACCTATCGAGGCACCTGGGAAA
 TGAGAGAAACGGCCAAATCCTTATGGAACCTATCTCCCAGACCTAGTCCCCAACAGCTTACAGC
 CCTACACCCCCACCCAGTGGTGAATTGTAAGGTGGTTGAGTACAAGGAGATGGACCCTAATTAT
 GGTGATTGCCCAAATACGAACGGGGTGTGTTGTTGACGAAAAGGTTAGAAGGCTGAGCAGCCCTC
 CATTAGGCATTTGGAAGATAAGATTGGACTATAGTGACTTGGTAAACATAAGCAGACCAACCCC
 CGTAGTGGGAAAACCTTACCAAGTTGAGACCTGCAGTGGGGAGCTGGCTACAGTGACACTG
 GTACACAATAGGGTGTCTGTGGAAGATTGCAGGGGGCTATACCAATGGAACCCCAACTGTGAAG
 GAATTGTGCTCTATGTGAAAACCTGTTCTGACTGGGCAGATCAGGTAGAAAAACAGGAGAAAGA
 AAGCCCCCAAACACAGCGGCCACCAAGGCGAGACCCACGAAAAGGGTTACAACCACAAGTC
 CCCAAAGAGACTGAGGTCACAGAAAAGAAGAGACAACCTAGTGTACCTTAGTATCGGGGGGGC
 AGAAGGCCCAAGTCATCTACAAAGGCAGGACCAAAAAACAAAAGACCCCGGATGGAGTCTATAG
 ATACCCAGGAGCTAAAGAAGGGGACGTAGTAAAGGTCAGGAAGATGCTGAAGAATTGGCATATA
 GCCTTAGTGATGTACCTGATACATATCATAACTCCAGGCCTTGCCAAGGTCCAGTGGTCTTAA
 AAGATGAAAACCTCGACGGGGATCAACCAGATACCTGTGGCAAAGACAGATCAACAGATCCTTACA
 TGGAGAATGGCCTAACCAGATCTGCCACGGTATGCCCAATGAACTATCACGGATGAGGAATTA
 CGCAGTCTGGGAATGGTAGATACAAGCCCTAGAACAACTACACCTGTTGCCAGTTGCAATATC
 ATGAGTGGAAAGAAACATGGTTGGTGCAACTATCCACAAAAACAGGCGTGGATCACGAGGATAAC
 GGCCCTACAAGCTAACCTTACCGGGCCTTATGAGGGACCTGAGTGCGCCGTCTATCGCCGATTT
 AACGGCAGCTACAACATCGTAAAACAGGCCAGAGATGAGGTGAGTCCACTGACAGGGTGAAGG
 AAGGGCATCCTTTTCTATCTCTGGTGAAAAGATCCGACACCTCATGCCTAAGGCCCTTCCAC

TAGTTGGGTAAGACCAGTAAAAATGGACGAGGCATCAATGGCCGATGGCTTTGCCATGGGGTT
GATAAGGCGATAATACTAATCAGGAAGGGGCATCAGGAATAATCAATTTCCCTAGACACTATTG
GGAGGTGGCTACCGGTAGCTGAAGCAACTATAGTACCATATTGTGATACTTACACTGTGACAGG
GATGTATGTCCATGTAAAGAATTGCCTCCCTAGAGGGTTACCTAAGCATTCAAAAATAATCTCC
CCGACAATGATATATCTGGGAGAAGGAGACCCGGCCATAATATCCAGCACTTATTTGGCTCAG
GTATAGCAAAGTGGGTCTAGTTCTACTCGGGATTCTGGGTGAGTGGTATGGAGAATTGGCTTC
CACAATATACTTACTACTAGAATACGGGTCTGAGTGGTTGGAACATGAAAGCCTGGTCACGGAA
GGGTTGATTCTGGCATTAATATTACAATAGAACTCCCAGCTAGTCATACAGTGCCTGGTTGGG
TGTGGGTTCGACAGCCAGTGGGTATGCGTGAAGCCAGACTGGTGGCTACACAGATTTGGATTGA
AACCGTGGTGGCAGAGACCTGGCATATACTAAAAATATTGGCGTCAGCCCTGGTGAACATAGTT
GCAGCGTTTCGTAACCTGGAATTGGTTTATCTGGTCATAATACTAGTCAAAATATCAAAAGGGA
ACCTGATAGGTGCCATATTATGGTGCCTGTTACTGTGTCAGGCGCTGAAGGCTCGTGCTACAAAAG
ACAAGACTATTACAACACCCAACTAGTCGTGCAAGAAAAACAGGCGTAGAAAAACGATCTATA
ATGGGCAAGTGGACCGTGATAACCAGGGAAGGTGGGAGCCAAGATTAATGGAGCAAATAAATA
TGGTATTGAATGATAGCCTGTCAGAAACCTACTGCTATAATAGGCTAAACACCAGCACTTGGGG
GCGGCAACCGGCAAGACAAAGAGGGTGTGGTCAAACCGTGCCCTATTGGCCTGGTGACAATGTT
CTAGAAGAACAATACTACAGCACAGGTTACTGGGTGAATGTAACAGGCGGTTGCCAGCTGAGAG
AAGGCGTATGGCTATCAAGAAAGGGTAACGTACAGTGTGACGCTAACGGCTCATCCTTGATGCT
GCAATTGGCGATAAAAAGAAGAGAATGACACTATGGAAATACCATGTGACCCAGTGGAAACTGAA
AGTATGGGTCCAGTTGCACAGGGCACCTGTGTGTACAGCTGGGCATTCGCCCCAAGAGGGTGGT
ACTATAACAGGAAGGATGGTTATTGGCTCCAGTACATAAAGAAAAACGACTACCAGTATTGGAC
AAAAATGCCTACTGCCTCGTCCGCCCAACCATGTACCGCCACTTGCTCCCCTTACTGGTGGCC
TGCCCTCATGGGCGGTAGGATATCGGTGTGGTTTGTGGCAATGCTCCTGTCTCTACAGGTGGAAG
CTAGTGAAGTAGGCACTAAACAACCTGGCTGTACGCTAACCCGTGGAAAATGGACTGGACAGA
ACTACTTTTCTATATTGCTTTGATGTAGCCGTTAAGGAAGAACCTATAAAAAAATTTGTGACC
GCTAGCCTTGTGGCCTTAAAAAATAGTCCAGTAGCCTTGAGTTTTCTTATTGTACTCAGACTTG
TGGGGGGCAGTGAAGCACTCCAGTAGGTTTATTATTAGAAAAAATGTGCATAGACCAACCGGA
GTTTGGAACTCCTTTCCCTGATCTACCTATGGGACAACCTGGAAGTGGACTGTGTAGTCAGCTTC
TCCGCACTGAACCATGAAAAACTATAAACTGGCAAGAAAACGTGTTGTTGGCAACACATATAA
CAGCGCTCACATTGACTGGCTTGAGTGATTCAATCTTCTATATGATGCTTATAACAACAAATTT
GTTAATAAAGACATTCATATACTTGCTGGGGCTAGTATGAATTGGGTCGAGAGAGAAAAAAG
AAATTGCTAGTGAAGAGGAGACTAATATAACAAGAAAGCCGTTACTTGCACTCAGGATGAGAATG
TATTGGAGAATAAAATCAACAAGATAACTGTAACGCGGATTTCACCCCATGCAAGCTTGAAC
TCTACAATTACTTAGGGCTTTTTTAGTCTCTTTGTGTTTTTCTACTACAAACCTCTCCTGTAT
GCAGAGACTACCTTAACGTAAATAGTAATTGGCGTACAAGAGTACAACGTAGCCATGGCCCCGG
GGCGAAGTGTGGTCCACAGGCTACTAGCCATGGCCTATTACATATACGGCCGCATACAGGGTGA

CATGTTCCAGCTCGCCACTATCCAGTGCCTGCTGTGCGAGTCCGAGGAAAATTATGAAACACATG
GTAGAGAATCCAACCTCTCAAGAAGCTCTGGCAAGGCGAAACAGAAGCTCTTCAACCAGGGTGTTA
GTCAATCCAAGATAGTGAATCCAAAGAAAATTGGGCTGGAAGAATTACACAAGGGCATGTGTGG
CCTCCCAACAGTAGTGCAAAATTTGGTCATATATGCAAAGAAGAATGACTCTCTTATTTTAGGA
GAGCTGGGTTACCCCCCTGGGGATCTCACCAGTGATGGGTGGGAAATTTTAGTCTCTGGCAGAA
TCCCAAAGATCACTAACGTCGAGTCTGCTAAGATGGACTTACTCTCCAAACTTATGACCTTTCT
GGGGATTGAAAGCTCGAGGGTCCCAGGACCCAGTCCACTCAACAAGGAAATTTATTGAAGATA
GTAAGGGGCTTGAAACAGGATGGGGGTACTCACCAGGGGGGATAAGTAGCGCAAAACACG
TTACAGGTGAAAAGAACTTAATGACCCACATGGAGGGTAGGAAGGGAAAATATATCCTACAATC
TCAAGAACATGGTGCTGACGAGGTAGAGTACGGAGTAAAACTGATCAAAAAGCTCCCGACAAT
GCCTTATGCTACTGTTTTAACCTGAAGCTACAAACATAAAAGGAGAGACGGGAGCCATGGTGT
TCATGAAGAAGATAGGAAAAAGTGGACTCTCGTAACATCAGACGGCAATAAAGCCTATTATAA
TGTAACAATTTGAAAGGGTGGTCTGGACTACCAATAATGCTGCACTCCACGGGGCCATAGTG
GGGAGGATTAATCAGCGTATTCAGATGAAAACGACCTGGTGGAGAACTTATTGACTCTAGAA
CTATTAGTAAGAGCAATGAGACAAACCTGGACCACCTTATCAAGGAATTGGCAGACATGCGGAG
GGGGGAGTTCGGCTCAATTACCCCTTGGAACGGGAGCCGGGAAAACACAGAAGTGCCTAGGCAA
TACCTCACAACAGTAGGTGCCATAAATCCGTGCTGGTCTTAGTCCCCTTAAAAGCACCTGCTG
AAAGTGTTCGGCTTTTATGAGGTCTAAATACCCTACCATCAACTTTTCCTTAAAGAGTGGGGGA
ACGGAAAGAGGGAGATGTGAGCAGCGGCATCACCTACGCTACTTACGGATTTTGTGCCAGCTA
AACCTAGTCCAACCTAAAGAATGGATATCCAGGTACTCAATGGTTTTTTTTTGATGAATATCACA
CAGCAACTCCAGAACAAATAGCCATAATAAGCAAGATTCATGCACTGAAAGTTAAGACCAGGAT
AGTGGCTATGTGAGCAACCCCCCGGTACCGTGACGACTGAAGGCAGGAAGTTTGACATTGAA
GAGGTAGGGGTGCTACCATAGAGAAAGGAGAGGAACCAAAAAGGGGGCGCATAGCGGTGCTG
GTATGCAGGTCCCATTAGAAGACTTAACAGGAAAGAACTGCCTGGTGTTCGTGGCAACCAAAGA
AGCCGCGGAGACGGAGGCTAAAGAACTGCGCACCAGAGGAATTAACGCCACCTACTACTATTCA
GGTATAGACCCTAAGACTCTGGAACATGGGATGACCAATCAGCCATACTGTATTGTAGCTACCA
ATGCCATTGAATCAGGTATAACCTGTCTGACTTGGATGTGGTCATAGACCCATGCAGAAGTA
CGAAAAAGTAGTGAATTTCTCGGCAAAGATGCCCTTGATTGTCACTTCATTAGTAAAGAAAAAA
ATCACCAGGGAAGAACAGGGCCAGAGGAAAGTTCGAGTGGCAGGCAAAAGAAAGGAAAATACT
ACTACCCCTCGGGGTGGTACCGAATGGGTCAAAGACCTAAGCTATTTAATCCTACAGGCCCA
AGAATATGGTGTCTTGGAACAAGTCAATATAACAGAGTACTTCATCATAATGAATGAGGACTGG
GGTCTCTATGACGTAGATGAAGTAGAAGTGAGAATACTTGAGAGAATGAACAAGGAAATCTTGC
TACCACTAGGTATTGTGGAGAAGCAAATCTTGAAAGAAGTACTCACCCGAAAAAGTGGCACT
GTTGTATAACAAATTAGTGCAGAAAAATCCTATAGTATACCCTAGAGTACAGGAAGGTGAGGTC
AGCAAGGAATACAATACCTATAATCTGGCCGTATATGACAAGCTAAAAGATGTCAACCCACAAG
CCATTTATGTTCTAGCAGAAGAGGAGAGGCCACAGAAATGATGGGTCTCGAGTTTGAACAAGA

CCCATCTGACTTACAGGATTCGGTAGTTCAGCTTTGTGAAGATATCAAGAGGTATACAAAACCTC
TCTGGGATCACTGAGAACTGCTAGTAGGTACGATGGTGGGTATATTGGATACAAAGCCTTAA
CCAGAAACCACGTGCCCTGGGTCAGCAAAGAGTATTGTTATGAGCTGACCGATTACCCGGATAC
TTACGAAAACCTCATTCGCACCTTTGGACGTCGACGTCCAAAACCTCCGGTGAAGGAAAACACCCA
GAGCAACTGGCAGACCATCAATTGAGGCAACTACTGGAGACTGGGAGAGACAAGGCAATTGATT
TCCTAAAAGGAATCCGCGAGTTCCTAGTGGGGCCATAAACAGTCCAAAGGCACTAAGTATATG
GGAGAAAATATATCAGTATTTGAAGAAGCATCAGGGCGAGATCATCTCATCAGCAGCGTGGGGC
AGTGGCAGCGCCCTTCACGACAGTATTAATCTAGACTAGGAGATGAGGTCGCTACTGCAGTAA
TAATCCTCAAGTATTTAGCATTTGGTGAAGAGAAGTGTCTGGGCTAACTAGGCAAGTCTAAT
TGACATCATAGTATATTATATAGTTAACAAGCCCCGGTTCGAAGGAGACGACTACGCAAAGAGA
AAAGGAAGAAGGCTAGTCATCGAAGTCTGATGGGGGCACTGGCGACTTATGCGGTGTCCAATT
TTTGGGGTGTGTCCATTAATAAGATACTGCAACCAATTTCTGATTATCTACCCTATGCCACCGC
CACTTTGGCTTTTCTTCGCCAACCTTCATGGAATCAGCAGTGGTGGTTCCTCTATCTAT
AGAGCTTTTCTCTCCATTAAGCATGCGGAAAACAGGAGTCTTGTACGCAGGTCGCTTCTGCCG
CCCTCGAAGTCAATGGGCTGACCCAGTATCGGCTGGCTAGGCGTCTTGTGGGGCTTGGGTT
GTGTGTGCTCCATATGAACATTGACAAGAATGAGGAGAAAAGGACACTTATACTGAAAATGTTT
GTCAAAAACCTTTATAGACCAGCGGCCTAGACGAGTTGGATAAACTGGAGCCAGAAAAAATAA
TCCTCTCATTGTTGGAGGGTATCCAAACCTGCACAAACCCGATTAGAGCAATCATGATTTGTA
CAGGGTGTACTACAAGGGAGAAAACCTTTCACAGAAGCTTTGTCTAAGATGGCCGGCAAGTCTCTC
ATTGTGATGGTCATAGTCGAGTTCCTGGAATTGACAGGCCAAACCCAAGGAGGGTATATAGATC
TTAGTGCTAATTTGCTGACCTTTCTCTCGAGAACTAAAAAATGACTAACCTCGCCATCGG
GGAAGCTAGAAAGGTCTTGTCCCCATCCATACTTGTACTGTGAAACCTGGCAGTCTGACGCC
AGAATCAAGGCCCTGAATCCTACGACCAAGTGGTAGTGGAATGCAAAATGTGGCGCTTCAGCGA
GGTATTCCTTCCGCGATGGAGTTCATGAGATATTGGAAGAAAAAGGACTAATTGGTGAAGAA
CTTCTTCTTATGGGGACCCAACTTCCACAATCCGGATCCAAAAGGATGACATTCATGAATAC
GGCCAAGCAAAAAGTGTCTGTTATCATAATTGGTGAAGACATAACCTTCGGCAAATATGGCA
TATATATCAAATTTGGCCATAGGCCTGATGGAGGGAGGTTAATAAGGGGTACCACCCACGCTAC
TATCAGTAGGGAGGAATTGCTGGAAATCCTAACAGCCCCAAGCCAAGTGGCCATAGGCAAGGTC
AAGCTAACCGATTACTGTAATCAAAAAGGAATAATAGACAGGAAATGGCCGTAATTGAAGGTG
ACAAAATACATTTTGGAAAGCACACCGTGGATCCAAAATCACAGACCAACTCACTATTGAGAA
TCTGACAGATGATTTGGGGTCAGAAATCAGGGACATCACATGGGAGCTGTACACAGGTGGAACG
TGCACCGTAAAAGGGGTGTCCCTTAGATCATGCGCACCAGGTCATAGAACTAAGGCTATGGTCT
TGTGTGATTGCACTGATGTGCTTAGCCCTGTTACCTAATAAACGGCAGGAGACCATCCCATT
TGACGTCGCGGAAGGTATGAATGTACCACCGGAAGCCCCGAGCGACGTATGAAGACCTAGAA
ATGGAGGAAATACTAAAGAGACGAGTCCCTGTCTACGATCCTCTGTGTTTGTGTTGACTGATA
GTAACTGCTACCTCCCGACCTACTACTTGAAGAAGATCAAGAGGACTTTGAGTACGCATT

GAGATGCTGGGGCCTCGGGGTTTATGTAGCAGACGGGCTGTCACTTCCCCCGGACATAAGA
ATACACCATAGTTTCGGTATTACTACTGCTGACACCTGGAGTAAACTCAGAGTTGCCCTTACAGT
ACATACGTTGTTACCCATCAGGCAGAGGTGGACATCTACATTAGGAGTCAGCTTTTGGAGGA
GGAAGACACTGCTACGGAGGTGGAAGGCTCCCAGGAAGATGGTGATGAAGGGATGGGCGATGCC
GTAATAGAGGATGAGGATACATCGTCCACAACAGAATCAATACCCCACTAGAAGAGGAGGAAG
GGGGCGAAGAGCCAATCACCTATGTGGTCATAAGGGGATTACAAGAAGAAAGATACGCCAGCCA
TCTTAACTAAATGACTGGATCAGTGAAAACATTTAGAGCCACACAGAGTCCAAATTATGCTA
GATGGGACAGTGAGAGTCACAATAAAAGAGGGCAAAGTGAAACATTTGTTTGGGGTCTATAGAA
TAGAAAACCTCCTGGAAGCAATGTTTAAAGAGACCATAGCTGACCTCCCCGTAGTACCCAACC
GCCCCAGGGGCCAGTCTATACGGCTAAAGAGCTGGCCCAAGGGAACATCGCCCCGGTCCAACCT
GCAGCGAATTATTACGGAATGATAGAGGGGAGAGGCGACCCAATGACGGCATTGGAAGCCTTAT
CAGTCTTGGCGTCAAAAAAGTCTTAGCCAAGGACGTGAAGGTGAACACCCGACGGGCGCAGGT
TTTTTTAAATAAAGTCAGGAGAATTGCTGAGGTGAGAGCGTCGGAACCTGACATTTAAATGCTTA
CCGATACTTGGCAAAGTAAATGGGAGGAAATTGATTAGAGAGGAAACCAACATCCCCAACCAAA
GGTTGGCATCAATAATGACCTCAATAGGAATTAGACTAGAAAAACTGCCAGTGGTTAGAGCAAA
CACTTCCGGCTCTAAGTTCAGACAGTCAATCTTAGAAAAATGGATAAGTATGAAAAATGAACAA
GTCCCAGGGTTACATGAAAAGATGTGGGACGCTTCTGGCAACTGCCAGGCAAGATTTAAGAA
ATACCTATGAGGAAGTAACTTATCTTGAATTAGAGGCCGGAATCAATCGGAAAGGAGCCCCAGG
TTCTTTGAAAAAGAAAGCTCAATAGGAGAAGTGCTGAAAAAAAAGAAAAAATTGACGTCACA
ATCCAAGAGATTTAAAAAGGCAACCACTTATACTATGAAACAGCCATGCCAAAAAATGAGAAAA
GAGATGTGCTTGATGATTGGTTGTCAGAGGATTTCTGCACTTATAAGAAACCAGTGTGATACA
GTACCCTGAGGCAGTCACCCGGTTGGCCATCACCAAAATAATGTATAAGTGGGTGAAGCAAAAG
CCTATAGTGATTCCCGTTATGAGGGAAAAACCCCGATCTTTGAAATATTTGAAAAAGTCAGTG
CAGATTGGGCTCAGTTCAAAAATCCGGTAGCCGTCAGCTTCGACACCAGAGCCTGGGACACTCA
AGTAACAAGAGAAGACCTCAGGCTGGTAGGGCGGATACAGAAATACTATTACAAAAAATAAT
TGGAAGTTCATTGACAATTTGACAGCCATGATGGAGGAAGTGCCGTAAATCACTGTAGAAGGAG
ATATGTTCCCTCAGAGTTGGACAGCGGGATCCGGACAGCCTGATACCTCAGCAGGCAATTCCAT
GCTAAATGTGCTGACTATGTTGGTAGCTTTCTCTGAATCCACAAATCTGCCCATAGCGGCTGCC
TGGAAGGCCTGTGCGATCCACGTCTGTGGTGACGACGGTTTTCTTAATCACAGAATCGGAATTAG
GGAGGAAGTTTGCTGAAAAAGGTGTTCTCTGTTAGCTGCATTTGGCAAACCCCAAAAAAATTAC
AGAGGGAGCGAGCCTAAAGGTAACCAGCAACTTTGACGGAATAGAGTTTTGTAGTCATACCCCT
ATCAGAGTCCAAACACCAACATCAGGTGGATGCCAGCGAGACCAACAGCAACAATCCTAGGCA
AAATGAGTACCAGGCTGGGTGAGGGTGCCACCAGGTCGGGAGAAGAATACGAAAAACAGGTGCC
ATTCGCATATCTACTGATGTACCCCTGGAACCCGCTGGTCAGGAGAATCAGCCTCCTATTGTTA
TCGACTACTGACCCAATGGGGAAAGAGGAAACCCCATGCTCCGATGAGGGGTGAAGTATGTTG
GGGACCTATCGCTGCATACAGGGATGTATGGGGGCACAAATTAGAGGATGTAGGCCATGTTGA

TCAACCGCAGTTATCCCGGATGAACATAGCATGACTTACTTAGGGATTTGGAACCAAAGACA
 AGTCAGCGGCTAGTCGAACAGTGTGTCGTCTGGCCGAGAAAAGCAATTGTGTGGTACGTGCTG
 ACTCCCTGATAAAGAAAAAGGTCAAGATCACTTATGACCCGGGATAGGAGTGGCTCAGGTCAT
 TCGTAGGTGGGAAGAGCTTGAGTGGACCAGAAGGAAACCTGAACTACCAATGTAATTGTAGAA
 GATGATATCTTCTAGTCTGTGGAAGAGATTTTCAAAGTACATTTTTCAGAAAAAAGAGTTCA
 TGCAGAGAATGTTGCCCCCTTATTAAGTGGGGGGCACTCATTTAAATTATAACCAGTATCTGGT
 AAGTATAAGATTTGTGTAATAAAGTATATAACTGAAAGGGCAAGTGGCCGTATAGGCTGGGG
 TGATCGCCGCACCCCCCTTCACTAGGCGCCTCAACCCCATGTACCATGGGGTTGTTGTAAT
 ACTTGAATGAATGGAGTAATACGGGTAAACAACTTATAGGCCAGTATTGCCCCATTTGCTTTAT
 AGTGGTGACGACCTGTATAGGTCCGATCTGATATC (SEQ ID NO:1)

MEKQIAYYLKKEKQRNGWTELVGESHTKITTLGSKTYRGTWEMEKRPNPYGTYLPRPS
 PQLTALHPHPVNVCKVVEYKEMDPNYGDCPNTNGVVFDEKGRRLSSPPLGIWKIRLDYSDLVN
 ISRPTPASGKNSYQVETCSGELATVTLVHNRVLVEDCRGLYQWKPNCEGIVLYVKTCSDWADQV
 EKQEKESPPKQRPVPRRDRKGLQPVKETEVEKQRQPSVTLVSGGQKAQVIYKGRTKNKKT
 PDGVYRYPGAKEGDVVKVRKMLKNWHIALVMYLIHIITPGLAKVQWFLKDNSTGINQILWQRQ
 INRSLHGEWPNQICHGMPNETITDEELRSLGMVDTSPRTNYTCCQLQYHEWKKHGWCNYPQKQA
 WITRITALQANLTGPEYEGPECAVICRFNGSYNIVKQARDEVSPLTGCKEGHPFLFSGERSDTSC
 LRPPSTSWVRPVKMDEASMDGFAHGVDKAIILIRKGASGIINFLDTIGRWLPVAEATIVPYCD
 TYTVTGMVYHVKNCLPRGLPKHSKIISPTMIYLGEGDPAHNIQHLFGSGIAKWVLLVLLGILGEW
 YGELASTIYLLLEYGSEWLEHESLVTEGLIPGINITIELPASHTVPGWVWVAGQWVCVKPDWWP
 TQIWIETVVAETWHILKILASALVNIIVAAFNLELVYLVIIIVKISKGNLIGAILWCLLLSGAE
 GSCYKRQDYNTQLVVEEKTGVEKRSIMGKWTVITREGREPRMEQINMVLNDSLSEYCYNRL
 NTSTWGRQPARQRCGQTPVYWPGDNVLEEQYYSTGYWVNVTTGGCQLREGVWLSRKGNVQCQRN
 GSSMLQLAIKEENDTMEIPCDPVETESMGPVAQGTVCVSWAFAPRGWYYNRKDGWYLYIKKN
 DYQYWTMPTASSAATMYRHLLPLLVAACLMGGRISVWFVAMLLSLQVEASEVGTQLAVTLTLW
 KMDWTELLFYIVLMLAVKEELIKKIVTASLVALKNSPVALSFLIVLRLVGGSEALPVGLLLEKM
 CIDQPEFGTFFLIYLWLNKWTVLVFSALNHEKTIKLARKLLLATHITALTLTGLSDSIFYMM
 LITTNLLIKTFIYLLGASMNWVEREKKLLVKRRLIYKAVTCSQDENVLENKFNKITVNADFT
 PCKLELLQLLRAFLVSLCFSYKPLLYAETTLTVIVIGVQEYNVAMARGRSVHRLLAMAYYIY
 GRIQGDMLQQLATIQLLSSPRKIMKHMVENPTLKKLWQGETELFNQGVVSQSKI VNPCKIGLEEL
 HKGMCGLPTVVQNLVIYAKNDSLILGELGYPPGDLTSDGWEIILGPGRIPKITNVESAKMDLLS
 KLMTFLGIESRVPRTPVHSTRKLLKIVRGLETGWGYTHAGGISSAKHVTGEKNLMTHEGRKG
 KYILQSQEHGADEVEYGVKTDQKAPDNALCYCFNPEATNIKGETGAMVFMKKIGKKWTLVTSKG
 NKAYYVNVNLLKGSGLPIMLHSTGAIIVGRIKSAYSDENDLVEELIDSRTISKSNETNLDHLIKE
 LADMRGEFRSITLGTGAGKTTTELPRQYLTTVGAHKSVLVPLKAPAESVCRFMRSKYPTINF
 SLRVGERKEGDVSSGITYATYGFCCQLNLVQLKEWISRYSMVFFDEYHTATPEQIAIISKIHAL

KVKTRIVAMSATPPGTVTTEGRKFDIEEVGVATIEKGEEPKRGRIVAVAGMQVPLEDLTGKNCLV
 FVATKEAAETEAKELRTRGINATYYYSGIDPKTLEHGMTNQPYCIVATNAIESGITCPDLDVVI
 DTMQKYEKVVNFSKAMPLIVTSLVKKKI TREEQQRKGRVGRQKKGKYYPSGVVPNGSKDLSY
 LILQAQYEGVLEQVNI TEYFI IMNEDWGLYDVDEVEVRILERMNKEILLPLGIVEKQILERSTH
 PEKVALLYNKLVQKNPIVYPRVQEGEVSKYENTYNLAVYDKLKDVPQAIYVLAEEERATEMMG
 LEFEQDPSDLQDSVVQLCEDIKRYTKLSGITEKLLVGTVMGYIGYKALTRNHVPWVSKEYCYEL
 TDSPDTYENSFAPLDVDVQNSGEGKHPEQLADHQLRQLLETGRDKAIDFLKGIREFTSGAINSP
 KALSWEKIYQYLKKHQGEISSAAWGSATALHDSIKSRLGDEVATAVIILKYLAFTERELSGL
 TRQVLIDIIVYIVNKPREFEGDDYAKRKGRRLLVIEVLMGALATYAVSNFWGVSINKILOPISDY
 LPYATATLAFLRPTFMESAVVASSIYRAFLSIKHAENRSLVTQVASAALEVMGLTPVSAGLGV
 LLGLGLCVLHMNIDKNEKRTLILKMFVKNFIDQAALDELDKLEPEKIILSLLEGIQTCTNPIR
 AIMILYRVYKGETFTEALSKMAGKSLIVMVIVEFLELTGQTQGGYIDLSANLLTFLEKLLKM
 TNLAIGEARKVLLPIPYLYCETWQSDARIKAPESYDQVVVECKCGASARYSFRDGVHEILEEKR
 TNWCKNFFLWGFNHNPDPRMTFYEYQAKKCPVIGEDITFGKYGIYIKFGHRPDGGRLLR
 GTTHATISREELLEILTAPSQVAIGKVKLTDYCNQKGIIDRKLAVLEGDKIHFKAHRGSKITD
 QLTIEENLTDLDGSEIRDITWELYTGGTCTVKGVSLRSCAPGHRTKAMVLCDDTDLVSPCYLING
 RRPSPFDVAEGYECHHRKPRATYEDLEMEEILKRRVPVYDPLCLFDTDSKLLPPDYYLEEDQE
 DFEYALRCWGLGVYVADGPVTSPPDIRIHHSSVLLLLTPGVNSELPLQYIRCYPHQAEVDIYIR
 SQQLEEDTATEVEGSQEDGDEGMGDAVIEDEDTSTTESIPPLEEEEGGEEPITYVVIRGLQE
 ERYASHLKLNDWISENISEPHRVQIMLDGTVRVTIKEGKVKHLFGVYRIENSLEAMFKETIADL
 PVATQPPQGPVYTAKELAQGNIAVPQPAANYGMI EGRGDPMTAFEALSVLRSQVLAKDVKN
 TRRAQVFLNKVRRIAEVRASELTLKCLPILGKVNKRKLIREEETNIPNQLASIMTSGIRLEKL
 PVVRANTSGSKFRQSI LEKMDKYENEQVPGLHEKMWAFLATARQDLRNTYEEVTYLELEAGIN
 RKGAPGFFEKESSIGEVLEKKEKIDVTIQEIEKGNHLYETAMPKNEKRDVLDWLSSEDFVYK
 KPRVIQYPEAVTRLAITKIMYKWKQKPIVIGYEGKTPIFEIFEKVSADWAQFKNPVAVSFDT
 RAWDTQVTRDELRLVGRIQKYYYKWKYKFI DNLTAMMEEVPVITVEGDMFLRVGQRGSGQPD
 SAGNSMLNVLTMLVAFSESTNLPAAAAWKACRIHVCGDDGFLITESELGRKFAEKVPLLAAFG
 KPQKITEGASLKVTSNFDGIEFCSHTPIRVQTPNIRWMPARPTATILGKMSTRLGEGATRSGEE
 YEKQVAFAYLLMYPWNPLVRRISLLLLSTTDPMGKEETPCSDEGVKYVGDPIAAYRDVWGHKLE
 DVGHVDQPQLSRMNYSMTYLGIWPKTSQRLVEQCRLAEKSNVVRADSLIKKKVKITYDPGI
 GVAQVIRRWELEWTRRKEPVTNVI VEDDIFLVLWKRFSKYIFQKMKFMQRMFAPY (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.

ATGGAAAAACAGATTGCATATTACTTAAAAAAGAAAAACAAAGAAATGGGTGGACGGA
 ACTGGTGGTAGGAGAAAGTCATACAAAAATAACCACGCTTCTGGAAAGACCTATCGAGGCACC
 TGGGAAATGGAGAAACGGCCAAATCCTTATGGAACCTATCTCCCAGACCTAGTCCCCAACAGC
 TTACAGCCCTACACCCCAACCCAGTGGTGAATTGTAAGGTGGTTGAGTACAAGGAGATGGACCC
 TAATTATGGTGAATTGCCAAAATACGAACGGGTGTTTGTGACGAAAAGGGTAGAAGGCTGAGC
 AGCCCTCCATTAGGCATTTGGAAGATAAGATTGGACTATAGTGACTTGGTAAACATAAGCAGAC
 CAACCCCGCTAGTGGGAAAACTCTTACCAAGTTGAGACCTGCAGTGGGGAGCTGGCTACAGT
 GACACTGGTACACAATAGGGTGCTCGTGAAGATTGCAGGGGGCTATACCAATGGAAACCCAAC
 TGTGAAGGAATTGTGCTCTATGTGAAAACCTTGT (SEQ ID NO: 3)

MEKQIAYYLKKEKQRNGWTELVVGESHTKITTLGKTYRGTWEMEKRPNPYGYLPRPS
 PQQLTALHPHPVNVCKVVEYKEMDPNYGDCPNTNGVVFDEKGRRLSSPPLGIWKIRLDYDLVN
 ISRPTPASGKNSYQVETCSGELATVTLVHNRVLVEDCRGLYQWKPNCIEGIVLYVKTC (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.

TCTGACTGGGCAGATCAGGTAGAAAAACAGGAGAAAGAAAGCCCCCAAAACCACAGCG
 GCCACCAAGGCGAGACCCACGAAAAGGGTTACAACCACAAGTCCCCAAAGAGACTGAGGTCACA
 GAAAAGAAGAGACAACCTAGTGTACCTTAGTATCGGGGGGGCAGAAGGCCAAGTCATCTACA
 AAGGCAGGACCAAAAACAAAAGACCCCGGATGGAGTCTATAGATACCCAGGAGCTAAAGAAGG
 GGACGTAGTAAAGGTCAGGAAGATGCTGAAGAATTGGCATATAGCCTTAGTGATGTACCTGATA
 CATATCATAACTCCAGGC (SEQ ID NO:5)
 SDWADQVEKQEKESPPKPQRPRRDPRKGLQPQVPKETEVEKQRQPSVTLVSGGQKAQ
 VIYKGRTKNKKTPDGVYRYPGAKEGDVVKVRKMLKNWHIALVMYLIHIITPG (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.

CTTGCCAAGGTCCAGTGGTTCTTAAAGATGAAAACCTCGACGGGGATCAACCAGATACT
 GTGGCAAAGACAGATCAACAGATCCTTACATGGAGAATGGCCTAACCCAGATCTGCCACGGTATG
 CCCAATGAAACTATCAGCGATGAGGAATTACGCAGTCTGGGAATGGTAGATACAAGCCCTAGAA
 CAACTACACCTGTTGCCAGTTGCAATATCATGAGTGAAGAAACATGGTTGGTGCAACTATCC
 ACAAAAACAGGCGTGGATCACGAGGATAACGGCCCTACAAGCTAACCTTACCGGGCCTTATGAG
 GGACCTGAGTGCCTGATCTGCCGATTTAACGGCAGCTACAACATCGTAAAACAGGCCAGAG
 ATGAGGTGAGTCCACTGACAGGGTGAAGGAAGGGCATCCTTTTCTATCTCTGGTGAAAGATC
 CGACACCTCATGCCTAAGGCCCTTCCACTAGTTGGGTAAAGACCAGTGAAAATGGACGAGGCA
 TSAATGGCCGATGGCTTTGCCCATGGGGTTGATAAGGCGATAATACTAATCAGGAAGGGGGCAT
 CAGGAATAATCAATTTCTAGACACTATTGGGAGGTGGCTACCGGTAGCTGAAGCA (SEQ ID
 NO:7)

LAKVQWFLKDENSTGINQILWQRQINRSLHGEWPNQICHGMPNETITDEELRSLGMVDT
 SPRTNYTCCQLQYHEWKKHGWCNYPQKQAWITRITALQANLTGPYEGPECAVICRENGSYNIVK
 QARDEVSPLTGCKEGHPFLFSGERSDTSCLRPPSTSWVRPVKMDEASMDGFANGVDKAIIILIR
 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.

ACSTATAGTACCATATTGTGATACTTACACTGTGACAGGGATGTATGTCCATGTAAAGAA
 TTGCCCTCCCTAGAGGGTTACCTAAGCATCAAAAATAATCTCCCGACAATGATATATCTGGGA
 GAAGGAGACCCGGCCATAATATCCAGCACTTATTTGGCTCAGGTATAGCAAAGTGGGTCTTAG
 TTCTACTCGGGATCTGGGTGAGTGGTATGGAGAATTGGCTCCACAATATACTTACTACTAGA
 ATACGGGTCTGAGTGGTTGGAACATGAAAGCCTGGTCACGGAAGGGTTGATTCCTGGCATTAAT
 ATTACAATAGAACTCCAGCTAGTCATACAGTGCCTGGTTGGGTGTGGGTGCGAGGCCAGTGGG
 TATGCGTGAAGCCAGACTGGTGGCTACACAGATTTGGATTGAAACCGTGGTGGCAGAGACCTG
 GCATATACTAAAAATATTGGCGTCAGCCCTGGTGAACATAGTTGCAGCGTTCGTAAACCTGGAA
 TTGGTTTATCTGGTCATAATACTAGTCAAAATATCAAAAGGGAACCTGATAGGTGCCATATAT
 GGTGCTTGTACTGTGACAGGCGCTGAAGGC (SEQ ID NO:9)

TIVPYCDTYTVTGMYVHVKNCLPRGLPKHSKIISPTMIYLGEGDPAHNIQHLFGSGIAK
 WVLVLLGILGEWYGELASTIYLLLEYGSEWLEHESLVTEGLIPGINITIELPASHTVPGWVWVA
 GQWVCVKPDWPTQIWIETVVAETWHILKILASALVNIVAAAFVNLELVYLVIIILVKISKGNLIG
 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.

TCGTGCTACAAAAGACAAGACTATTACAACACCCAACCTAGTCGTCGAAGAAAAACAGG
 CGTAGAAAAACGATCTATAATGGGCAAGTGGACCGTGATAACCAGGGAAGGTCGGGAGCCAAGA
 TTAATGGAGCAAATAAATATGGTATTGAATGATAGCCTGTCAGAAACCTACTGCTATAATAGGC
 TAAACACCAGCACTTGGGGGCGGCAACCGGCAAGACAAAGAGGGTGTGGTCAAACCGTGCCCTA
 TTGGCCTGGTGACAATGTTCTAGAAGAACAATACTACAGCACAGGTTACTGGGTGAATGTAACA
 GCGGTTGCCAGCTGAGAGAAGGCGTATGGCTATCAAGAAAGGGTAACGTACAGTGTGAGCGTA
 ACGGCTCATCCTTGTGCTGCAATTGGCGATAAAAAGAAGAGAATGACACTATGGAAATACCATG
 TGACCCAGTGAAAAGTAAAGTATGGGTCCAGTTCACAGGGCACTTGTGTGTACAGCTGGGCA
 TTCGCCCCAAGAGGGTGGTACTATAACAGGAAGGATGGTTATTGGCTCCAGTACATAAAGAAAA
 ACGACTACCAGTATTGGACAAAAATGCCTACTGCCTCGTCCGCCCAACCATGTACCGCCACTT
 GCTCCCTTACTGGTGGCCTGCCTCATGGGCGGTAGGATATCGGTGTGGTTTGTGGCAATGCTC
 CTGTCTTACAGGTGGAAGCTAGTGAAGTAGGCACTAAACAACCTGGCTGTACGCTAACCCCTGT
 GGAAATGGACTGGACAGAATACTTTTCTATATTGTCTTGATGCTAGCCGTTAAGGAAGAACT
 TATAAAAAAATGTGACCGCTAGCCTTGTGGCCTTAAAAATAGTCCAGTAGCCTTGAGTTTT
 CTTATTGTACTCAGACTTGTGGGGGCGAGTGAAGCACTCCAGTAGGTTATTATTAGAAAAA
 TGTGCATAGACCAACCGGAGTTTGGAACTCCTTTCCTGATCTACCTATGGGACAACTGGAAGTG
 GACTGTGTTAGTCAGCTTCTCCGCACTGAACCATGAAAAAATAAAAACTGGCAAGAAAACTG
 TTGTTGGCAACACATATAACAGCGCTCACATTG (SEQ ID NO:11)

SCYKRQDYNTQLVVEEKTGVEKRSIMGKWTVITREGREPRIMEQINMVLNDSLSEYTC
 YNRLNSTWGRQPARQRGCGQTPVYWPQDNVLEEQYYSTGYVNVVTGGCQLREGVWLSRKNVQ
 CQRNGSSLMLQLAIKEENDTMEIPCDPVETESMGPVAQGTVCVYSWAFAPRGWYRNDGYWLQY
 IKKNDYQYWTMPTASSAATMYRHLLPLLVACLMMGGRISVWFVAMLLSLQVEASEVGTQKQAVT
 LTLWKMDWTELLFYIVLMLAVKEELIKKIIVTASLVALKNSPVALSFLIVLRLVGGSEALPVGLL
 LEKMCIDQPEFGTFLIYLWLNKWTVLVSFALSALNHEKTIKLARKLLLATHITALTL (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.

ACTGGCTTGAGTGATTCATCTTCTATATGATGCTTATAACAACAAATTTGTTAATAAAA
 GACATTCATATACTTGGCTGGGGGCTAGTATGAATTGGGTCGAGAGAGAAAAAAGAAATTGCTA
 GTGAAGAGGAGACTAATATACAAGAAAGCCGTTACTTGCAGTCAGGATGAGAATGTATTGGAGA
 AATAAATCAACAAGATAACTGTAAACGCGGATTTCACCCATGCAAGCTTGAACCTTCTACAATT
 ACTTAGGGCTTTTTTAGTCTCTTTGTGTTTTTCCCTACTACAAACCTCTCCTGTATGCAGAGACT
 ACCTTAACGTGAATAGTAATTGGCGTACAAGAGTACAACGTAGCCATGGCCCCGGGCGAAGTG
 TGGTCCACAGGCTACTAGCCATGGCCTATTACATATACGGCCGCATACAGGGTGACATGTTCCA
 GCTCGCCACTATCCAGTGCCTGCTGTGCGAGTCCGAGGAAAATTATGAAACACATGGTAGAGAAT
 CCAACTCTCAAGAAGCTCTGGCAAGGCGAAACAGAACTCTTCAACCAGGGTGTAGTCAATCCA
 AGATAGTGAATCCAAAGAAAATGGGCTGGAAGAATTACACAAGGGCATGTGTGGCCTCCCAAC
 AGTAGTGCAAAATTTGGTCATATATGCAAAGAAGAATGACTCTCTTATTTTAGGAGAGCTGGGT
 TACCCCCCTGGGATCTCACAGTGATGGGTGGGAAATTTTAGGTCCTGGCAGAATCCCAAAGA
 TCACTAACGTCGAGTCTGCTAAGATGGACTTACTCTCAAACCTTATGACCTTTCTGGGGATTGA
 AAGCTCGAGGGTCCCCAGGACCCAGTCCACTCAACAAGGAAATTTATTGAAGATAGTAAGGGGC

TTGGAAACAGGATGGGGGTACACTCACGCAGGGGGGATAAGTAGCGCAAACACGTTACAGGTG
 AAAAGAACTTAATGACCCACATGGAGGGTAGGAAGGGAAAATATATCCTACAATCTCAAGAACA
 TGGTGCTGACGAGGTAGAGTACGGAGTAAAACTGATCAAAAAGCTCCCGACAATGCCTTATGC
 TACTGTTTTAACCTGAAGCTACAACATAAAAAGGAGAGACGGGAGCCATGGTGTTCATGAAGA
 AGATAGGAAAAAAGTGGACTCTCGTAACATCAGACGGCAATAAAGCCTATTATAATGTAAACAA
 TTTGAAAGGGTGGTCTGGACTACCAATAATGCTGCACTCCACCGGGGCCATAGTGGGGAGGATT
 AAATCAGCGTATTCAGATGAAAACGACCTGGTGGAGGAACTTATTGACTCTAGAATATTAGTA
 AGAGCAATGAGACAAACCTGGACCACCTTATCAAGGAATTGGCAGACATGCGGAGGGGGAGTT
 CCGCTCAATTACCCTTGGAACGGGAGCCGGGAAAACCACAGAATGCCTAGGCAATACCTCACA
 ACAGTAGGTGCCATAAATCCGTGCTGGTCTTAGTCCCTTAAAAGCACCTGCTGAAAGTGT
 GCCGCTTTATGAGGTCTAAATACCCTACCATCAACTTTTCCTTAAGAGTGGGGGAACGGAAAGA
 GGGAGATGTGAGCAGCGGCATCACCTACGCTACTTACGGATTTTGCTGCCAGCTAAACCTAGTC
 CAACTTAAAGAATGGATATCCAGGTACTCAATGGTTTTTTTTGATGAATATCACACAGCAACTC
 CAGAACAAATAGCCATAATAAGCAAGATTCATGCACTGAAAGTTAAGACCAGGATAGTGGCTAT
 GTCAGCAACCCCCCGGTACCGTGACGACTGAAGGCAGGAAGTTTGACATTGAAGAGGTAGGG
 GTTGCTACCATAGAGAAAGGAGAGGAACCAAAAAGGGGGCCATAGCGGTGCTGGTATGCAGG
 TCCCATTAGAAGACTTAACAGGAAAGAACTGCCTGGTGTTCGTGGCAACCAAGAAGCCGCGGA
 GACGGAGGCTAAAGAACTGCGCACCAGAGGAATTAACGCCACCTACTACTATTACAGGTATAGAC
 CCTAAGACTCTGGAACATGGGATGACCAATCAGCCATACTGTATTGTAGCTACCAATGCCATTG
 AATCAGGTATAACCTGTCTGACTTGGATGTGGTCATAGACACCATGCAGAAGTACGAAAAAGT
 AGTGAATTTCTCGGCAAAGATGCCCTTGATTGTCACTTCATTAGTAAAGAAAAAATCACCAGG
 GAAGAACAGGGCCAGAGGAAAGTTCGAGTGGGCAGGCAAAAGAAAGGAAAATACTACTACCCT
 CGGGGGTGGTACCGAATGGGTCAAAGACCTAAGCTATTTAATCCTACAGGCCCAAGAATATGG
 TGTCTTGAACAAGTCAATATAACAGAGTACTTCATCATAATGAATGAGGACTGGGGTCTCTAT
 GACGTAGATGAAGTAGAAGTGAATACTTGAAGAAATGAACAAGGAAATCTTGCTACCCTAG
 GTATTGTGGAGAAGCAAATCTTGGAAAGAAGTACTCACCCGAAAAGTGGCACTGTTGTATAA
 CAAATTAGTGCAGAAAAATCCTATAGTATACCCTAGAGTACAGGAAGGTGAGGTACGCAAGGAA
 TACAATACCTATAATCTGGCCGTATATGACAAGCTAAAAGATGTCAACCCACAAGCCATTTATG
 TTCTAGCAGAAGAGGAGAGAGCCACAGAAATGATGGGTCTCGAGTTTGAACAAGACCCATCTGA
 CTTACAGGATTCGGTAGTTCAGCTTTGTGAAGATATCAAGAGGTATACAAAACCTC (SEQ ID
 NO: 13)

TGLSDSIFYMMLITTNLLIKTFIYLLGASMNWVEREKKKLLVKRRLIYKKAVTCSQDEN
 VLENKFNKIVNADFTPCKLELLQLLRAFLVSLCFSYYKPLLYAETTLTVIVIGVQEYNVAMAR
 GRSVVHRLLAMAYYIYGRIQGDMFQLATIQCLLSSPRKIMKHMVENPTLKKLWQGETELFNQGV
 SQSKI VNPCKIGLEELHKGMCGLPTVVQNLVIYAKKNDLILGELGYPPGDLTSDGWEILGPGR
 IPKITNVESAKMDLLSKLMTFLGIESSRPRTPVHSTRKLLKIVRGLETGWGYTHAGGISSAKH
 VTGEKNLMTHEGRKGKYLILQSQEHEGADEVEYGVKTDQKAPDNALCYCFNPEATNIKGETGAMV
 FMKIKGKWTLVTSNGNKAYNVNLLKGSGLPIMLHSTGAI VGRIKSAYS DENDLVEELIDSR
 TISKSNETNLDHLIKELADMRRGEFRSITLGTGAGKTELPRQYLTTVGAHKSVLVLPKAPA
 ESVCRFMRSKYPTINFSLRVGERKEGDVSSGITTYATYGFCCQLNLVQLKEWISRYSMVFFDEYH
 TATPEQIAIISKIHALKVKTRIVAMSATPPGTVTTEGRKFDIEEVGVATIEKGEEPGRGRIAVA
 GMQVPLEDLTGKNCLVVFATKEAAETEAKELRTRGINATYYYSGIDPKTLEHGMTNQPYCIVAT
 NAIESGITCPDLVDVIDTMQKYEKVVNFSKMPPIVTSLVKKKITREEQQRKGRVGRQKKGKY
 YYPGVPNGSKDLSYLILQAQEQYGVLEQVNI TEYFIIMNEDWGLYDVDEVEVRILERMNKEIL
 LPLGIVEKQILERSHPEKVALLYNKLVQKNPIVYPRVQEGEVSKEYNTYNLAVYDKLKDVPNQ
 AIYVLAEEERATEMMGLEFEQDPSDLQDSVVQLCEDIKRYTKL (SEQ ID NO: 14)

Геликаза: ген, кодирующий белок геликазы, состоящий из 687 аминокислот, находится в положи-
 ях с 4335 по 6395 последовательности SEQ ID NO: 1.

GGTCCTGGCAGAATCCCAAAGATCACTAACGTCGAGTCTGCTAAGATGGACTTACTCTC
 CAAACTTATGACCTTTCTGGGGATTGAAAGCTCGAGGGTCCCCAGGACCCAGTCCACTCAACA
 AGGAAATTATGAAGATAGTAAGGGCTTGAAACAGGATGGGGGTACACTCACGCAGGGGGGA
 TAAGTAGCGCAAAACACGTTACAGGTGAAAAGAACTTAATGACCCACATGGAGGGTAGGAAGGG
 AAAATATATCCTACAATCTCAAGAACATGGTGTGACGAGGTAGAGTACGGAGTAAAACTGAT
 CAAAAAGCTCCCGACAATGCCTTATGCTACTGTTTTAACCTGAAGCTACAAAATAAAAGGAG
 AGACGGGAGCCATGGTGTTCATGAAGAAGATAGGAAAAAAGTGGACTCTCGTAACATCAGACGG
 CAATAAAGCCTATTATAATGTAAACAATTTGAAAGGGTGGTCTGGACTACCAATAATGCTGCAC
 TCCACCGGGGCCATAGTGGGGAGGATTAATCAGCGTATTGAGATGAAAACGACCTGGTGGAGG
 AACTTATTGACTCTAGAACTATTAGTAAGAGCAATGAGACAAACCTGGACCACCTTATCAAGGA
 ATTGGCAGACATGCGGAGGGGGAGTCCGCTCAATTACCCTTGAACGGGAGCCGGGAAAACC
 ACAGAACTGCCTAGGCAATACCTCACAACAGTAGGTGCCATAAATCCGTGCTGGTCTTAGTCC
 CCTTAAAAGCACCTGCTGAAAAGTGTTCGCGCTTTATGAGGTCTAAATACCCTACCATCAACTT
 TTCTTAAGAGTGGGGAACGGAAAGAGGGAGATGTGAGCAGCGGCATCACCTACGCTACTTAC
 GGATTTTGTGTCAGCTAAACCTAGTCCAACCTTAAAGAATGGATATCCAGGTACTCAATGGTTT
 TTTTGTGATGAATATCACACAGCAACTCCAGAACAATAGCCATAATAAGCAAGATTCATGCACT
 GAAAGTTAAGACCAGGATAGTGGCTATGTCAGCAACCCCCCGGGTACCCTGACGACTGAAGGC
 AGGAAGTTTGACATTGAAGAGGTAGGGTGTGCTACCATAGAGAAAGGAGAGGAACAAAAAGGG
 GGCGCATAGCGGTGCTGGTATGCAGGTCCCATTAGAAGACTTAACAGGAAAGAACTGCCTGGT
 GTTCGTGGCAACCAAGAAGCCGCGGAGACGGAGGCTAAAGAAGTGCACCCAGAGGAATTAAC
 GCCACCTACTACTATTGAGGTATAGACCCTAAGACTCTGGAACATGGGATGACCAATCAGCCAT
 ACTGTATTGTAGCTACCAATGCCATTGAATCAGGTATAACCTGTCTGACTTGGATGTGGTCAT
 AGACACCATGCAGAAGTACGAAAAGTAGTGAATTTCTCGGCAAAGATGCCCTTGATGTCACT
 TCATTAGTAAAGAAAAAATCACCAGGGAAGAACAGGGCCAGAGGAAAGGTCGAGTGGGCAGGC
 AAAAGAAAGGAAAATACTACTACCCCTCGGGGGTGGTACCGAATGGGTCAAAGACCTAAGCTA
 TTTAATCCTACAGGCCCAAGAATATGGTGTCTTGAACAAGTCAATATAACAGAGTACTTCATC
 ATAATGAATGAGGACTGGGGTCTCTATGACGTAGATGAAGTAGAAGTGAAGAACTTGAAGAA
 TGAACAAGGAAATCTTGCTACCCTAGGTATTGTGGAGAAGCAAATCTTGAAGAAGTACTCA
 CCGGAAAAGTGGCACTGTTGTATAACAATTAGTGCAGAAAAATCCTATAGTATACCCTAGA
 GTACAGGAAGGTGAGGTGAGCAAGGAATAACAATACCTATAATCTGGCCGTATATGACAAGCTAA
 AAGATGTCAACCCACAAGCCATTTATGTTCTAGCAGAAGAGGAGAGCCACAGAAATGATGGG
 TCTCGAGTTTGAACAAGCCCATCTGACTTACAGGATTCGGTAGTTCAGCTTTGTGAAGATATC
 AAGAGGTATACAAAAC (SEQ ID NO:15)

GPGRIPKINVESAKMDLLSKLMTFLGIESSRVPVHSTRKLLKIVRGLETGWGYTH
 AGGISSAKHVTGEKNLMTHEGRKGYILQSQEHGADEVEYGVKTDQKAPDNALCYCFNPEATN
 IKGETGAMVFMKKIGKKWTLVTS DGNKAYYVNNLKGWSGLPIMLHSTGAI VGR IKSAYS DEND
 LVEELIDSRITISKSNETNLDHLIKELADMRRGEFRSITLGTGAGKTTTELPRQYLTTVGAHKSVL
 VLVPLKAPAESVCRFMRSKYPTINFSLRVGERKEGDVSSGITYATYGFCCQLNLVQLKEWISRY
 SMVFFDEYHTATPEQIAIISKIHALKVKTRIVAMSATPPGTVTTEGRKFDIEEVGVATIEKGEE
 PKRGR IAVAGMQVPLEDLTGKNCLVFVATKEAAETEAKELRTRGINATYYYYSGIDPKTLEHGMT
 NQPYCIVATNAIESGITCPDLVDVIDTMQKYEVVNFSAKMPLIVTSLVKKKITREEQQRKGR
 VGRQKKGKYYYYPSGVVPNGSKDLSYLILQAQYGVLEQVNI TEYFI IMNEDWGLYDVDEVEVRI
 LERMNKEILLPLGIVEKQILERSTHPEKVALLYNKLVQKNP I VYPRVQEGEVSKYNTYNLAVY
 DKLKDVPQAIYVLAEEERATEMMGLEFEQDPSDLQDSVVQLCEDIKRYTKL (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.

TCTGGGATCACTGAGAACTGCTAGTAGGTACGATGGTGGGGTATATTTGGATACAAAGC
 CTTAACCAGAAAACCACGTGCCCTGGGTGAGCAAAGAGTATTGTTATGAGCTGACCGATTACCCG
 GATACTTACGAAAACATTCGCACCTTTGGACGTGACGTCCAAAACCTCCGGTGAAGGAAAAAC
 ACCCAGAGCAACTG (SEQ ID NO:17)

SGITEKLLVGTVMGYIGYKALTRNHVPWVSKEYCYELTDSPTYENSFAPLDVDVQNSG
 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.

GCAGACCATCAATTGAGGCAACTACTGGAGACTGGGAGAGACAAGGCAATTGATTTCTT
 AAAAGGAATCCGCGAGTTCACCTAGTGGGGCCATAAACAGTCCAAAGGCACTAAGTATATGGGAG
 AAAATATATCAGTATTTGAAGAAGCATCAGGGCGAGATCATCTCATCAGCAGCGTGGGGCAGTG
 CGACGGCCCTTACGACAGTATTAATCTAGACTAGGAGATGAGGTCGCTACTGCAGTAATAAT
 CCTCAAGTATTTAGCATTGGTGAAGAGAAGTGTCTGGGCTAACTAGGCAAGTTCTAATTGAC
 ATCATAGTATATATATAGTTAACAAGCCCCGGTTCGAAGGAGACGACTACGCAAAGAGAAAAG
 GAAGAAGGCTAGTCATCGAAGTCTGATGGGGGCACTGGCGACTTATGCGGTGTCCAATTTTG
 GGGTGTGTCCATTAATAAGATACTGCAACCAATTTCTGATTATCTACCCTATGCCACCGCCACT
 TTGGCTTTTCTTCGCCAACCTTCATGGAATCAGCAGTGGTGGTCGCTTCTCTATCTATAGAG
 CTTTTCTCTCCATTAAGCATGCGGAAAACAGGAGTCTTGTACGCGAGGTCGCTTCTGCCGCCCT
 CGAAGTCATGGGCTGACCCAGTATCGGCTGGCCTAGGCGTCTTGTGGGGCTTGGGTTGTGT
 GTGCTCCATATGAACATTGACAAGAATGAGGAGAAAAGGACACTTATACTGAAAATGTTTGTCA
 AAACTTTATAGACCAGGCGGCACTAGACGAGTTGGATAAACGGAGCCAGAAAAATAATCCT
 CTCATTGTTGGAGGGTATCCAAACCTGCACAAACCCGATTAGAGCAATCATGATTTTGTACAGG
 GTGTACTACAAGGGAGAACTTTACAGAAGCTTTGTCTAAGATGGCCGGCAAGTCTCTCATTTG
 TGATGGTCATAGTCGAGTTCCTGGAATTGACAGGCCAAACCCAAGGAGGTATATAGATCTTAG
 TGCTAATTTGCTGACCTTTCTCTCGAGAACTAAAAAAATGACTAACCTCGCCATCGGGGAA
 GCTAGAAAAGTCTTGTCTCCCATCCCATACTTGTACTGTGAAACCTGGCAGTCTGACGCCAGAA
 TCAAGGCCCTGAATCCTACGACCAAGTGGTAGTGAATGCAAAATGTGGCGCTTCAGCGAGGTA
 TTCCTTCCGCGATGGAGTTCATGAGATATTGGAAGAAAAAGGACTAATTGGTGAAGAAGTTC
 TTCTTATGGGGACCAACTTCCACAATCCGGATCCAAAAGGATGACATTTCTATGAATACGGCC
 AAGCAAAAAGTGTCTGTATCATAATTGGTGAAGACATAACCTTCGGCAAATATGGCATATA
 TATCAAAATTTGGCCATAGGCTGATGGAGGGAGGTTAATAAGGGGTACCACCCACGCTACTATC
 AGTAGGGAGGAATTGCTGGAAATCCTAACAGCCCCAAGCCAAGTGGCCATAGGCAAGGTCAAGC
 TAACCGATTACTGTAATCAAAAAGGAATAATAGACAGGAAATTTGGCCGACTTGAAGGTGACAA
 AATACATTTTGGAAAGCACACCGTGGATCCAAAATCACAGACCAACTCACTATTGAGAATCTG
 ACAGATGATTTGGGGTCAGAAATCAGGGACATCACATGGGAGCTGTACACAGGTGGAACGTGCA
 CCGTAAAAGGGTGTCCCTTAGATCATGCGCACCAAGGTCATAGAACTAAGGCTATGGTCTTGTG
 TGATTGCACTGATGTGCTTAGCCCTGTACCTAATAAACGGCAGGAGACCATCCCCATTTGAC
 GTCGCGGAAGGTTATGAATGTCACCACCGGAAGCCCCGAGCGACGTATGAAGACCTAGAAATGG
 AGGAAATACTAAAGAGACGAGTCCCTGTCTACGATCCTCTGTGTTTGTGTTGACTGATAGTAA
 ACTGCTACCTCCCGACACCTACTACTTGAAGAAGATCAAGAGGACTTTGAGTACGCATTGAGA
 TGCTGGGGCCTCGGGGTTTATGTAGCAGACGGCCCTGCTACTTCCCCCGGACATAAGAATAC
 ACCATAGTTCGGTATTACTACTGCTGACACCTGGAGTAAACTCAGAGTTGCCCTTACAGTACAT
 ACGTTGTTACCCTCATCAGGCAGAGGTGGACATCTACATTAGGAGTCAGCTTTTGGAGGAGGAA
 GACACTGCTACGGAGGTGGAAGGCTCCCAGGAAGATGGTGTGAAGGGATGGGCGATGCGGTAA
 TAGAGGATGAGGATACATCGTCCACAACAGAATCAATACCCCACTAGAAGAGGAGGAAGGGGG
 CGAAGAGCCAATCACCTATGTGGTCATAAGGGGATTACAAGAAGAAAGATACGCCAGCCATCTT

AAACTA (SEQ ID NO:19)

ADHQLRQLLETGRDKAIDFLKGIREFTSGAINSPKALSIWEKIYQYLKKHQGEI ISSAA
 WGSATALHDSIKSRLGDEVATAVILKYLAFGERELSGLTRQVLIDIIVYYIVNKPRFEGDDYA
 KRKGRRLVIEVLMGALATYAVSNFWGVSINKILQPI SDYLPYATATLAFRLRPTFMESAVVVASS
 IYRAFLSIKHAENRSLVTQVASAALEVMGLTPVSAGLGVLLGLGLCVLHMNIDKNEEKRTLILK
 MFVKNFIDQAALDELDKLEPEKI ILSLLEGIQTCTNPIRAIMILYRVYKGETFTEALSKMAGK
 SLIVMVIVEFLELTGQTQGGYIDLSANLLTFLLEKLLKMTNLAI GEARKVLLPIPYLYCETWQS
 DARIKAPESYDQVVVECKCGASARYSFRDGVHEILEEKRTNWCKNFFLWGNFHNPDPKRMTFY
 EYGQAKKCPVIIIGEDITFGKYGIYIKFHRPDGGRLIRGTTTHATISREELLEILTAPSQVAIG
 KVKLTIDYCNQKGIIDRKLAVLEGDKIHFWKAHRGSKITDQLTIENLTDLGLSEIRDITWELYTG
 GTCTVKGVSLRSCAPGHRTKAMVLCDCDVLSPCYLINGRRSPFDVAEGYECHHRKPRATYED
 LEMEEILKRRVPVYDPLCLFDTDSKLLPDDTYYLEEDQEDFEYALRCWGLGVYVADGVPVTSPPD
 IRIHSSVLLLLTPGVNSELPLOYIRCYPHQAEVDIYIRSQLEEDTATEVEGSQEDGDEGMG
 DAVIEDEDTSSTTESIPPLEEEEEEGGEEPITYVVIRGLQEERYASHLKL (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.

AATGACTGGATCAGTGAAAACATTTTCAGAGCCACACAGAGTCCAAATATGCTAGATGG
 GACAGTGAGAGTCAACAATAAAGAGGGCAAAGTAAAACATTTGTTTGGGGTCTATAGAAATAGAA
 AACTCCCTGGAAGCAATGTTTAAAGAGACCATAGCTGACCTCCCGTAGCTACCCAACCGCCCC
 AGGGGCCAGTCTATACGGCTAAAGAGCTGGCCCAAGGAACATCGCCCCGGTCCAACCTGCAGC
 GAATTATTACGGAATGATAGAGGGGAGAGGCGACCCAATGACGGCATTCGAAGCCTTATCAGTC
 TTGCGGTCACAAAAAGTCTTAGCCAAGGACGTGAAGGTGAACACCCGCGAGGGCGCAGGTTTTTT
 TAAATAAAGTCAAGGAGAATTGCTGAGGTGAGAGCGTCGGAAGTACATTAATAATGCTTACCGAT
 ACTTGCCAAAGTAAATGGGAGGAAATTGATTAGAGAGGAAACCAACATCCCAACCAAAGGTG
 GCATCAATAATGACCTCAATAGGAATTAGACTAGAAAAACTGCCAGTGGTTAGAGCAAACACTT
 CCGGCTCTAAGTTCAGACAGTCAATCTTAGAAAAAATGGATAAGTATGAAAATGAACAAGTCCC
 AGGGTTACATGAAAAGATGTGGGCAGCGTTCCTGGCAACTGCCAGGCAAGATTTAAGAAAATACC
 TATGAGGAAGTAACTTATCTTGAATTAGAGGCCGAATCAATCGGAAAGGAGCCCCAGGTTTCT
 TTGAAAAAGAAAGCTCAATAGGAGAAGTGTGGAAAAAAGAAAAAATTGACGTCACAATCCA
 AGAGATTGAAAAAGGCAACCACTTATACTATGAAACAGCCATGCCAAAAAATGAGAAAAGAGAT
 GTGCTTGATGATTGGTTGTCAGAGGATTTCTGCTCACTTATAAGAAACCACGTGTGATACAGTACC
 CTGAGGCAGTCAACCGGTTGGCCATCAACAAAATAATGTATAAGTGGGTGAAGCAAAAGCCTAT
 AGTGATTCACCGGTTATGAGGGAAAAACCCCGATCTTTGAAATATTTGAAAAGTCAAGTGCAGAT
 TGGGCTCAGTTCAAAAATCCGGTAGCCGTCAGCTTCGACACCAGAGCCTGGGACACTCAAGTAA
 CAAGAGAAGACCTCAGGCTGGTAGGGCGGATACAGAAATACTATTACAAAAAAAATATTGGAA

GTTCATTGACAATTTGACAGCCATGATGGAGGAAGTGCCTGTAATCACTGTAGAGGAGATATG
 TTCTCAGAGTTGGACAGCGGATCCGGACAGCCTGATACCTCAGCAGGCAATTCATGCTAA
 ATGTGCTGACTATGTTGGTAGCTTTCTCTGAATCCACAAATCTGCCCATAGCGGCTGCCTGGAA
 GGCCTGTCGGATCCACGTCTGTGGTGACGACGGTTTCTTAATCACAGAATCGGAATTAGGGAGG
 AAGTTTGCTGAAAAAGGTGTTCTCTGTAGCTGCATTTGGCAAACCCCAAAAAATACAGAGG
 GAGCGAGCCTAAAGGTAACCAGCAACTTTGACGGAATAGAGTTTTGTAGTCATACCCCTATCAG
 AGTCCAAACACCAAACATCAGGTGGATGCCAGCGAGACCAACAGCAACAATCCTAGGCAAAATG
 AGTACCAGGCTGGGTGAGGGTGCCACCAGGTCGGGAGAAGAATACGAAAAACAGGTGGCATTCG
 CATATCTACTGATGTACCCCTGGAACCCGCTGGTCAGGAGAATCAGCCTCCTATGTTATCGAC
 TACTGACCCAATGGGAAAAGAGGAAACCCCATGCTCCGATGAGGGGGTGAAGTATGTTGGGGAC
 CCTATCGCTGCATACAGGGATGTATGGGGGCACAAATTAGAGGATGTAGGCCATGTTGATCAAC
 CGCAGTTATCCCGGATGAACTATAGCATGACTTACTTAGGGATTTGGAAACCAAAGACAAGTCA
 GCGGCTAGTCGAACAGTGTGTGCTGCGCCGAGAAAAGCAATTGTGTGGTACGTGCTGACTCC
 CTGATAAAGAAAAAGGTCAAGATCACTTATGACCCGGGGATAGGAGTGGCTCAGGTCATTCGTA
 GGTGGGAAGAGCTTGAGTGGACCAGAAGGAAACCTGAACTCACCAATGTAATTGTAGAAGATGA
 TATCTTCCTAGTCTGTGGAAGAGATTTTCAAAGTACATTTTTCAGAAAATGAAGTTCATGCAG
 AGAATGTTCCGCCCTTATTAA (SEQ ID NO:21)

NDWISENISEPHRVQIMLDGTVRVTIKEGKVKHLFGVYRIENSLEAMFKETIADLPVAT
 QPPQGPVYTAKELAQGNIAPVQPAANYGMIEGRGDPMTAFEALSVLRSQKVLAKDVKNVRRRA
 QVFLNKVRRIAEVRASELTLKCLPILGKVNKRKLIREETNIPNQLASIMTSIGIRLEKLPVVR
 ANTSGSKFRQSILEKMDKYENEQVPLHEKMWAFLATARQDLRNTYEEVTYLELEAGINRKGGA
 PGFFEKESSIGEVLEKKEKIDVTIQEIEKGNHLYYETAMPKNEKRDVLDWLSDFVTYKPRV
 IQYPEAVTRLAI TKIMYKWKQKPIVIPGYEGKTPIFEI FEKVSADWAQFKNPVAVSFDTRAWD
 TQVTREDLRLVGRIQKYYYKWKYKWFIDNLTAMMEEVPVITVEGDMFLRVGQRGSGQPDT SAGN
 SMLNLVLTMLVAFSESTNLP IAAAWKACRIHVCDDGLITESELGRKFAEKGVPLLAAFGKPKQ
 ITEGASLKVTSNFDGIEFCSHTPIRVQTPNIRWMPARPTATILGKMSTRLGEGATRS GEEYEKQ
 VAFAYLLMPWNPLVRRISLLLLSTDPMGKEETPCSDEGVKYVGDPIAAYRDVWGHKLEDVGH
 VDQPQLSRMNYSMTYLGIWKPKTSQRLVEQCCRLAEKSNVVRADSLIKKKVKITYPDIGVAQ
 VIRRWELEWTRRKPELTNVIVEDDIFLVLWKRFSKYIFQKMKFMQRMFAPY (SEQ ID
 NO:22)

В одном из вариантов осуществления пестирус по изобретению представляет собой мутант пестируса, в частности, содержащий по сравнению с геномом пествируса 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 пествируса, 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 пествируса. В соответствии с еще одним вариантом осуществления такая иммуногенная композиция дополнительно содержит по меньшей мере часть вирусного вектора, экспрессирующего указанный полипротеин пествируса 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 пествируса 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 пествируса или его части. Предпочтительно ука-

занный 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 пестивирусы, 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 используемых 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 т.п.), 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-тиосульфат), деомицин, гентамицин и т.п. Во многих случаях предпочтительным будет включение в композицию изотонических агентов, например сахара или хлорида натрия. Пролонгированная абсорбция инъекционных композиций, если желателен, 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 до примерно 3 мл, предпочтительно от примерно 0,2 до примерно 1,5 мл, более предпочтительно от примерно 0,2 до примерно 0,5 мл при концентрациях конъюгата и адьюванта, 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, чрескожно 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 рН-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 т.п.

Предпочтительные пути введения включают, но ими не ограничиваются, интраназальный, пероральный, внутрикожный и внутримышечный. Предпочтительным является внутримышечное или интравaginaльное введение наиболее предпочтительно единичной дозой, если желателен. 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, внутримедулярное или внутрilegeчное 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 принята 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 т.п.; 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, WO 93/03760, WO 93/07898, WO 96/36356, EP 0676467, EP 0732340, EP 0835930). Альтернативно, это может быть осуществлено путем генетического реинжиниринга посредством использования инфекционного клона, обычно полноразмерной комплементарной ДНК-транскрипцией вирусного генома (WO 98/18933, EP 1018557, 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 геной 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 т.п.). 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: (а) инокулирование клеток пестивирусом; (б) инкубацию инокулированных клеток; (с) 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 адьюванта к пестивирусной вакцине, предпочтительно адьювант представляет собой адьювант 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 осу-

шествования одно из вышеуказанных соединений контейнера может быть мечено с возможностью обнаружения. Набор может необязательно дополнительно содержать в контейнере заранее определенное количество 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 т.п.

"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 полноразмерную 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 инактивации. Термин "инактивированный" относится к ранее вирулентному или неvirulentному вирусу, или бактерии, которые были подвергнуты облучению (ультрафиолетовое (УФ), рентгеновское, электронно-лучевое или γ -излучение), нагреты или химически обработаны для инактивации, уничтожения, сохраняя при этом их иммуногенность. В одном из вариантов осуществления инактивированный вирус, описанный в настоящем описании, инактивирован путем обработки инактивирующим агентом. Подходящие инактивирующие агенты включают β -пропиолактон, бинарный или β - или ацетил-этиленимин, глутаровый альдегид, озон и формалин (формальдегид).

При инактивации 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%-го раствора формальдегида для инактивации вируса или бактерии. Крайне важно подобрать количество формалина, которое гарантировало бы инактивацию вещества, но чтобы при этом не возникали побочные эффекты от высокой дозы.

Более предпочтительным способом инактивации является использование этиленimina и соответствующих производных, таких как бинарный этиленimin (BEI) и ацетилэтиленimin, которые являются примерами подходящих химических инактивирующих агентов для использования при инактивации пестивируса. Другие химические инактивирующие агенты, например, β -пропиолактон, альдегиды (такие как формальдегид) и/или детергенты (например, детергент TWEEN®, TRITON® X или алкилтриметил-аммониевые 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 0,1-0,2М 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-вируса при 35-40°C (например, при 37°C) при постоянном перемешивании в течение приблизительно 24-72 ч. 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, адьювант на основе алюминия).

Используемый в настоящем описании термин "фармацевтический или ветеринарно приемлемый носитель" включает любые и все растворители, дисперсионные среды, покрытия, адьюванты, стабилизирующие агенты, разбавители, консерванты, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотониче-

ские агенты, агенты, замедляющие адсорбцию, и т.п. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления и особенно в тех, которые включают лиофилизированные 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.), JohnWiley 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 (Phameugora, т. 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 групп 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 pH, 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 мураמידдипептид, 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 об.% конечного продукта.

"Разбавители" могут включать воду, физиологический раствор, декстрозу, этанол, глицерин и т.п.

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. Аттенуация вируса имеет отношение к его вирулентности (патогенности), но не обязательно влияет на репликативную способность вируса. Аттенуированный 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 аттенуированным 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 (т.е. % идентичности=количество одинаковых положений/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 т.п., 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%-й, например по меньшей мере с 96, 97, 98, 99 или 100%-й 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 карбоксиконцевых 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 последовательно-

сти, 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 использовать 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; EPA0370573; заявка США № 920197, поданная 16 октября 1986; европейская патентная заявка № 265785; патент США № 4769331 (рекомбинантный 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; Feigner 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, WO 93/19183, WO 94/21797, WO 95/11307, WO 95/20660; 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 т.п., 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, репрессуемым 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 генной 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 представ-

ляющих 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_{ms} в супернатанте клеточной культуры. Для таких других систем экспрессии могут потребоваться сигнальная последовательность для индукции экспрессии E или E_{ms} 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 антитело-опосредованного 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 означают 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, т.е. количество копий пестивирусов на 1 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.

Свиней 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 свиней 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 свиней 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 эвтаназии 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±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±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
TBD	<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 (Milte 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 ч после доставки или поддерживали при -70±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 ч после доставки, или поддерживали при -70±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 18-20g× от 1 дюйма (2,54 см) до 1,5 дюйма (3,81 см)®, держатель иглы VACCUTAINER® и 9 или 13 мл-вые 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 ч после доставки, или поддерживали при -70±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 виремии (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 сгустка центрифугированием и декантировали в стерильные бутылки. Образцы сыворотки поддерживали при 2-8°C, если тестирование проводили в течение <24 ч 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), миндалина (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 ч 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), брыжечный 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 г., 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 критерий 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 N3S 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 (табл. 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 мин 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.

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 ч до операции, чтобы снизить риск анестезирующей регургитации. Терминальную сыворотку свиноматки 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 полилактина 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. Анастезия первой свиноматки началась в 8:30 утра в соответствующий день операции. Каждая процедура занимала приблизительно 1 ч. Анастезию 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 моз-

га, 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 вирусемического 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 (табл. 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
Вид образца

Ферма	ID животного	Состояние болезни ^a	Ствол головного мозга									
			Головной мозг		Мозжечок		Спинальный 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
А	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	+	НО ^e	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО	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
В	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

^a Присутствие (+) или отсутствие (-) врожденного тремора.

^b Cq=значение цикла количественных показаний.

^c SQ=начальное количество.

^d U="необнаруженный" после 40 циклов.

^e НО=Не 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 DPF 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 DPF 2 соответственно (табл. 4). Тяжесть тремора изменялась в пометах поросенка, но оставалась относительно постоянной в течение двухдневного периода наблюдения у большинства поросят (табл. 5).

Таблица 4

Идентификационный номер свиноматки/день беременности ^a	Врожденный тремор		Дисплазия тазобедренного сустава	
	Распространенность		Распространенность	
	Номер пораженного ^b	в помете	Номер пораженного/номер в помете	в помете
	в помете	(%)	в помете	(%)
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

^a День беременности во время инокуляции.

^b Поросят 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
	48	3,00	2,00	2,50
3661/пестивирус/62	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

^a День беременности во время инокуляции.

^b DPF=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 С_q сыворотки, мазков из носа, цереброспинальной жидкости, брыжеечного лимфатического узла, трахеобронхиального лимфатического узла, селезенки и пуповинной крови было меньше 26. Среднее значение С_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 С_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 образцов 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 мононуклеарные клетки периферической крови или эндотелиальные клетки, сходные с CSFV.

Пестивирус, используемый для этой модели инокуляции, был вирусом свинной сыворотки, 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 вирусная вирусная 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 вирусности 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-й группы (n=4) вакцинировали на D0 и D14 с помощью прототипные пестивирусной вакцины непосредственно перед или вскоре после скрещивания. Животные 2-й группы (n=4), вакцинировали плаце-

бо прототипной вакциной. Животные 3-й 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 ч, визуально оценивали на наличие клинических симптомов и фиксировали на видеозаписи. Поросят подвергали эвтаназии в возрасте 48 ч. 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

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

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 поросят 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 самками 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 яв-

ляется 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 подвергались гуманной эвтаназии, учитывались и утилизировались 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. табл. 8 ниже для объяснения экспериментальных групп.

Во время отъема шесть животных в возрасте 6 недель рандомизировали в 1 и 2 группу, и им вводили дозу 2 мл либо вакцины, либо плацебо в соответствии с табл. 8. Животных рандомизировали и объединяли в отдельные клетки в одной комнате. Животные в 3 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. табл. 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/ИМ

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

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	- Вскрытие - Сбор терминальной сыворотки (1×250 мл флакон) у всех животных	Образцы сыворотки: серологический анализ

Вакцинный материал.

Супернатант из инфицированных клеток SK6 концентрировали в 10 раз путем ультрацентрифугирования и инактивировали 5 мМ раствором BEI в течение 6 ч при 37°C. Вакцина была приготовлена с 12,5% эмульсигеном D, хранящимся при 4°C до времени введения. Свины 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 ИМ 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 18-20g× от 1 дюйма (2,54 см) до 1,5 дюймов (3,81 см) VACCUTAINER®, держатель иглы VACCUTAINER® и пробирки сывроточного 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 сывротку собирали в пятницу или субботу, то сывротку 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 сывротки хранили при -70°C и отправляли на сухом льду в Ames на следующий день отправки. В BIVI-Ames образцы сывротки отслеживали с помощью электронной системы управления Freezer-Works. Образцы сывротки в BIVI-Ames поддерживали при 2-8°C, если тестирование проводили в течение <48 ч 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°C, если тестирование проводили в течение <2 ч 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 группы на работу с животными в 1 и 2 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 сывротку абсорбировали из первичных клеток легких свиньи, чтобы уменьшить фон твердофазного ферментного анализа (ELISA). Пластины ELISA покрывали 300 нг концентрированного инактивированного пестивируса.

Абсорбированную тестируемую сывротку вакцинированных животных, животных плацебо, сывротки реконвалесцентного положительного контроля и сывротки наивных животных оценивали в двух повторах, данные представлены на фиг. 7. Все сывротки, 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 ме-

тодов.

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 (CDCD).

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% 1M NERES). Через семь дней после культивирования материалы подвергали 3 циклам замораживания/оттаивания, а затем инокулировали на свежие клетки, обеспечивая инфекцию вирусом, в течение 1 ч при 37°C, 5% CO₂ при покачивании. Через 1 ч 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 табл. 8.

Таблица 8

Организация эксперимента

Клеточный тип для пассажа вируса	Пассаж вируса	Значение кПЦР St 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 ч 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. табл. 8) до ~17, что свидетельствовало о приблизительно 10-кратном увеличении вирусного титра.

Инактивация вирусного урожая.

Супернатанты из 11 пассажа клеток SK6 объединяли и концентрировали ~10-кратно высокоскоростным центрифугированием до вирусного осадка. Вирусный осадок ресуспендировали в ~1/10^{вх} исходного объема инертном буфере (1× забуференный фосфатом физиологический раствор). Концентрированный вирус инактивировали с использованием циклического бинарного этиленмина (BEI) с конечной концентрацией 5 мМ в течение 6 ч и при постоянном перемешивании при 37°C. По завершении инактивации BEI инактивировали раствором тиосульфата натрия (17 об.%) при инкубации при 37°C в течение 15 мин. Инактивированный 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 компо-

зиях 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 taattggcgg cattatgtgt gggacatcct aaatatttat gagccctgcg      60
gtgagtgggg gaaagaggtt aaccaggcct ctagtaccac aggcaccaat ggacagggca      120
actcaaacct gagagagagg taccgaactc ttaagccccg agtacggggc agacgtcacc      180
gagtagtaca cccaagacc accacttcta ggtgtagggt ctactgaggc tcgggtggac      240
gtgggcgcgc ccaaagagaa atcgggtggtg gacctggggg tcggggccac catgcccctt      300
tacgggtag accttactgc ttgatagagt gccggcggat gcctcaggta agagtataaa      360
atccgttgtt cattaacatg gaaaaacaga ttgcatatta cttaaaaaa gaaaaacaaa      420
gaaatgggtg gacggaactg gtggtaggag aaagtcatac aaaaataacc acgctttctg      480
gaaagaccta tcgaggcacc tgggaaatgg agaaacggcc aaatccttat ggaacctatc      540
tccccagacc tagtcccaa cagcttacag ccctacacc ccaccagtg gtgaattgta      600
agggtggtga gtacaaggag atggacccta attatggtga ttgccaaat acgaacgggg      660
tgtttgtga cgaaaagggt agaaggctga gcagccctcc attaggcatt tggaaagataa      720
gattggacta tagtgacttg gtaaacataa gcagaccaac ccccgtagt gggaaaaact      780
cttaccaagt tgagacctgc agtggggagc tggctacagt gacactggtg cacaataggg      840

```

tgctcgtgga agattgcagg gggctatacc aatggaacc caactgtgaa ggaattgtgc	900
tctatgtgaa aacttgttct gactgggcag atcaggtaga aaaacaggag aaagaagcc	960
ccccaaaacc acagcgccca ccaaggcgag acccacgaaa agggttacaa ccacaagtcc	1020
ccaaagagac tgaggtcaca gaaaagaaga gacaacctag tgtcacctta gtatcggggg	1080
ggcagaaggc ccaagtcac tacaaaggca ggaccaaaa caaaaagacc ccgatgggag	1140
tctatagata cccaggagct aaagaagggg acgtagtaaa ggtcagggaag atgctgaaga	1200
atggcatat agccttagtg atgtacctga tacatatcat aactccaggc cttgccaaagg	1260
tccagtggtt cttaaaagat gaaaactcga cggggatcaa ccagatactg tggcaaagac	1320
agatcaacag atccttcat ggagaatggc ctaaccagat ctgccacggg atgcccaatg	1380
aaactatcac ggatgaggaa ttacgcagtc tgggaatggt agatacaagc cctagaacaa	1440
actacacctg ttgccagttg caatatcatg agtgggaagaa acatggttgg tgcaactatc	1500
cacaaaaaca ggcgtggatc acgaggataa cggccctaca agctaacctt accgggcctt	1560
atgaggggacc tgagtgccgc gtcactctcc gatttaacgg cagctacaac atcgtaaaa	1620
aggccagaga tgaggagaat ccaactgacag ggtgcaagga agggcatcct tttctattct	1680
ctggtgaaag atccgacacc tcatgcctaa ggccccctt cactagtgg gtaagaccag	1740
tgaaaatgga cgaggcatca atggccgatg cctttgccca tggggttgat aagcgataa	1800
tactaatcag gaagggggca tcaggaaata tcaatttctt agacactatt gggaggtggc	1860
taccgtagc tgaagcaact atagtacat attgtgatac ttacactgtg acagggatgt	1920
atgtccatgt aaagaattgc ctccctagag ggttacctaa gcattcaaaa ataactctcc	1980
cgacaatgat atactcggga gaaggagacc cggcccataa tatccagcac ttattggct	2040
caggatagc aaagtgggtc ctagtctac tcgggattct gggtgagtg tatggagaat	2100
tggcttcac aatataacta ctactagaat acgggtctga gtggtggaa catgaaagcc	2160
tggtcacgga agggttgatt cctggcatta atattacaat agaactccca gctagtata	2220
cagtgctgg ttgggtggtg gtcgacggc agtgggtatg cgtgaagcca gactgggtggc	2280
ctacacagat ttgattgaa accgtggtg cagagacctg gcataacta aaaatattgg	2340
gctcagccct ggtgaacata gttcagcgt tcgtaaacct ggaattggtt tatctggtca	2400
taatactagt caaaatatca aaagggaacc tgataggtgc catattatgg tgctgttac	2460
tgtcaggcgc tgaaggctcg tgctacaaaa gacaagacta ttacaacacc caactagtcg	2520
tcgaagaaaa aacagcgta gaaaaacgat ctataatggg caagtggacc gtgataacca	2580
gggaaggctg ggagccaaga ttaatggagc aaataaatat ggtattgaaat gatagcctgt	2640
cagaaaccta ctgctataat aggctaaca ccagcacttg gggcgggcaa ccggcaagac	2700
aaagagggtg tggcaaac gtgccctatt ggccctggtg caatgttcta gaagaacaat	2760
actacagcac aggttactgg tgaatgtaa caggcggttg ccagctgaga gaaggcgtat	2820
ggctatcaag aaagggtaac gtacagtgtc agcgtaacgg ctatcctttg atgctgcaat	2880
tggcgataaa agaagagaat gacactatgg aaatacatg tgaccagtg gaaactgaaa	2940
gtatgggtcc agttgcacag ggcacttgtg tgtacagctg ggcattcgc ccaagagggt	3000
ggtactataa caggaggat ggttattggc tccagtacat aaagaaaaac gactaccagt	3060
attggacaaa aatgcctact gcctcttccg ccgcaacct gtaccgccac ttgctccct	3120
tactggtggc ctgcctcatg ggcggtagga tctgggtg gtttgggca atgctcctgt	3180
ctctacaggt ggaagctagt gaagtaggca ctaacaact ggctgtcacg ctaaccctgt	3240
ggaaaatgga ctggacagaa ctacttttct atattgtctt gatgctagcc gttaaggaag	3300
aaactataaa aaaaattgtg accgctagcc ttgtgcctt aaaaaatagt ccagtagcct	3360
tgagttttct tattgtactc agacttggg ggggcagtga agcactccca gtaggtttat	3420
tattgaaaa aatgtgcata gaccaaccgg agtttgaac tcctttctg atctacctat	3480
gggacaactg gaagtgact gtgttagtca gcttctccg actgaacct gaaaaacta	3540
taaaactggc aagaaaactg ttgtggcaa cacatataac agcgtcaca ttgactggct	3600
tgagtattc aatcttctat atgatgctta taacaacaaa tttgttaata aagacattca	3660
tatacttgct gggggctagt atgaattggg tcgagagaga aaaaaagaaa ttgctagtga	3720
agaggagact aatatacaag aaagccgta cttgcagtca ggatgagaat gtattggaga	3780
ataaattcaa caagataact gtaaacccgg atttcacccc atgcaagctt gaactctac	3840
aattacttag gctttttta gtctctttgt gtttttcta ctacaaacct ctctgtatg	3900
cagagactac cttaactgta atagtaattg gcgtacaaga gtacaagta gccatggccc	3960

gcgggcgaag tgtggtccac aggtactag ccatggccta ttacatatac ggccgcatac 4020
 agggtgacat gttccagctc gccactatcc agtgcctgct gtcgagtcg agggaaaatta 4080
 tgaaacacat ggtagagaat ccaactctca agaagctctg ccaaggcgaa acagaactct 4140
 tcaaccaggg tgttagtcaa tccaagatag tgaatccaaa gaaaattggg ctggagaat 4200
 tacacaaggg catgtgtggc ctccaacag tagtgcaaaa tttggtcata tatgcaaga 4260
 agaatgactc tcttatttta ggagagctgg gttaccccc tgggatctc accagtgatg 4320
 ggtgggaaat tttaggtcct ggcaaatcc caaagatcac taacgtcgag tctgctaaga 4380
 tggacttact ctcaaaactt atgaccttc tggggattga aagctcgagg gtccccagga 4440
 cccagtccta ctcaacaagg aaattattga agatagtaag gggcttgaa acagatggg 4500
 ggtacactca cgcagggggg ataagtagcg caaacacgt tacaggtgaa aagaactaa 4560
 tgaccacat ggagggtagg aagggaat atactctaca atctcaagaa catgggtctg 4620
 acgaggtaga gtacggagta aaaactgat aaaaagctcc cgacaatgcc ttatgctact 4680
 gttttaacc tgaagctaca aacataaag gagagcggg agccatggtg ttcataaga 4740
 agataggaaa aaagtgact ctgtaacat cagacggcaa taaagcctat tataatgtaa 4800
 acaattgaa aggggtgtct ggactaccaa taatgctgca ctccaccggg gccatagtg 4860
 ggaggttaa atcagctat tcagatgaaa acgacctggt ggaggaactt attgactcta 4920
 gaactattag taagagcaat gagacaaacc tggaccacct tatcaaggaa ttggcagaca 4980
 tgcggagggg ggagttccgc tcaattacc ttggaacggg agcgggaaa accacagaac 5040
 tgcctaggca atacctaca acagtaggtg ccataaatc cgtgctggtc ttatgccct 5100
 taaaagcacc tctgaaagt gtttccgct ttatgagtc taaatacct accatcaact 5160
 tttccttaag agtgggggaa cggaaagagg gagatgtgag cagcggcatc acctacgcta 5220
 cttacggatt ttgctccag ctaaacctag tccaacttaa agaattgata tccaggctact 5280
 caatggtttt tttgatgaa tatcacacag caactccaga acaaatagcc ataataagca 5340
 agattcatgc actgaaagt aagaccagga tagtggctat gtcagcaacc cccccggta 5400
 ccgtgacgac tgaaggcagg aagtttgaca ttgaagaggt aggggttct accatagaga 5460
 aaggagagga accaaaaagg gggcgcatag cggctgctgg tatgcaggtc ccattagaag 5520
 acttaacagg aaagaactgc ctggtgttcg tggcaaccaa agaagccgc gagacggagg 5580
 ctaaagaact gcgcaccaga ggaattaac ccacctacta ctattcaggt atagacctta 5640
 agactctgga acatgggatg accaatcagc catactgtat ttagctacc aatgccattg 5700
 aatcaggtat aacctgtcct gacttggatg tggctataga caccatgag aagtacgaaa 5760
 aagtagttaa tttctcgca aagatgccct tgattgtcac ttcattagta aagaaaaaaa 5820
 tcaccagggg agaaccagggc cagaggaag gtcgagtgagg caggcaaaag aaaggaaaat 5880
 actactacc ctcgggggtg gtaccgaatg ggtcaaaaga cctaagctat ttaatcctac 5940
 agggccaaga atatggtgct ttggaacaag tcaatatac agagtactt atcataatga 6000
 atgaggactg gggctcttat gacgtagatg aagtagaagt gagaatactt gagagaatga 6060
 acaaggaaat cttgtacca ctaggattg tggagaagca aatcttggaa agaagtactc 6120
 accggaaaa agtggcactg ttgtataaca aattagtca gaaaaatcct atagtatacc 6180
 cttagtaca ggaaggtgag gtcagcaagg aatacaatac ctataatctg gccgtatatg 6240
 acaagctaaa agatgtcaac ccacaagca tttatgttct agcagaagag gagagagcca 6300
 cagaaatgat gggctctgag tttgaacaag acctatctga cttacaggat tccgtagttc 6360
 agctttgtga agatatcaag aggtatacaa aactctctgg gatcactgag aaactgctag 6420
 taggtacgat ggtgggtat attgataca aagcctaac cagaaccac gtgccctggg 6480
 tcagcaaga gtattgttat gagctgaccg attcaccgga tacttacgaa aactcattcg 6540
 caccttggga cgtcgacgtc caaaactcg gtaaggaaa acaccagag caactggcag 6600
 accatcaatt gaggcaacta ctggagactg ggagagacaa ggcaattgat ttcctaaaaag 6660
 gaatccgca gttcactagt gggccataa acagtccaaa ggcaactaagt atatgggaga 6720
 aaatatatca gtattgaaag aagcatcagg gcgagatcat ctcatcagca gcgtggggca 6780
 gtgcgacggc ccttcacgac agtattaat ctgactagg agatgaggtc gctactgag 6840
 taataatcct caagtattta gcatttgggtg aaagagaact gtctgggcta actaggcaag 6900
 ttctaattga catcatagta tattatag ttaacaagcc ccggttcgaa ggagacgact 6960
 acgcaagag aaaaagaga aggtagtca tcgaagtct gatggggca ctggcactt 7020
 atcggtgtc caatTTTTGG ggtgtgtcca ttaataagat actgcaacca atttctgatt 7080

atctacccta tgcaccgcc actttggctt ttcttcgcc aacctcatg gaatcagcag 7140
tgggtgctgc ttctctatc tatagagctt ttctctccat taagcatgcg gaaaacagga 7200
gtcttgtcac gcaggtgct tctccgcc tcgaagtcag gggcctgacc ccagtatcgg 7260
ctggcctagg cgtcttgctg gggcttgggt tgtgtgtgct ccatatgaac attgacaaga 7320
atgaggagaa aaggacactt atactgaaaa tgtttgtcaa aaactttata gaccaggcgg 7380
cactagacga gttggataaa ctggagccag aaaaaataat cctctcattg ttggagggta 7440
tccaaacctg cacaaacctg attagagcaa tcatgatttt gtacagggtg tactacaagg 7500
gagaaacttt cacagaagct ttgtctaaga tggccggcaa gtctctcatt gtgatggtca 7560
tagtcagatt cctggaattg acagccaaa cccaaggagg gtatatagat cttagtgcta 7620
atgtgtgac ctttctctc gagaaactaa aaaaaatgac taacctcgc atcggggaag 7680
ctagaaaggt cttgctccc atcccatact tgtactgtga aacctggcag tctgacgcca 7740
gaatcaaggc cctggaatcc tacgaccaag tggtagtggg atgcaaatgt ggcgcttcag 7800
cgaggatttc cttcccgat ggagttcatg agatattgga agaaaaagg actaattggt 7860
gcaagaactt cttcttatgg ggaccaact tccacaatcc ggatccaaa aggatgacat 7920
tctatgaata cggccaagca aaaaagtgc ctgttatcat aattggtgaa gacataacct 7980
tggcaataa tggcatatat atcaaatffg gccataggcc tgatggaggg aggttaataa 8040
ggggtaccac ccacgtact atcagtaggg aggaattgct ggaaatccta acagcccaa 8100
gccaaagggc cataggcaag gtcaagctaa ccgattactg taatcaaaa ggaataatag 8160
acaggaatg ggcgtactt gaagtgaca aaatacattt ttggaagca caccgtggat 8220
ccaaatcac agaccaactc actattgaga atctgacaga tgatttgggg tcagaaatca 8280
gggacatcac atgggagctg tacacagtg gaacgtcac cgtaaaaagg gtgtccctta 8340
gatcatgccc accagtcac agaactaagg ctatggtctt gtgtgattgc actgatgtgc 8400
ttagccccg ttacctaata aacggcagga gaccatcccc attgacgtc gcggaaggtt 8460
atgaatgta ccaccggaag ccccgagcga cgtatgaaga cctagaaatg gaggaatac 8520
taagagacg agtccctgct tacgatcctc tgtgtttggt tgacactgat agtaactgc 8580
tacctcccga cactactac ttggaagaag atcaagagga ctttgagtac gcattgagat 8640
gctggggcct cggggtttat gtacagacg ggctgtcac ttccccccg gacataagaa 8700
tacacatag ttcggtatta ctactgctga cacctggagt aaactcagag ttgccttac 8760
agtacatag ttgttacctc catcaggcag aggtggacat ctacattagg agtcagcttt 8820
tggaggagga agacactgct acggaggtgg aaggctccca ggaagatggt gatgaaggga 8880
tggcgatgc ggtaatagag gatgagata catcgtccac aacagaatca atacccccac 8940
tagaagagga ggaagggggc gaagagccaa tcacctatgt ggtcataagg ggattacaag 9000
aagaaagata gccagccat cttaaactaa atgactggat cagtgaaac atttcagagc 9060
cacacagag ccaaatatg ctatagggga cagtgagagt cacaataaaa gagggcaaaag 9120
tgaacattt gtttggggtc tatagaatag aaaactcctt ggaagcaatg ttaaaagaga 9180
ccatagctga cctccccgta gctaccaac cgccccagg ggcagctcat acggttaaag 9240
agctggccca agggaaacac gccctggllc aactltagc gaallalla ggaalgalag 9300
aggggagagg gcaccaatg acggcattcg aagccttacc agtcttgcgg tcacaaaaag 9360
tcttagccaa ggaactgaa gtgaacacc gcaggggcga ggttttttta aataaagtca 9420
ggagaattgc tgaggtcaga gcgtcgaac tgacattaaa atgcttacc atacttggca 9480
aagtaaatgg gaggaaattg attagagagg aaaccaacat ccccaaccaa aggttggcat 9540
caataatgac ctcaatagga attagactag aaaaactgcc agtggttaga gcaaacactt 9600
cggctctaa gttcagacag tcaatcttag aaaaaatgga taagtatgaa aatgaacaag 9660
tcccagggtt acatgaaaag atgtgggag cgttcctggc aactgccagg caagatttaa 9720
gaaataccta tgaggaaagta acttatcttg aattagaggc cggaatcaat cggaaaggag 9780
ccccagggtt ctttgaaaaa gaaagctcaa taggagaagt gctggaaaaa aaagaaaaa 9840
ttgactgac aatccaagag attgaaaaag gcaaccactt atactatgaa acagccatgc 9900
caaaaaatga gaaaagagat gtgcttgatg attggtgtc agaggatttc gtcacttata 9960
agaaaccacg tgtgatacag taccctgagg cagtcaccgg gttggccatc accaaaataa 10020
tgtataagtg ggtgaagcaa aagcctatag tgattcccgg ttatgaggga aaaacccgga 10080
tctttgaaat atttgaaaaa gtcagtgcaag attgggctca gttcaaaaat ccggtagccg 10140
tcagcttca caccagagcc tgggacactc aagtaacaag agaagacctc aggcctgtag 10200

036116

ggccgataca gaaatactat tacaaaaaa 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 aggtgttctc ctgttagctg catttgcaaa accccaaaaa attacagagg 10560
 gagcagcct aaagtaacc agcaactttg acggaataga gttttgtagt cataccccta 10620
 tcagagtcca aacaccaaac atcagggtga tgccagcgag accaacagca acaatcctag 10680
 gcaaaatgag taccaggctg ggtgagggtg ccaccaggtc gggagaagaa tacgaaaaac 10740
 aggtggcatt cgcatactca ctgatgtacc cctggaacc gctggtcagg agaatcagcc 10800
 tcctattgtt atcgactact gaccaatgg ggaagagga aaccccatgc tccgatgagg 10860
 gggatgaagta tgttggggac cctatcgctg catacagggg tgtatggggg cacaaattag 10920
 aggatgtagg ccatgttgat caaccgcagt tatcccggat gaactatagc atgacttact 10980
 tagggatttg gaaaccaaaag acaagtacgc ggctagtcga acagtgttgt cgtctggccg 11040
 agaaaaacaa ttgtgtgta cgtgctgact ccctgataaa gaaaaaggtc aagatcactt 11100
 atgaccgggg gataggagtg gctcaggtca ttcgtaggtg ggaagagctt gagtggacca 11160
 gaaggaaacc tgaactcacc aatgtaattg tagaagatga tatcttctca gtcctgtgga 11220
 agagatttcc aaagtacatt tttcagaaaa tgaagttcat gcagagaatg ttcgccctt 11280
 attaagtggg gggcactcat ttaaattata accagtatct ggtaagtata agatttgtgt 11340
 aaataaagta tataactgaa aggggcaagt ggccgtatag gctgggggta tcgccgcacc 11400
 ccccccttca ctaggcgctt caaccctatg taccatgggg ttgttgtaaa tacttgaatg 11460
 aatggagtaa tacgggtaac aaacttatag gccagtattg cccatttgc tttatagtgg 11520
 tgacgacctg tataggtccg 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

036116

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

036116

610 615 620
 Gln Trp Val Cys Val Lys Pro Asp Trp Trp Pro Thr Gln Ile Trp Ile
 625 630 635 640
 Glu Thr Val Val Ala Glu Thr Trp His Ile Leu Lys Ile Leu Ala Ser
 645 650 655
 Ala Leu Val Asn Ile Val Ala Ala Phe Val Asn Leu Glu Leu Val Tyr
 660 665 670
 Leu Val Ile Ile Leu Val Lys Ile Ser Lys Gly Asn Leu Ile Gly Ala
 675 680 685
 Ile Leu Trp Cys Leu Leu Leu Ser Gly Ala Glu Gly Ser Cys Tyr Lys
 690 695 700
 Arg Gln Asp Tyr Tyr Asn Thr Gln Leu Val Val Glu Glu Lys Thr Gly
 705 710 715 720
 Val Glu Lys Arg Ser Ile Met Gly Lys Trp Thr Val Ile Thr Arg Glu
 725 730 735
 Gly Arg Glu Pro Arg Leu Met Glu Gln Ile Asn Met Val Leu Asn Asp
 740 745 750
 Ser Leu Ser Glu Thr Tyr Cys Tyr Asn Arg Leu Asn Thr Ser Thr Trp
 755 760 765
 Gly Arg Gln Pro Ala Arg Gln Arg Gly Cys Gly Gln Thr Val Pro Tyr
 770 775 780
 Trp Pro Gly Asp Asn Val Leu Glu Glu Gln Tyr Tyr Ser Thr Gly Tyr
 785 790 795 800
 Trp Val Asn Val Thr Gly Gly Cys Gln Leu Arg Glu Gly Val Trp Leu
 805 810
 Ser Arg Lys Gly Asn Val Gln Cys Gln Arg Asn Gly Ser Ser Leu Met
 820 825 830
 Leu Gln Leu Ala Ile Lys Glu Glu Asn Asp Thr Met Glu Ile Pro Cys
 835 840 845
 Asp Pro Val Glu Thr Glu Ser Met Gly Pro Val Ala Gln Gly Thr Cys
 850 855 860
 Val Tyr Ser Trp Ala Phe Ala Pro Arg Gly Trp Tyr Tyr Asn Arg Lys
 865 870 875 880
 Asp Gly Tyr Trp Leu Gln Tyr Ile Lys Lys Asn Asp Tyr Gln Tyr Trp
 885 890 895
 Thr Lys Met Pro Thr Ala Ser Ser Ala Ala Thr Met Tyr Arg His Leu
 900 905 910
 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

036116

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 1375 1380
 Ser Ala Lys His Val Thr Gly Glu Lys Asn Leu Met Thr His Met
 1385 1390 1395
 Glu Gly Arg Lys Gly Lys Tyr Ile Leu Gln Ser Gln Glu His Gly
 1400 1405 1410
 Ala Asp Glu Val Glu Tyr Gly Val Lys Thr Asp Gln Lys Ala Pro

036116

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

036116

1805 1810 1815

Gln 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

036116

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

036116

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

036116

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

036116

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 aaagaaaaac aaagaaatgg gtggacggaa 60
ctgggtgtag gaaaaagtca taaaaaata accacgcttt ctggaaagac ctatcgaggc 120
acctgggaaa tggagaacg gccaaatcct tatggaacct atctcccag acctagtccc 180
caacagctta cagccctaca cccccacca gtggtgaatt gtaagggtgt tgagtacaag 240
gagatggacc ctaattatgg tgattgccca aatacgaacg ggggttttgt tgacgaaaag 300
ggtagaaggc tgagcagccc tccattaggc atttggaaaga taagattgga ctatagtgac 360
ttggtaaaca taagcagacc aacccccgct agtgggaaaa actcttacca agttgagacc 420
tgcagtgagg agctggctac agtgacactg gtacacaata ggggtgctctg ggaagattgc 480
agggggctat accaatggaa acccaactgt gaaggaattg tgctctatgt gaaaacttgt 540

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

036116

<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 gagaagaaga gcccccaaaa acccagcgg 60
 ccaccaaggc gagaccacg aaaaggggta caaccacaag tccccaaga gactgaggtc 120
 acagaaaaga agagacaacc tagtgtcacc ttagtatcgg gggggcagaa ggccaagt 180
 atctacaaag gcaggacca aaacaaaaag accccggatg gagtctatag ataccagga 240
 gctaaagaag gggacgtagt aaaggtcagg aagatgctga agaattggca tatagcctta 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

036116

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

<400> 7
 cttgccaaagg tccagtggtt cttaaaagat gaaaactcga cggggatcaa ccagatactg 60
 tggcaaagac agatcaacag atccttacat ggagaatggc ctaaccagat ctgccacggt 120
 atgcccaatg aaactatcac ggatgaggaa ttacgcagtc tgggaatggt agatacaagc 180
 cctagaacaa actacacctg ttgccagttg caatatcatg agtggagaagaa acatggttgg 240
 tgcaactatc cacaaaaaca ggcgtggatc acgaggataa cggccctaca agctaacctt 300
 accgggcctt atgagggacc tgagtgcgcc gtcattctgcc gatttaacgg cagctacaac 360
 atcgtaaaac aggccagaga tgaggtgagt ccaactgacag ggtgcaagga agggcatcct 420
 tttctattct ctggtgaaag atccgacacc tcatgcctaa ggcccccttc cactagtgtg 480
 gtaagaccag tgaanaatgga cgaggcatca atggccgatg gctttgccca tggggttgat 540
 aaggcgataa tactaatcag gaagggggca tcaggaataa tcaatttctt 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 gtgacaggga tgtatgtcca tgtaaagaat 60
 tgccctccta gagggttacc taagcattca aaaataatct ccccgacaat gatatatctg 120
 ggagaaggag acccgccca taatatccag cacttatttg gctcaggtat agcaaagtgg 180

036116

gtcctagttc tactcgggat tctgggtgag tggatggag aattggcttc cacaaatac 240
 ttactactag aatacgggtc tgagtggttg gaacatgaaa gcctgggtcac ggaagggttg 300
 attcctggca ttaatattac aatagaactc ccagctagtc atacagtgcc tggttgggtg 360
 tgggtcgcag gccagtggtg atgctggaag ccagactggt ggccctacaca gatttggatt 420
 gaaacctggg tggcagagac ctggcatata ctaaaaatat tggcgtcagc cctgggtgaac 480
 atagttgcag cgttcgtaaa cctggaattg gtttatctgg tcataatact agtcaaaata 540
 tcaaaaggga acctgatagg tgccatatta tgggtcttgt tactgtcagg cgctgaaggc 600

<210> 10
 <211> 200
 <212> БЛОК
 <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

tcgtgtcaca aaagacaaga ctattacaac acccaactag tcgtcgaaga aaaaacaggc 60
 gtgaaaaaac gatctataat gggcaagtgg accgtgataa ccagggaagg tcgggagcca 120
 agattaatgg agcaataaaa tatggtattg aatgatagcc tgtcagaaac ctactgctat 180
 aataggctaa acaccagcac ttggggcggg caaccggcaa gacaagagg gtgtggtcaa 240
 accgtgccct attggcctgg tgacaatggt ctagaagaac aatactacag cacaggttac 300
 tgggtgaatg taacaggcgg ttgccagctg agagaaggcg tatggctatc aagaaagggt 360
 aacgtacagt gtcagcgtaa cggctcatcc ttgatgctgc aattggcgat aaaagaagag 420
 aatgacacta tggaaatacc atgtgacca gtggaaactg aaagtatggg tccagttgca 480
 cagggcactt gtgtgtacag ctgggcattc gcccgaagag ggtgtgacta taacaggaag 540
 gatggttatt ggctccagta cataaagaaa aacgactacc agtattggac aaaaatgcct 600
 actgcctcgt ccgccgaac catgtaccgc cacttgctcc cttactggt ggctgcctc 660
 atgggcggtg gatatcggg ttggtttgtg gcaatgctcc tgtctctaca ggtggaagct 720

036116

agtgaagtag gcactaaca actggctgtc acgctaacc tgtggaaaat ggactggaca 780
 gaactacttt tctatattgt ctgtatgcta gccgtaagg aagaacttat aaaaaaatt 840
 gtgaccgcta gccttgtggc cttaaaaaat agtccagtag ccttgagttt tcttattgta 900
 ctacagacttg tggggggcag tgaagcactc ccagtagggtt tattattaga aaaaatgtgc 960
 atagaccaac cggagtttgg aactcctttc ctgatctacc tatgggacaa ctggaagtgg 1020
 actgtgttag tcagcttctc cgcactgaac catgaaaaa ctataaaact ggcaagaaaa 1080
 ctgttgttgg caacacatat aacagcctc 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

036116

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 ctctatatg atgcttataa caacaaattt gttaataaag 60
acattcatat acctgctggg ggctagatg aattgggtcg agagagaaaa aaagaaattg 120
ctagtgaaga ggagactaat atacaagaaa gccgttactt gcagtcagga tgagaatgta 180
ttggagaata aattcaacaa gataactgta aacgcggatt tcaccccatg caagcttgaa 240
cttctacaat tacttagggc ttttttagtc tctttgtgtt tttcctacta caaacctctc 300
ctgtatgacg agactacctt aactgtaata gtaattggcg tacaagagta caacgtagcc 360
atggcccgcg ggcaagtggt ggccacagg ctactagcca tggcctatta catatacggc 420
cgcatacagg gtgacatggt ccagctcacc actatccagt gcctgctgtc gagtccgagg 480
aaaattatga aacacatggt agagaatcca actctcaaga agctctggca aggcgaaaca 540
gaactctca accaggggtg tagtcaatcc aagatagtga atcacaagaa aattgggtcg 600
gaagaattac acaagggcat gtgtggcctc ccaacagtag tgcaaaattt ggtcatatat 660
gcaagaaga atgactctct tatttttagga gagctggggt acccccctgg ggatctcacc 720
agtgatgggt gggaaatttt aggtcctggc agaatcccaa agatcactaa cgtcaggtct 780
gctaagatgg acttactctc caaacttatg accttctgg ggattgaaag ctgaggggtc 840
cccaggacc cagtccactc aacaaggaaa ttattgaaag tagtaagggg cttggaaaaa 900
ggatgggggt acactcacgc aggggggata agtagcgcaa aacacgttac aggtgaaaag 960
aacctaatga cccacatgga gggtaggaag gggaaaatata tcctacaatc tcaagaacat 1020
ggctgctacg aggtagagta cggagtaaaa actgatcaaa aagctcccga caatgcctta 1080
tgctactgtt ttaaccctga agctacaaac ataaaaggag agacgggagc catggtgttc 1140
atgaagaaga taggaaaaaa gtggactctc gtaacatcag acggcaataa agcctattat 1200
aatgtaaca atttgaaagg gtggtctgga ctaccaataa tgctgcaact caccggggcc 1260
atagtgggga gggatgaatc 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 tgaagtgtt tgccgcttta tgaggtctaa ataccctacc 1560
atcaactttt ccttaagagt gggggaacgg aaagaggag atgtgagcag cggcatcacc 1620
tacgctactt acggattttg ctgccagcta aacctagtcc aacttaaaga atggatatcc 1680
aggtaactca tggttttttt tgatgaatat cacacagcaa ctccagaaca aatagccata 1740
ataagcaaga ttcatgcaact gaaagttaag accaggatag tggctatgtc agcaaccccc 1800
cgggtaccg tgacgactga aggcaggaag tttgacattg aagaggtagg ggttgctacc 1860
atagagaag gagaggaacc aaaaaggggg cgcatagcgg tcgctggtat gcaggccccca 1920
ttagaagact taacaggaaa gaactgcctg gtgttcgtgg caaccaaga agccgcggag 1980
acggaggcta aagaactgcg caccagagga ataacgcca cctactacta ttcaggata 2040
gaccctaaga ctctggaaca tgggatgacc aatcagccat actgtattgt agctaccaat 2100
gccattgaat caggataaac ctgtcctgac ttggatgtgg tcatagacac catgcagaag 2160
tacgaaaaag tagtgaattt ctggcaaaag atgcccttga ttgtcacttc attagtaaag 2220
aaaaaaaa caaggggaaga acagggccag aggaaaggtc gagtgggagc gcaaaaagaaa 2280
ggaaaatact actaccctc gggggtggtta ccgaatgggt caaaagacct aagctattta 2340
atcctacagg cccaagaata tgggtgtctt gaacaagtca atataacaga gtacttcac 2400
ataatgaatg aggactgggg tctctatgac gtagatgaag tagaagtgag aatacttgag 2460
agaatgaaca aggaaatctt gctaccacta ggtattgtgg agaagcaaat cttggaaga 2520

036116

agtactcacc cggaaaaagt ggcaactgttg tataacaat tagtcagaa 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 tatacaaac 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

036116

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
930

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

<400> 15
ggtcctggca gaatcccaaa gatcactaac gtcgagctcg ctaagatgga cttactctcc 60
aaacttatga ctttctggg gattgaaagc tcgagggtcc ccaggacccc agtccactca 120
acaaggaat tattgaagat agtaaggggc ttggaacag gatgggggta cactcacgca 180
ggggggataa gtagcgcaaa acacgttaca ggtgaaaaga acttaatgac ccacatggag 240
ggtaggaagg gaaaatata cctacaatct caagaacatg gtgctgacga ggtagagtac 300
ggagtaaaaa ctgatcaaaa agctcccgac aatgccttat gctactgttt taacctgaa 360
gctacaaca taaaggaga gacgggagcc atgggtttca tgaagaagat aggaaaaaag 420
tggactctcg taacatcaga cggcaataaa gcctattata atgtaacaa tttgaaaggg 480
tggcttgagc taccaataat gctgcactcc accggggcca tagtggggag gattaaatca 540
gcgtattcag atgaaaacga cctggtgag gaactattg actctagaac tattagtag 600
agcaatgaga caaacctgga ccacctatc aagggaattgg cagacatgcg gaggggggag 660
ttccgctcaa ttaccttg aacgggagcc gggaaaacca cagaactgcc taggcaatac 720
ctcacaacag taggtgcca taaatccgtg ctggcttag tcccctaaa agcacctgct 780
gaaagtgttt gccgcttat gaggtctaaa taccctacca tcaacttttc cttagagtg 840
ggggaacgga aagagggaga tgtgagcagc ggcatcacct acgctactta cggatttg 900
tgccagctaa acctagtcca acttaagaa tggatatcca ggtactcaat ggttttttt 960
gatgaatc acacagcaac tccagaacaa atagccataa taagcaagat tcatgcactg 1020
aaagttaaga ccagatagt ggctatgtca gcaaccccc cgggtaccgt gacgactgaa 1080
ggcaggaagt ttgacattga agaggtaggg gttgctacca tagagaaagg agaggaacca 1140
aaaagggg ccatagcggc cgctggtatg caggtcccat tagaagactt aacaggaag 1200
aactgcctgg tgttctggc aaccaagaa gccgcggaga cggaggctaa agaactg 1260
accagaggaa ttaacggcac ctactactat tcaggatatag accctaagac tctggaacat 1320
gggatgacca atcagccata ctgtattgta gctaccaatg ccattgaatc aggtataacc 1380
tgtcctgact tggatgtgg catagacacc atgcagaagt acgaaaaagt agtgaatttc 1440
tcggcaaga tgcccttgat tgtcacttca ttagtaaaaga aaaaaatcac cagggaagaa 1500
caggccaga gaaaaggctg agtgggcagg caaaagaag gaaaatacta ctaccctcg 1560

036116

ggggtggtac cgaatgggtc aaaagaccta agctatttaa tcctacaggc ccaagaatat 1620
 ggtgtctttgg aacaagtcaa tataacagag tacttcatca taatgaatga ggactggggt 1680
 ctctatgacg tagatgaagt agaagtgaga atacttgaga gaatgaacaa ggaaatcttg 1740
 ctaccactag gtattgtgga gaagcaaatc ttggaagaa gtactcacc ggaaaaagtg 1800
 gcactgttgt ataacaatt agtcagaaa aatcctatag tataccctag agtacaggaa 1860
 ggtgagggtca gcaaggaata caatacctat aatctggccg tatatgacaa gctaaaagat 1920
 gtcaaccacc aagccattta tgttctagca gaagaggaga gagccacaga aatgatgggt 1980
 ctcgagtttg aacaagacc 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

036116

ccgatactt acgaaaactc attcgacact ttggacgtcg acgtcaaaa ctccgggtgaa 180
 gaaaaacacc cagagcaact 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 ataacagtc caaaggcact aagtatatgg 120
 gaaaaaata atcagtatatt gaagaagcat cagggcgaga tcattctatc agcagcgtgg 180
 ggcaagtgcga cggcccttca cgacagtatt aaatctagac taggagatga ggtcgtact 240
 gcagtaataa tcctcaagta tttagcattt ggtgaaagag aactgtctgg gctaactagg 300
 caagttctaa ttgacatcat agtatattat atagttaaca agccccggtt cgaaggagac 360
 gactacgcaa agagaaaagg aagaaggcta gtcacgaag tcctgatggg ggcactggcg 420
 acttatgcgg tgtccaattt ttgggggtg tccattaata agatactgca accaatttct 480
 gattatctac cctatgccac cgccactttg gcttttcttc gcccaacctt catggaatca 540
 gcagtggtgg tcgcttctc tatctataga gcttttctct ccattaagca tgcggaaac 600
 aggagctttg tcacgcaggt cgcttctgcc cccctcgaag tcatggcctt gacccagta 660
 tcggctggcc taggcgtctt gctggggcct gggttgtgtg tgctccatat gaacattgac 720
 aagaatgagg agaaaaggac acttatactg aaaaagtgtt tcaaaaactt tatagaccag 780
 gcggcactag acgagttgga taaactggag ccagaaaaaa taatcctctc attgttgagg 840
 ggatccaaa cctgcacaaa cccgattaga gcaatcatga tttgtacag ggtgtactac 900
 aaggagaaaa ctttcacaga agctttgtct aagatggccg gcaagtctct cattgtgatg 960
 gtcatagtcg agttcctgga attgacaggc caaacccaag gagggatat agatcttagt 1020
 gctaatttgc tgaccttct cctcgagaaa ctaaaaaaa tgactaacct cgccatcggg 1080
 gaagctagaa aggtcttgct cccatccca tacttgact gtgaaacctg gcagctgac 1140
 gccagaatca aggccctga atcctacgac caagtgttag tggaaatgcaa atgtggcgt 1200
 tcagcgaggt attccttccg cgatggagtt catgagatat tggaaagaaa aaggactaat 1260
 ttgtgcaaga acttcttctt atggggaccc aacttcaca atcgggatcc aaaaaggatg 1320
 acattctatg aatacggcca agcaaaaaag tgcctgtta tcataattgg tgaagacata 1380
 accttcggca aatatggcat atatatcaaa tttggccata ggctgatgg agggaggtta 1440
 ataaggggta ccaccacgc tactatcagt agggaggaat tgctgaaat cctaacagcc 1500
 ccaagccaag tggccatagg caaggtcaag ctaaccgatt actgtaatca aaaaggaata 1560
 atagacagga aattggcctt acttgaaggt gacaaaatac attttggaa agcacaccgt 1620
 ggatccaaaa tcacagacca actcactatt gagaatctga cagatgattt ggggtcagaa 1680
 atcagggaca tcacatggga gctgtacaca ggtggaactg gcaccgtaa aggggtgtcc 1740
 cttagatcat gcgcaccagg tcatagaact aaggctatgg tcttgtgtga ttgactgat 1800
 gtgcttagcc cctgttacct aataaacggc aggagaccat cccatttga cgtcgggaa 1860
 ggttatgaat gtcaccaccg gaagccccga gcgacgtatg aagacctaga aatggaggaa 1920
 atactaaaga gacgagtccc tgtctacgat cctctgtgtt tgtttgacac tgatagtaaa 1980

036116

ctgctacctc cgcacaccta ctacttgaa gaagatcaag aggacttga gtacgattg 2040
 agatgctggg gcctcggggg ttatgtagca gacggcctg tcaactcccc cccggacata 2100
 agaatacacc atagttcggg attactactg ctgacacctg gagtaaacct agagttgccc 2160
 ttacagtaca tacgttgta ccctcatcag gcagaggtgg acatctacat taggagtcag 2220
 cttttggagg aggaagacac tgctacggag gtggaaggct cccaggaaga tggatgatgaa 2280
 gggatgggag atcggtaat agaggatgag gatacatcgt ccacaacaga atcaataccc 2340
 ccactagaag aggaggaagg gggcgaagag ccaatcacct atgtggtcat 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

036116

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

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

036116

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 gtgaacatt tgtttggggt ctatagaata 120
 gaaaactccc tggaagcaat gtttaaagag accatagctg acctccccgt agctacccaa 180
 ccgccccagg ggccagtcta tacggctaaa gagctggccc aagggaacat cgcctccgctc 240
 caacctgcag cgaattatta cggaatgata gaggggagag gcgaccaat gacggcattc 300
 gaagccttat cagtcttgcg gtcacaaaa gtcttagcca aggacgtgaa ggtgaacacc 360
 cgcagggcgc aggttttttt aaataaagtc aggagaattg ctgaggctcag agcgtcggaa 420
 ctgacattaa aatgcttacc gatacttggc aaagtaaat ggaggaaatt gattagagag 480
 gaaaccaaca tccccacca aaggttggca tcaataatga cctcaatagg aattagacta 540
 gaaaaactgc cagtggttag agcaaacact tccggctcta agttcagaca gtcaatctta 600
 gaaaaaatgg ataagtatga aatgaacaa gtcccagggt tacatgaaaa gatgtgggca 660
 gcgttctctgg caactgccag gcaagattta agaataacct atgagggaagt aacttatctt 720
 gaattagagg ccggaatcaa tcggaagga gccccagggt tctttgaaaa agaaagctca 780
 ataggagaag tgctggaaaa aaaagaaaa attgacgtca caatccaaga gattgaaaaa 840
 ggcaaccact tatactatga aacagccatg ccaaaaaatg agaaaagaga tgtgcttgat 900
 gattggtgtg cagaggattt cgtcacttat aagaaccac gtgtgataca gtaccctgag 960
 gcagtcacc ggttgccat caccaaaata atgtataagt gggatgaagca aaagcctata 1020
 gtgattcccg gttatgaggg aaaaacccc atctttgaaa tatttgaaaa agtcagtgca 1080
 gattgggctc agttcaaaaa tccggtagcc gtcagcttgc acaccagagc ctgggacact 1140
 caagtaacaa gagaagacct caggctggtg gggcgggatac agaaatacta ttcaaaaaa 1200
 aaatattgga agttcattga caatttgaca gccatgatgg aggaagtgcc tgtaatcact 1260
 gtagaaggag atatgttctt cagagttgga cagcgggat ccggacagcc tgatacctca 1320
 gcaggcaatt ccatgctaaa tgtgctgact atgttgtag ctttctctga atccacaaat 1380
 ctgcccatag cggctcctg gaaggcctgt cggatccacg tctgtggtga cgacggtttc 1440
 ttaatcacag aatcggaatt agggaggaag tttgctgaaa aaggtgttcc tctgttagct 1500
 gcatttgga aaccccaaaa aattacagag ggagcgagcc taaaggtaac cagcaacttt 1560
 gacggaatag agttttgtag tcataccctc atcagagtcc aaacacaaa catcaggtgg 1620
 atgccagcga gaccaacagc aacaatccta ggcaaatga gtaccaggct gggtaggggt 1680
 gccaccaggt cgggagaaga atacgaaaa cagggtgcat tcgcatatct actgatgtac 1740
 ccctggaacc cgtggtcag gagaatcagc ctctattgt tatcgactac tgaccaatg 1800
 gggaaagagg aaaccccatg ctccgatgag ggggtgaagt atgttgggga ccctatcgtc 1860
 gcatacaggg atgtatgggg gcacaaatta gaggatgtag gccatgttga tcaaccgag 1920
 ttatcccga tgaactatag catgacttac ttagggattt ggaaacaaa gacaagtcag 1980
 cggctagtcg aacagtgtg tcgtctggcc gagaaaagca attgtgtggt acgtgctgac 2040
 tccctgataa agaaaaaggt caagatcact tatgaccggg ggataggagt ggctcaggtc 2100
 attcgtaggt gggagagct tgagtggacc agaaggaac ctgaactcac caatgtaatt 2160
 gtagaagatg atatcttctt agtctgtgg aagagatttt caaagtacat ttttcagaaa 2220
 atgaagtca tcagagaat gttgccctt tattaa 2256

036116

<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


```

<211> 19
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> лабораторно-синтезированная последовательность ДНК

<400> 24
tcattccatg ttccagagt 19

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

<220>
<223> лабораторно-синтезированная последовательность ДНК

<400> 25
cctccgtctc gcggccttg g 21

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

<220>
<223> лабораторно-синтезированная последовательность ДНК

<400> 26
aacaggaag aactgcctgg tattcgtggc aaccaagaa gccgcggaga cggaggctaa 60
agaactgcgc accagaggaa ttaacgccac ctattcaggt atagacccta agactctgga 120
acatgggatg accaatcagc cat 143

```

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция для защиты поросят от заболевания, связанного с пестивирусом, содержащая инактивированный пестивирус, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 1.

2. Композиция для защиты поросят от заболевания, связанного с пестивирусом, 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 этиленимина, этиленимина, ацетилметиленимина, β-этиленимина, β-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, γ-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 адьювант.

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

8. Композиция для защиты поросят от заболевания, связанного с пестивирусом, содержащая аттенуированный пестивирус, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 1.

9. Композиция для защиты поросят от заболевания, связанного с пестивирусом, 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 адьювант.

12. Композиция по п.11, где адьювант представляет собой адьювант 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 для защиты поросят от заболевания, связанного с пестивирусом, 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 для защиты поросят от заболевания, связанного с пестивирусом, 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. Композиция по любому из пп.1-17, где заболевание характеризуется врожденным тремором.

19. Способ защиты поросят от заболевания, связанного с пестивирусом, включающий введение беременной свиноматке или молодой свинье, свиноматке или молодой свинье перед размножением композиции по пп.1, 2, 8, 9, 14 или 15 в количестве, достаточном для защиты поросят.

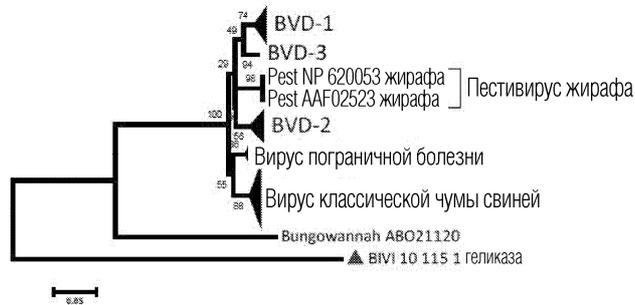
20. Способ по п.19, где заболевание характеризуется врожденным тремором.

21. Способ по п.19, в котором способ включает введение композиции беременной свиноматке или молодой свинье.

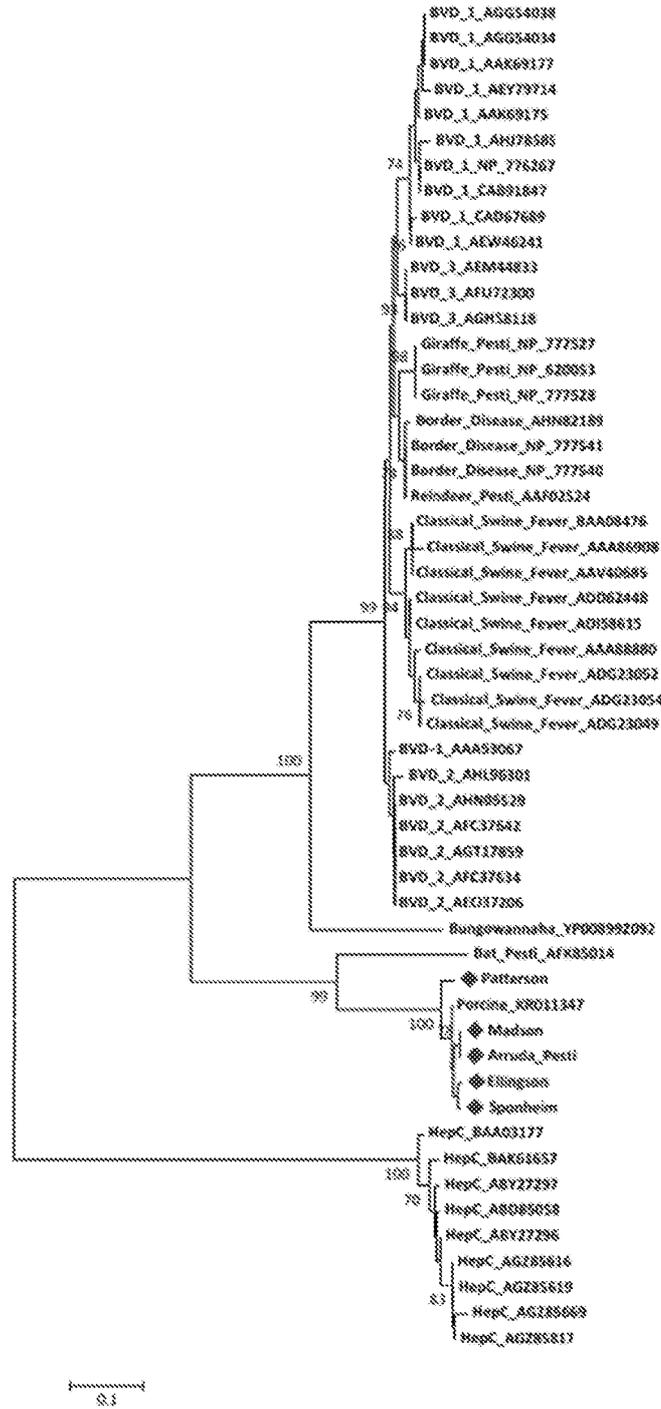
22. Способ по п.19, где способ включает введение композиции свиноматке или молодой свинье до размножения.

23. Способ по п.19, где способ включает введение композиции свиноматке или молодой свинье внутримышечно.

24. Способ по п.19, где введение представляет собой первое введение, и где способ дополнительно включает второе введение через одну-три недели после первого введения.



Фиг. 1



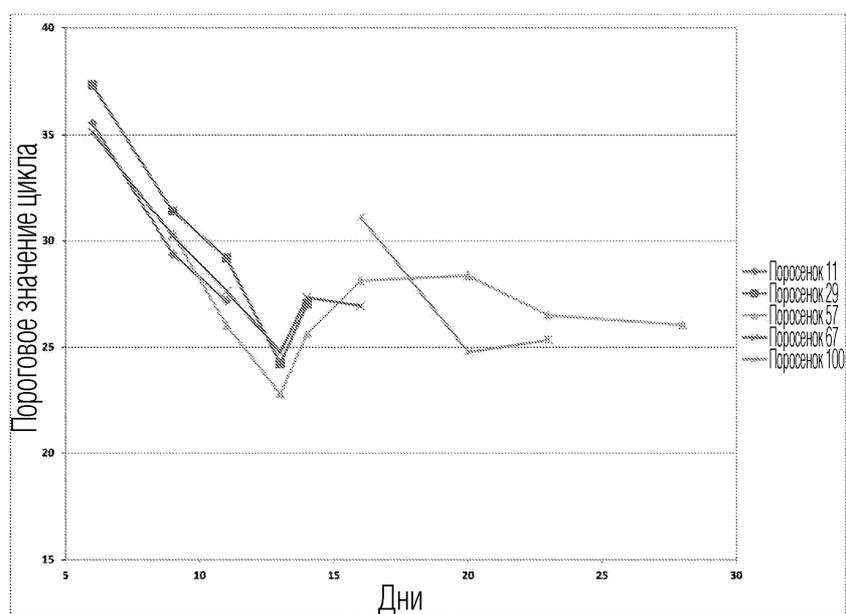
Фиг. 2

Идентичность по аминокислотам

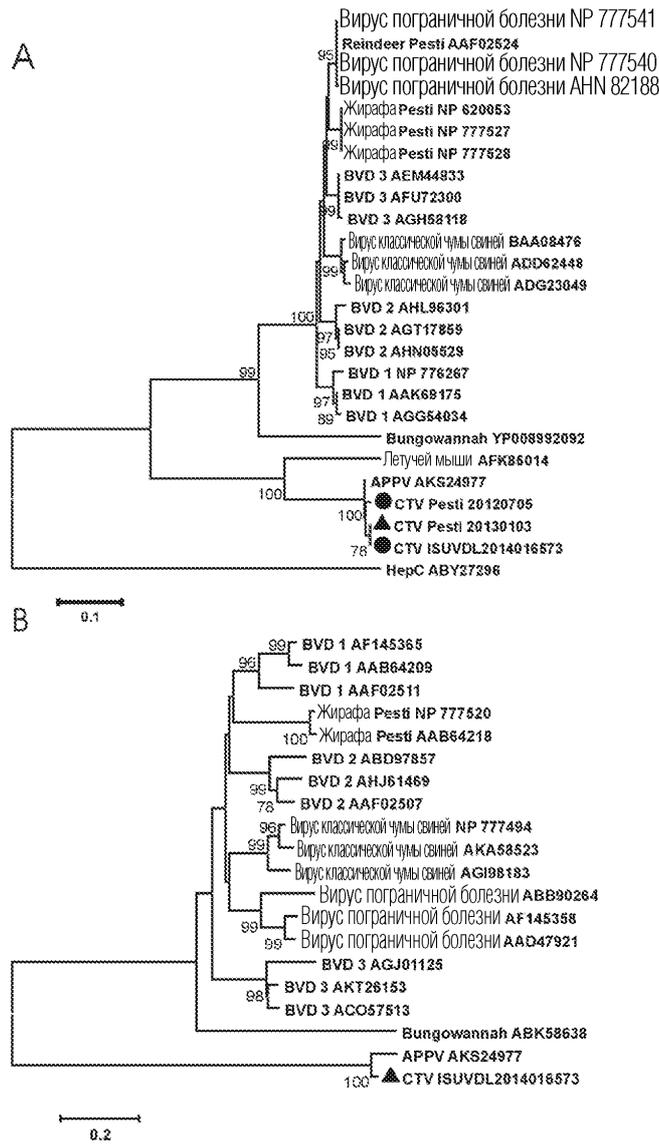
	Patterson	Sponheim	Madson	Ellingson	Arruda
Patterson		95.6%	95.1%	98.3%	95.6%
Sponheim	93.9%		98.3%	97.1%	98.6%
Madson	83.7%	89.2%		95.9%	100%
Ellingson	98.5%	93.4%	88.7%		97.5%
Arruda	88.1%	88.1%	99.1%	88.9	

Идентичность по нуклеотидам

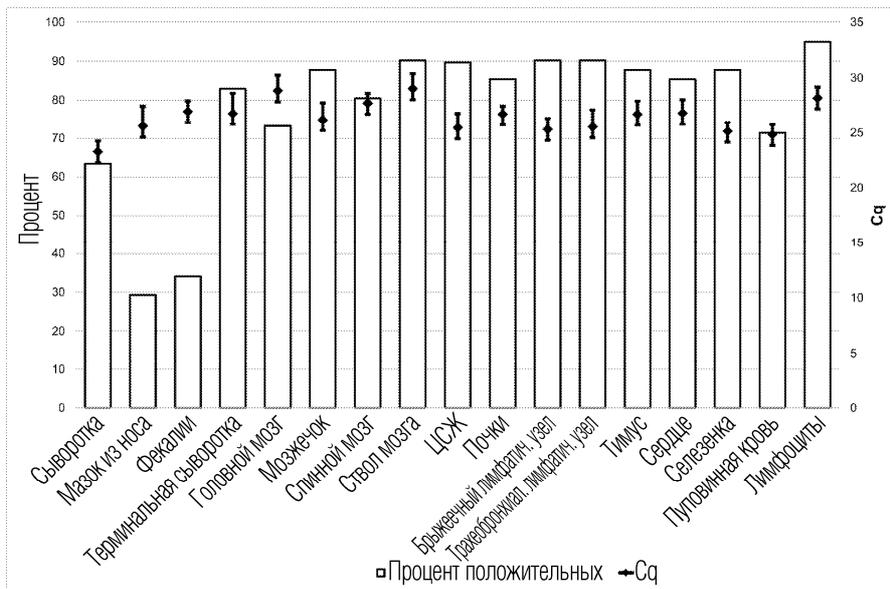
Фиг. 3



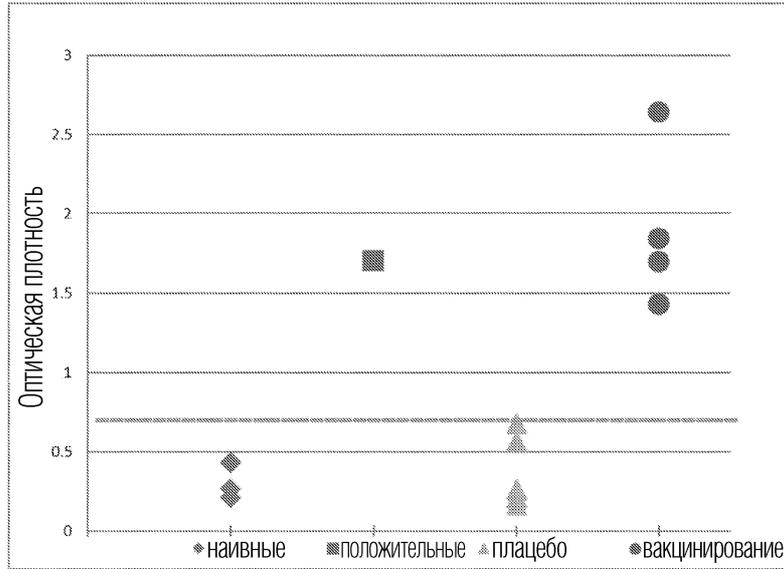
Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7

