

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **045363**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.11.20

(51) Int. Cl. **A61K 39/23** (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(21) Номер заявки
201991065

(22) Дата подачи заявки
2017.11.02

(54) **ВАКЦИНА ПРОТИВ СВИНОГО ПАРВОВИРУСА**(31) **16197091.8**(32) **2016.11.03**(33) **EP**(43) **2019.11.29**(86) **PCT/EP2017/078015**(87) **WO 2018/083154 2018.05.11**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ
ВЕТМЕДИКА ГМБХ (DE)**

(72) Изобретатель:
**Вон Эрик Мартин, Баклин Скотт
Юджин, Кайзер Трой Джеймс, Кролл
Джерми, Атли Филип (US)**

(74) Представитель:
**Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)**

(56) EP-A1-0551449
DANIEL CADAR ET AL.: "Phylogeny
and evolutionary genetics of porcine parvovirus
in wild boars", INFECTION, GENETICS
AND EVOLUTION, vol. 12, no. 6, 1
August 2012 (2012-08-01), pages 1163-1171,
XP055352626, NL ISSN: 1567-1348, DOI:
10.1016/j.meegid.2012.04.020 pg 1163-1164. &

DATABASE UniProt [Online] 6 December 2005
(2005-12-06), "SubName: Full=Capsid protein
2 {ECO:0000313|EMBL:ADP88736.1}; SubName:
Full=VP2 {ECO:0000313|EMBL:AAV92679.1};
SubName: Full=Viral protein 2
{ECO:0000313|EMBL:AGJ73889.1}"; retrieved
from EBI accession no. UNIPROT:Q32Z58, Database
accession no. Q32Z58, sequence

A. F. STRECK ET AL.: "High rate of viral
evolution in the capsid protein of porcine parvovirus",
JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY., vol.
92, no. 11, 27 July 2011 (2011-07-27), pages
2628-2636, XP055352720, GB ISSN: 0022-1317,
DOI: 10.1099/vir.0.033662-0, the whole document
WO-A1-8802026

MARTINEZ C. ET AL.: "Production of
porcine parvovirus empty capsids with high
immunogenic activity", VACCINE, ELSEVIER,
AMSTERDAM, NL, vol. 10, no. 10, 1 January 1992
(1992-01-01), pages 684-690, XP023710580, ISSN:
0264-410X, DOI: 10.1016/0264-410X(92)90090-7
[retrieved on 1992-01-01], abstract, page 684-685,
688-689.

Y. XU ET AL.: "Induction of Immune
Responses in Mice after Intra-gastric Administration
of Lactobacillus casei Producing Porcine Parvovirus
VP2 Protein", APPLIED AND ENVIRONMENTAL
MICROBIOLOGY, vol. 73, no. 21, 1 November 2007
(2007-11-01), pages 7041-7047, XP055352263, US
ISSN: 0099-2240, DOI: 10.1128/AEM.00436-07, the
whole document

(57) Изобретение касается, в числе прочего, вирусного белка 2 (VP2) свиного парвовируса (PPV), имеющего в аминокислотной позиции 228 глутаминовокислотный остаток или глутаматный остаток, и/или в аминокислотной позиции 414 сериновый остаток, и/или в аминокислотной позиции 419 глутаминовый остаток, и/или в аминокислотной позиции 436 треониновый остаток. Кроме того, настоящее изобретение касается иммуногенных композиций, включающих вирусный белок 2 (VP2) свиного парвовируса (PPV). Кроме того, настоящее изобретение касается способов иммунизации субъекта, включающих введение такому субъекту иммуногенной композиции согласно настоящему изобретению. Кроме того, настоящее изобретение касается способов лечения или предотвращения клинических признаков вызываемых инфекцией PPV, у субъекта, который в этом нуждается, причем способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества иммуногенной композиции согласно настоящему изобретению.

B1**045363****045363 B1**

Список последовательностей

Заявка на настоящий патент содержит перечень последовательностей в соответствии со Сводом федеральных правил 37 С.F.R. 1.821-1.825. Таким образом, список последовательностей, прилагаемый к настоящей заявке, включен путем ссылки в его полном объеме.

Уровень техники

Свиной парвовирус представляет собой автономный реплицирующийся вирус семейства Parvovirinae рода *Protoparvovirus* в пределах семейства Parvoviridae, содержащий молекулу однонитевой ДНК из приблизительно 5100 нуклеотидов (Cotmore et al., 2014: Arch Virol.: 159(5): 1239-1247; Molitor et al., 1984: Virology: 137(2): 241-54). Только минус-цепь ДНК является упакованной в вирионы. Геном вируса кодирует три капсидных белка (VP1, VP2, VP3) и один неструктурный белок (NS1). Капсид парвовируса имеет диаметр приблизительно 22-25 нанометров состоит из субъединиц VP1 и VP2. Эти белки происходят от поочередно сплайсированных вариантов одной и той же молекулы РНК и, таким образом, частично перекрываются в последовательности. Кроме того, свиной парвовирус демонстрирует высокий уровень подобия последовательностей с вирусом панлейкопении кошек, парвовирусом собак и парвовирусом грызунов (Ranz et al., 1989: J. gen. Virol: 70: 2541-2553).

Хотя существуют различия в штаммах свиного парвовируса, некоторые являются крайне патогенными, другие - менее патогенными или совсем непатогенными, когда вирус упрочищается или становится эндемичным в данной стране, оказывается, что патогенные штаммы распространяются среди популяции.

Инфекция свиного парвовируса (PPV) является распространенной причиной репродуктивной недостаточности при разведении свиней во всем мире. Серологические исследования демонстрируют, что свиной парвовирус распространен во всех свиноводческих регионах мира, причем до 80% животных демонстрируют сероконверсию.

Свиной парвовирус (PPV) вызывает репродуктивную недостаточность у свиней, приводящей к смерти и внутриутробной мумификации, мертворождению и другим проявлениям репродуктивной недостаточности у беременных свиноматок. (Joo & Johnson. 1976. Veterinary Bulletin 46, 653-660; Mengeling. 1978. J. Am. Vet. Med. Assoc. 172, 1291-1294).

PPV вызывает репродуктивную недостаточность, когда восприимчивые (неиммунные) свиньи и свиноматки инфицируются во время беременности. Это единственное время, когда вирус вызывает заболевание. Инфицирование свиней происходит вследствие потребления вируса с пищей или его вдыхания. Затем PPV циркулирует в системе кровообращения, а у беременных свиней проникает сквозь плаценту и инфицирует развивающиеся эмбрионы и плоды. После природного инфицирования развивается активный иммунитет, который может длиться в течение всей жизни свиньи. При приобретении активного иммунитета до беременности развивающиеся поросята не подвергаются опасности. При рождении поросята приобретают материнский иммунитет в молозиве свиноматки, и этот материнский иммунитет сохраняется до 20-недельного возраста. Чем выше уровень активного иммунитета у свиноматки, тем больше материнского иммунитета переходит к ее поросятам. Впоследствии может происходить естественная инфекция PPV.

Заболевание, вызываемое PPV у поросят, часто называется SMEDI (аббревиатура для мертворождения, мумификации, смерти эмбриона и бесплодия). Если инфицирование происходит на 0-30 дни беременности, это может привести к эмбриональной смертности, в результате чего уменьшается размер помета. Наиболее явной особенностью, возникающей вследствие инфекции на 30-70 дни беременности, является рождение мумифицированных поросят. Мумификация представляет собой процесс стерильного расщепления тканей поросят, погибающих в матке после начала отвердения скелета. Инфицирование PPV также связано с мертворождением и рождением слабых поросят, если инфицирование происходит на поздних стадиях беременности. Выкидыш также может быть результатом инфицирования PPV, однако он не является распространенным клиническим признаком этого заболевания. В целом инфекция PPV снижает количество поросят, рождаемых одной свиноматкой в год.

Имеющиеся в настоящее время вакцины против PPV производят путем выращивания нативного вируса на первичных клетках свиного происхождения или в устойчивых клеточных линиях. После этого инфекционный вирус выделяют и инактивируют химическими агентами для получения в итоге цельноклеточной убитой противовирусной вакцины. Однако такие процессы выращивания нативного инфекционного вируса проблематичны с точки зрения биоазащиты и безопасности. Таким образом, существует потребность в рекомбинантных вакцинах PPV.

Субъединичные вакцины на основе рекомбинантных белков могут иметь слабую иммуногенность из-за неправильного складывания белка-мишени или ненадлежащего представления перед иммунной системой. Кроме того, цельноклеточные убитые вакцины представляют все антигены нативного вируса, тогда как в субъединичной вакцине существует ограничение конкретной аминокислотной последовательностью.

Рекомбинантные вакцины против PPV уже описывались в источниках существующего уровня техники, однако до настоящего времени лишь цельноклеточные убитые вакцины выпускаются серийно. Таким образом, похоже, что до сих пор не были разработаны оптимальные рекомбинантные субъединичные вакцины против PPV, которые проявили бы свою эффективность и безопасность. Описанные на дан-

ный момент рекомбинантные субъединичные вакцины против PPV не испытывались и не контролировались в экспериментах с лабораторным заражением. Рекомбинантные субъединичные вакцины против PPV, прошедшие оценку, не действовали так же, как цельноклеточные вакцины против PPV, или рекомбинантные субъединичные вакцины против PPV не были безопасными (демонстрировали неблагоприятные реакции). Таким образом, сохраняется потребность в рекомбинантных субъединичных вакцинах PPV, которые были бы высокоэффективными и безопасными.

Были идентифицированы полевые изоляты свиного парвовируса (PPV), которые генетически и антигенно отличаются от вакцинных штаммов. Вирус PPV генотипа 2, PPV-27a, является высоковирулентным у беременных свиней после провокационного инфицирования, что было продемонстрировано через высокую смертность среди плодов свиноматок, инфицированных PPV-27a (85%), по сравнению со свиноматками, инфицированными другими штаммами PPV, например, PPV-NADL-2. Однако имеющиеся в данное время серийно выпускаемые вакцины против PPV получают на основе инактивированных цельновирусных препаратов штаммов PPV генотипа 1, выделенных около 30 лет назад (Jozwik et al 2009; Journal of General Virology; 90; 2437-2441). Таким образом, существует потребность в новых вакцинах, защищающих от новых высоковирулентных патогенных штаммов PPV, которые бы более соответствовали PPV в данной области.

Другими источниками существующего уровня техники являются следующие.

В документе EP 0 551 449 A1 раскрывается способ получения субъединичной вакцины VP2 против свиного парвовируса.

В публикации Cadar D et al. (Infection, Genetics and Evolution 2012, 12: 1163-1171) описывается филогенез и эволюционная генетика свиного парвовируса у диких свиней.

В публикации Streck AF et al. (Journal of General Virology 2011, 92: 2628-2636) описывается высокая скорость вирусной эволюции в капсидном белке свиного парвовируса.

Документ WO 88/02026 касается пустых вирусных капсидных вакцин.

В публикации Martinez C et al. (Vaccine 1992, 10(10): 684-690) раскрывается производство пустых капсид свиного парвовируса с высокой иммуногенной активностью.

В публикации Xu F et al. (Applied and Environmental Microbiology 2007, 73(21): 7041-7047) описывается индукция иммунного ответа у мышей после внутрижелудочного введения бактерии *Lactobacillus casei*, вырабатывающей белок свиного парвовируса VP2.

Более того, существует потребность в новых и улучшенных вакцинах против крайне патогенных штаммов PPV, которые обеспечивали бы более широкую защиту против различных (гетерологичных) штаммов PPV (перекрестную защиту).

Подробное описание изобретения

Перед описанием аспектов настоящего изобретения следует заметить, что применяемые в описании и прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа также охватывают ссылки на множественное число, если контекст прямо не указывает на иное. Таким образом, например, ссылка на "антиген" включает множество антигенов, ссылка на вирус "вирус" является ссылкой на один или несколько вирусов и их эквивалентов, известных специалистам в данной области, и так далее. Если нет другого определения, все применяемые авторами технические и научные термины имеют значения в общепринятом понимании среди специалистов в области, к которой относится настоящее изобретение. Хотя при практическом воплощении или испытании настоящего изобретения могут применяться любые способы и материалы, подобные описываемым авторами или эквивалентные им, здесь описываются предпочтительные способы, устройства и материалы. Все упомянутые авторами публикации включаются в данное описание путем ссылки с целью описания и раскрытия клеточных линий, векторов и методологий, о которых сообщается в публикациях, которые могут использоваться в связи с изобретением. Ни одно из положений данного описания не следует истолковывать как признание того, что изобретение не имеет права на противопоставление такого раскрытия в силу наличия более раннего изобретения.

Настоящее изобретение позволяет разрешить проблемы, характерные для существующего уровня техники, и обеспечивает явный прогресс относительно существующего уровня техники. В целом настоящее изобретение обеспечивает вирусный белок 2 (VP2) свиного парвовируса (PPV), имеющий:

в аминокислотной позиции 228 глутаминовокислотный остаток или глутаматный остаток; и/или

в аминокислотной позиции 414 сериновый остаток, и/или в аминокислотной позиции 419 глутаминовый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 436 треониновый остаток; причем нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности дикого типа PPV VP2.

Преимущество состоит в том, что экспериментальные данные, обеспечиваемые настоящим изобретением, обнаруживают, что субъединичная вакцина против PPV VP2 в соответствии с настоящим изобретением является безопасной и эффективной для профилактики виремии и инфицирования плода PPV. Кроме того, экспериментальные данные, обеспечиваемые настоящим изобретением, обнаруживают, что вакцина в соответствии с настоящим изобретением обладает широким спектром защиты, поскольку вакцина защищает от гетерологичных североамериканских, а также гетерологичных европейских штаммов PPV для провокационного заражения.

Преимущество состоит в том, что экспериментальные данные, обеспечиваемые настоящим изобретением, обнаруживают, что субъединичная вакцина против PPV VP2 в соответствии с настоящим изобретением является столь же эффективной, как и цельный убитый вирус, и этот эффект был получен неожиданно. Однако масштабных процессов инактивации (которые необходимы для инактивации нативных PPV при получении вакцин на основе цельных убитых вирусов) можно избежать путем применения рекомбинантной субъединичной вакцины, состоящей из PPV VP2.

Термин "свиной парвовирус" или "PPV" хорошо известен среди специалистов в данной области. Однако "свиной парвовирус" представляет собой автономный реплицирующийся вирус рода парвовирус в пределах семейства Parvoviridae, содержащий молекулу однонитевой ДНК. Геном вируса кодирует три капсидных белка (VP1, VP2, VP3) и один неструктурный белок (NS1). Заболевание, вызываемое PPV у поросят, часто называется SMEDI (аббревиатура для мертворождения, мумификации, смерти эмбриона и бесплодия). Термин "свиной парвовирус" охватывает все возможные штаммы, генотипы, фенотипы и серотипы свиного парвовируса.

Термин "вирусный белок 2" или "VP2" относится к капсидному белку VP2 свиного парвовируса. Термин "вирусный белок 2" или "VP2" хорошо известен среди специалистов в данной области.

Термин "белок", "аминокислота" и "полипептид" применяются взаимозаменяемо. Термин "белок" относится к последовательности аминокислот, состоящей из природных аминокислот, а также их производных. Природные аминокислоты общеизвестны среди специалистов в данной области и описываются в стандартных учебниках по биохимии. В пределах аминокислотной последовательности аминокислотные остатки соединяются пептидными связями. Кроме того, два конца аминокислотной последовательности указываются как карбоксильный конец (С-конец) и амино-конец (N-конец). Термин "белок" охватывает фактически очищенные белки или белковые препараты, дополнительно включающие другие белки. Кроме того, термин также относится к фрагментам белков. Кроме того, он включает химически модифицированные белки. Такие модификации могут быть искусственными модификациями или природными модификациями, такими, как фосфорилирование, гликозилирование, миристилирование и т.п.

Термин "причем нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности дикого типа PPV VP2" касается нумерации аминокислотных позиций, относящихся к аминокислотной последовательности белка PPV VP2 полной длины дикого типа. Предпочтительно нумерация amino-позиций согласно данному описанию указывается со ссылкой на белковую последовательность PPV VP2 дикого типа, имеющую 579 аминокислотных остатков, включая метиониновый остаток в (N-концевой) аминокислотной позиции 1. Термин "причем нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности дикого типа PPV VP2" охватывает PPV VP2 дикого типа, как указано для примера в SEQ ID NO: 1 (PPV 27a VP2).

В одном аспекте настоящего изобретения PPV VP2 также имеет:

в аминокислотной позиции 25 изолейциновый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 36 сериновый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 37 изолейциновый остаток.

Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает вирусный белок 2 (VP2) свиного парвовируса (PPV), имеющий:

в аминокислотной позиции 228 глутаминовокислотный остаток или глутаматный остаток; и/или

в аминокислотной позиции 414 сериновый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 419 глутаминовый остаток, и/или в аминокислотной позиции 436 треониновый остаток; причем нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности дикого типа PPV VP2.

PPV VP2 также имеет:

в аминокислотной позиции 25 изолейциновый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 36 сериновый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 37 изолейциновый остаток.

В одном аспекте настоящего изобретения нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности, показанной в SEQ ID NO: 1. Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает вирусный белок 2 (VP2) свиного парвовируса (PPV), имеющий:

в аминокислотной позиции 228 глутаминовокислотный остаток или глутаматный остаток; и/или

в аминокислотной позиции 414 сериновый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 419 глутаминовый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 436 треониновый остаток, причем нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности дикого типа PPV VP2, и нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности, показанной в SEQ ID NO: 1.

Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает вирусный белок 2 (VP2) свиного парвовируса (PPV), имеющий:

в аминокислотной позиции 228 глутаминовокислотный остаток или глутаматный остаток; и/или

в аминокислотной позиции 414 сериновый остаток, и/или в аминокислотной позиции 419 глутаминовый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 436 треониновый остаток, причем нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности, показанной в SEQ ID NO: 1.

В одном аспекте настоящего изобретения PPV VP2 представляет собой рекомбинантный PPV VP2.

Термин "рекомбинантный" в контексте данного описания относится, в частности, к молекуле белка, которая экспрессируется из молекулы рекомбинантной ДНК, такой, как полипептид, образуемый с применением технологий рекомбинантных ДНК. Пример таких технологий включает случай, когда ДНК, кодирующая экспрессируемый белок (например, PPV VP2), вставляют в подходящий вектор экспрессии, предпочтительно вектор экспрессии бакуловируса, который, в свою очередь, используют для трансфекции или, в случае вектора экспрессии бакуловируса, для инфицирования клетки-хозяина для получения белка или полипептида, кодируемого ДНК. Термин "рекомбинантный PPV VP2" в контексте данного описания, таким образом, в частности, относится к молекуле белка, которая экспрессируется из молекулы рекомбинантной ДНК.

В одном аспекте настоящего изобретения PPV VP2 представляет собой экспрессируемый рекомбинантным бакуловирусом PPV VP2.

Термин "бакуловирус" или "бакуловиральная система" хорошо известен среди специалистов в данной области. Кроме того, термин "бакуловирус" подробнее объясняется ниже.

В одном аспекте настоящего изобретения вышеупомянутый PPV VP2 включает или состоит из аминокислотной последовательности, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16.

В одном аспекте настоящего изобретения вышеупомянутый PPV VP2 включает или состоит из аминокислотной последовательности, которая имеет по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,1%, по меньшей мере 99,2%, по меньшей мере 99,3%, по меньшей мере 99,4%, по меньшей мере 99,5%, по меньшей мере 99,6%, по меньшей мере 99,7%, по меньшей мере 99,8%, или по меньшей мере 99,9% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16. Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает вирусный белок 2 (VP2) свиного парвовируса (PPV), имеющий:

в аминокислотной позиции 228 глутаминовокислотный остаток или глутаматный остаток; и/или

в аминокислотной позиции 414 сериновый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 419 глутаминовый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 436 треониновый остаток, причем нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности дикого типа PPV VP2, и причем вышеупомянутый PPV VP2 включает или состоит из аминокислотной последовательности, которая имеет по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,1%, по меньшей мере 99,2%, по меньшей мере 99,3%, по меньшей мере 99,4%, по меньшей мере 99,5%, по меньшей мере 99,6%, по меньшей мере 99,7%, по меньшей мере 99,8%, или по меньшей мере 99,9% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16.

В одном аспекте настоящего изобретения вышеупомянутый PPV VP2 включает или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, или SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16 или включает или состоит из любого фрагмента, который имеет по меньшей мере 210, по меньшей мере 250 или по меньшей мере 300 смежных аминокислотных остатков из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16. Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает вирусный белок 2 (VP2) свиного парвовируса (PPV), имеющий:

в аминокислотной позиции 228 глутаминовокислотный остаток или глутаматный остаток; и/или

в аминокислотной позиции 414 сериновый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 419 глутаминовый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 436 треониновый остаток, причем нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности дикого типа PPV VP2, и причем вышеупомянутый PPV VP2 включает или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, или SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16 или включает или состоит из любого фрагмента, который имеет по меньшей мере 210, по меньшей мере 250 или по меньшей мере 300 смежных аминокислотных остатков из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16.

В одном аспекте настоящего изобретения вышеупомянутый PPV VP2 включает или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16. Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает вирусный белок 2 (VP2) свиного парвовируса (PPV), имеющий:

в аминокислотной позиции 228 глутаминовокислотный остаток или глутаматный остаток; и/или

в аминокислотной позиции 414 сериновый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 419 глутаминовый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 436 треониновый остаток, причем нумерация аминокислотных позиций

относится к аминокислотной последовательности дикого типа PPV VP2, и причем вышеупомянутый PPV VP2 включает или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, или SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16.

В одном аспекте настоящего изобретения вышеупомянутый PPV VP2 кодируется нуклеотидной последовательностью, кодирующей аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16.

В одном аспекте настоящего изобретения вышеупомянутый PPV VP2 кодируется нуклеотидной последовательностью, кодирующей аминокислотную последовательность по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,1%, по меньшей мере 99,2%, по меньшей мере 99,3%, по меньшей мере 99,4%, по меньшей мере 99,5%, по меньшей мере 99,6%, по меньшей мере 99,7%, по меньшей мере 99,8%, или по меньшей мере 99,9% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16. Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает вирусный белок 2 (VP2) свиного парвовируса (PPV), имеющий:

в аминокислотной позиции 228 глутаминовокислотный остаток или глутаматный остаток; и/или

в аминокислотной позиции 414 сериновый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 419 глутаминовый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 436 треониновый остаток, причем нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности дикого типа PPV VP2, и вышеупомянутый PPV VP2 кодируется нуклеотидной последовательностью, кодирующей аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,1%, по меньшей мере 99,2%, по меньшей мере 99,3%, по меньшей мере 99,4%, по меньшей мере 99,5%, по меньшей мере 99,6%, по меньшей мере 99,7%, по меньшей мере 99,8%, или по меньшей мере 99,9% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16.

В одном аспекте настоящего изобретения вышеупомянутый PPV VP2 кодируется нуклеотидной последовательностью, кодирующей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16. Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает вирусный белок 2 (VP2) свиного парвовируса (PPV), имеющий:

в аминокислотной позиции 228 глутаминовокислотный остаток или глутаматный остаток; и/или

в аминокислотной позиции 414 сериновый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 419 глутаминовый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 436 треониновый остаток, причем нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности дикого типа PPV VP2, и вышеупомянутый PPV VP2 кодируется нуклеотидной последовательностью, кодирующей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16.

SEQ ID NO: 4 представляет собой кодон-оптимизированную нуклеотидную последовательность PPV 27a VP2, которая была подвергнута дальнейшей модификации таким образом, чтобы включать два сайта рестрикционного фермента ClaI (в аминокислотной позиции 25 находится изолейциновый остаток, в аминокислотной позиции 36 находится сериновый остаток, в аминокислотной позиции 37 находится изолейциновый остаток), чтобы примыкать к кодирующему участку VP2, состоящему из глициновых повторов. Однако сайты рестрикционных ферментов ClaI включали таким образом, чтобы не прерывать кодирующий участок VP2. SEQ ID NO: 2 представляет собой белковую последовательность, соответствующую SEQ ID NO: 4. SEQ ID NO: 3 представляет собой кодон-оптимизированную нуклеотидную последовательность PPV 27a VP2 (без сайтов рестрикционных ферментов ClaI). SEQ ID NO: 1 представляет собой белковую последовательность, соответствующую SEQ ID NO: 3. SEQ ID NO: 5-16 представляют другие белковые последовательности PPV VP2 с сайтами рестрикционных ферментов ClaI (SEQ ID NO: 5-10) или без них (SEQ ID NO: 11-16).

Термины "нуклеиновая кислота" или "нуклеиновокислотная последовательность" или "нуклеотидная последовательность" или "полинуклеотид" применяются в данном описании взаимозаменяемо и относятся к полинуклеотидам, включая молекулы ДНК, молекулы РНК, молекулы кДНК или производные. Термин охватывает одонитевые, а также двухнитевые полинуклеотиды. Нуклеиновая кислота в соответствии с настоящим изобретением охватывает выделенные полинуклеотиды (т.е. выделенные из природной среды) и генетически модифицированные формы. Кроме того, также включаются химически модифицированные полинуклеотиды, включая природные модифицированные полинуклеотиды, такие, как гликозилированные или метилированные полинуклеотиды, или искусственные модифицированные, такие, как биотинилированные полинуклеотиды. Кроме того, термины "нуклеиновая кислота" и "полинуклеотид" являются взаимозаменяемыми и относятся к любой нуклеиновой кислоте. Термины "нуклеиновая кислота" и "полинуклеотид" также конкретно включают нуклеиновые кислоты, состоящие из основа-

ний, отличающихся от биологических оснований (аденина, гуанина, тимина, цитозина и урацила).

Термин "идентичность" или "идентичность последовательностей" известен специалистам в данной области и касается отношения между двумя или более полипептидными последовательностями или двумя или более полинуклеотидными последовательностями, т.е. контрольной последовательностью и данной последовательностью, подлежащей сравнению с контрольной последовательностью. Идентичность последовательностей определяют путем сравнения данной последовательности с контрольной последовательностью после оптимального выравнивания последовательностей для получения наивысшей степени подобия последовательностей, определяемой путем сопоставления между нитями таких последовательностей. После такого выравнивания идентичность последовательностей устанавливается на основе сопоставления соответствующих позиций, например, последовательности являются "идентичными" в конкретной позиции, если эта позиция, нуклеотиды или аминокислотные остатки идентичны. Общее количество таких идентичных позиций затем делят на общее количество нуклеотидов или остатков в контрольной последовательности для определения процента идентичности последовательностей. Идентичность последовательностей легко вычисляют известными способами, включая, помимо прочего, описываемые в публикациях 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), идеи которых включаются в данное описание путем ссылки. Предпочтительные способы определения идентичности последовательностей разработаны для получения наибольшего соответствия между испытываемыми последовательностями. Способы определения идентичности последовательностей кодифицированы в общедоступных компьютерных программах, определяющих идентичность последовательностей между данными последовательностями. Примерами таких программ являются, помимо прочих, пакет программ GCG (Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research, 12(1): 387 (1984)), BLASTP, BLASTN и FASTA (Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215: 403-410 (1990)). Программа BLASTX доступна на рынке от NCBI и из 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), идеи которых включаются в данное описание путем ссылки). Эти программы оптимально выравнивают последовательности с использованием штрафов за делецию по умолчанию с целью получения наивысшего уровня идентичности последовательностей между данной и контрольной последовательностями. В качестве иллюстрации, в случае полинуклеотида, имеющего нуклеотидную последовательность, которая имеет по меньшей мере, например, 85%, предпочтительно 90%, еще более предпочтительно - 95% "идентичности последовательностей" с контрольной нуклеотидной последовательностью, подразумевается, что нуклеотидная последовательность данного полинуклеотида является идентичной контрольной последовательности, за исключением того, что данная полинуклеотидная последовательность может включать до 15, предпочтительно до 10, еще более предпочтительно - до 5 точечных мутаций на каждые 100 нуклеотидов контрольной нуклеотидной последовательности. Другими словами, в полинуклеотиде, имеющем нуклеотидную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, предпочтительно 90%, еще более предпочтительно - 95% идентичности с контрольной нуклеотидной последовательностью, до 15%, предпочтительно до 10%, еще более предпочтительно - до 5% нуклеотидов в контрольной последовательности могут быть удалены или замещены другим нуклеотидом, или определенное количество нуклеотидов до 15%, предпочтительно до 10%, еще более предпочтительно - до 5% от общего количества нуклеотидов в контрольной последовательности, может быть вставлено в контрольную последовательность. Эти мутации контрольной последовательности могут иметь место в 5'- или 3'-концевых позициях контрольной нуклеотидной последовательности или в любом другом месте между этими концевыми позициями, либо отдельными вставками среди нуклеотидов в контрольной последовательности, либо одной или несколькими смежными группами в пределах контрольной последовательности. Аналогичным образом, в случае полипептида, имеющего данную аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере, например, 85%, предпочтительно 90%, еще более предпочтительно - 95% идентичности последовательностей с контрольной аминокислотной последовательностью, подразумевается, что данная аминокислотная последовательность полипептида является идентичной контрольной последовательности, за исключением того, что данная полипептидная последовательность может включать до 15, предпочтительно до 10, еще более предпочтительно - до 5 аминокислотных изменений на каждые 100 аминокислот контрольной аминокислотной последовательности. Другими словами, для получения данной полипептидной последовательности, которая имеет по меньшей мере 85%, предпочтительно 90%, еще более предпочтительно - 95% идентичности последовательности с контрольной аминокислотной последовательностью, до 15%, предпочтительно до 10%, еще более предпочтительно - до 5% аминокислотных остатков в контрольной последовательности могут быть удалены или замещены другой аминокислотой, или определенное количество аминокислот до 15%, предпочтительно до 10%, еще более предпочтительно - до 5% от общего количества аминокислотных остатков в контрольной последовательности, может быть вставлено в контрольную последовательность. Эти изменения контрольной

ной последовательности могут иметь место в аминокислотной или карбоксильной концевых позициях контрольной аминокислотной последовательности или в любом другом месте между этими концевыми позициями, либо отдельными вставками среди остатков в контрольной последовательности, либо одной или несколькими смежными группами в пределах контрольной последовательности. Предпочтительно позиции остатков, которые не идентичны, отличаются консервативными аминокислотными замещениями. Однако консервативные замещения не включаются как совпадения при определении идентичности последовательностей.

Термины "идентичность", "идентичность последовательностей" и "процент идентичности" применяются в данном описании взаимозаменяемо. С точки зрения этого изобретения установлено, что для определения процента идентичности двух аминокислотных последовательностей или двух нуклеиновых кислотных последовательностей последовательности выравнивают с целью оптимального сравнения (например, в последовательность первой аминокислоты или нуклеиновой кислоты могут быть включены гэпы для оптимального выравнивания с целью сопоставления со второй аминокислотной или нуклеиновой кислотной последовательностью). Затем сравнивают аминокислоты или нуклеотидные остатки в соответствующих аминокислотных или нуклеотидных позициях. Когда позиция в первой последовательности занята той же аминокислотой или нуклеотидным остатком, что и соответствующая позиция во второй последовательности, молекулы в этой позиции являются идентичными. Процент идентичности между двумя последовательностями зависит от количества идентичных позиций, общих для этих последовательностей [т.е. % идентичности = количество идентичных позиций / общее количество позиций (т.е. перекрывающихся позиций) × 100]. Предпочтительно две последовательности имеют одинаковую длину.

Сравнение последовательностей осуществляют по всей длине двух сравниваемых последовательностей или по длине фрагмента двух последовательностей. Как правило, сравнение осуществляют по всей длине двух сравниваемых последовательностей. Однако идентичность последовательностей может определяться и по участку, например, из двадцати, пятидесяти, ста или более аминокислотных остатков.

Специалистам в данной области известно, что существует несколько различных компьютерных программ для определения гомологии между двумя последовательностями. Например, сравнение последовательностей и определение процента идентичности между двумя последовательностями осуществляют с применением математического алгоритма. В предпочтительном варианте осуществления процент идентичности между двумя аминокислотными или нуклеиновыми кислотными последовательностями определяют с применением алгоритма Нидмана-Вунша [J. Mol. Biol. (48): 444-453 (1970)], включенного в программу GAP в пакете программ Accelrys GCG (доступен по адресу <http://www.accelrys.com/products/gcg/>), с применением матрицы Blosum 62 или матрицы PAM250, и штрафа за открытие гэпа 16, 14, 12, 10, 8, 6 или 4 и штрафа за продолжение гэпа 1, 2, 3, 4, 5 или 6. Специалистам в данной области станет понятно, что все эти разные параметры дают несколько различные результаты, однако общий процент идентичности двух последовательностей при применении различных алгоритмов значительно не меняется.

Белковые последовательности или нуклеиновыми кислотными последовательностями в соответствии с настоящим изобретением также могут использоваться как "искомая последовательность" для выполнения поиска в общедоступных базах данных, например, для идентификации других представителей семейства или родственных последовательностей. Такие поиски выполняют с применением программ BLASTN и BLASTP (версия 2.0) согласно публикации Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-10. Поиск белков BLAST выполняют при помощи программы BLASTP, вес =50, длина слова =3, для получения аминокислотных последовательностей, гомологичных белковым молекулам в соответствии с изобретением. Для получения выравнивания с гэпами с целью сравнения применяют Gapped BLAST, как описывается в публикации Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25(17): 3389-3402. При применении программ BLAST и Gapped BLAST используют параметры соответствующих программ (например, BLASTP и BLASTN) по умолчанию. См. домашнюю страницу Национального центра биотехнологической информации по адресу <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает иммуногенную композицию, включающую PPV VP2, как описывается авторами. Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает иммуногенную композицию, включающую вирусный белок 2 (VP2) свиного парвовируса (PPV), имеющий:

в аминокислотной позиции 228 глутаминовыми кислотный остаток или глутаматный остаток; и/или
в аминокислотной позиции 414 сериновый остаток; и/или
в аминокислотной позиции 419 глутаминовый остаток; и/или
в аминокислотной позиции 436 треониновый остаток, причем нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности дикого типа PPV VP2.

Термин "иммуногенная композиция" относится к композиции, которая включает по меньшей мере один антиген, вызывающий иммунный ответ организма-хозяина, которому вводят эту иммуногенную композицию. Такой иммунный ответ может быть клеточным и/или антителоопосредованным иммунным ответом на иммуногенную композицию в соответствии с изобретением. Предпочтительно иммуногенная композиция вызывает иммунный ответ, более предпочтительно - обеспечивает защитный иммунитет против одного или нескольких клинических признаков инфекции PPV. Хозяин также описывается как

"субъект". Предпочтительно любой из описываемых или упоминаемых хозяев или субъектов является свиньей.

Как правило, "иммунный ответ" включает, помимо прочего, один или несколько из следующих эффектов: выработки или активации антител, В-клеток, хелперных Т-клеток, супрессорных Т-клеток и/или цитотоксичных Т-клеток и/или гамма-дельта-Т-клеток, специфично направленных на антиген или антигены, включенные в иммуногенную композицию в соответствии с изобретением. Предпочтительно хозяин должен демонстрировать защитный иммунный ответ или терапевтический ответ.

"Защитный иммунный ответ" или "защитный иммунитет" демонстрируется через снижение или отсутствие клинических признаков, которые обычно обнаруживаются у инфицированных хозяев, более быстрое выздоровление и/или снижение продолжительности инфективности или снижение титра патогена в тканях или жидкостях организма или экскрементах инфицированного хозяина.

В случае, если хозяин демонстрирует защитный иммунный ответ, такой, как повышенная сопротивляемость новой инфекции и/или снижение клинической тяжести заболевания, иммуногенная композиция описывается как "вакцина".

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенную композицию рецептируют для введения разовой дозой.

Объем разовой дозы определяется в других разделах данного описания.

Иммуногенную композицию предпочтительно вводят по месту или системно. Подходящими традиционно применяемыми путями введения являются пероральное или парентеральное введение, такое, как интраназальное, внутривенное, внутримышечное, внутрибрюшинное, подкожное, а также ингаляция. Однако, в зависимости от характера и способа действия соединения, иммуногенная композиция также может вводиться другими путями. Однако в наиболее предпочтительном варианте иммуногенную композицию вводят внутримышечно.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенную композицию вводят внутримышечно.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция является безопасной для свиней и/или свиноматок во время беременности и лактации.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция является безопасной для свиней и/или свиноматок после 30 дней беременности, предпочтительно после 40 дней беременности.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция также включает фармацевтически приемлемый носитель.

Термин "фармацевтически приемлемый носитель" включает любые и все растворители, диспергаторы, покрытия, стабилизаторы, разбавители, консерванты, противомикробные и противогрибковые средства, изотонические агенты, замедляющие адсорбцию агенты, адьюванты, иммуностимуляторы и их комбинации.

"Разбавители" могут включать воду, солевой раствор, декстрозу, этанол, глицерин и т.п. Изотонические агенты могут включать, помимо прочих, хлорид натрия, декстрозу, маннит, сорбит и лактозу. Стабилизаторы включают, помимо прочих, альбумин и соли щелочных металлов с этилендиаминтетрауксусной кислотой.

В одном аспекте настоящего изобретения фармацевтически приемлемым носителем является карбомер.

Предпочтительно иммуногенная композиция также может включать один или несколько других иммуномодуляторов, таких, как, например, интерлейкины, интерфероны или другие цитокины. Количество и концентрация адьювантов и добавок, используемых в контексте настоящего изобретения, могут быть легко определены специалистом в данной области.

В некоторых аспектах иммуногенная композиция в соответствии с настоящим изобретением содержит адьювант. "Адьюванты" в контексте данного описания 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 типа вода в масле, эмульсию типа масло в воде, эмульсию типа вода в масле в воде. Эмульсия, в частности, может быть на основе легкого жидкого вазелинового масла (согласно требованиям Европейской фармакопеи); изопреноидного масла, такого, как сквалан или сквален; масла, получаемого в результате олигомеризации алкенов, в частности, изобутена или децена; сложных эфиров кислот или спиртов, которые содержат линейную алкильную группу, более конкретно - растительных масел, этилолеата, пропиленгликольди-(каприлата/капрата), глицерилтри-(каприлата/капрата) или пропиленгликольдиолеата; сложных эфиров разветвленных жирных кислот или спиртов, в частности, сложных эфиров изостеариновой кислоты. Масло применяют в комбинации с эмульгаторами для образования эмульсии. Эмульгаторами предпочтительно являются неионные поверхностно-активные вещества, в частности, сложные эфиры сорбита, маннида (например, ангидроманнитолеат), глицероля, полиглицерина, пропиленгликоля и олеиновой, изостеариновой, рицинолеиновой или гидроксистеариновой кислоты, которые необязательно являются этоксилированными, и блок-сополимеры полиоксипропилена-полиоксиэтилена, в частности продукты типа Pluronic, прежде всего 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 адьюван-

тами являются эмульсия SPT, описанная на странице 147 публикации "Vaccine Design, The Subunit and Adjuvant Approach" под редакцией М. Powell and М. Newman, Plenum Press, 1995, и эмульсия MF59, описанная на странице 183 той же книги.

Еще одним примером адъюванта может быть соединение, выбранное из полимеров акриловой или метакриловой кислоты и сополимеров малеинового ангидрида и алкенильной производной. Оптимальными адъювантными соединениями являются полимеры акриловой или метакриловой кислоты, сшитые, в частности, с полиалкенильными сложными эфирами сахаров или многоатомных спиртов. Эти соединения известны как карбомеры (Pharmeuropa Vol. 8, No. 2, June 1996). Специалисты в данной области также могут обратиться к Патенту США № 2,909,462, в котором описываются такие акриловые полимеры, сшитые с полигидроксильрованным соединением, имеющим по меньшей мере 3 гидроксильных 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 те, которые содержат от 2 до 4 атомов углерода, например, винилы, аллиллы и другие этиленненасыщенные группы. Ненасыщенные радикалы сами могут содержать другие заместители, такие, как метил. Особенно подходящими являются продукты, продаваемые под названием Carbopol; (BF Goodrich, Огайо, США). Они сшиты с аллилсахарозой или с аллилпентаэритритом. Среди них можно упомянуть Carbopol 974P, 934P и 971P. Наиболее предпочтительным является использование Carbopol 971P. К сополимерам малеинового ангидрида и алкенильной производной относятся сополимеры ЕМА (Monsanto), которые представляют собой сополимеры малеинового ангидрида и этилена. Растворение этих полимеров в воде ведет к образованию раствора кислоты, подлежащего нейтрализации, предпочтительно до физиологического уровня рН, с целью получения раствора адъюванта, в которую включают саму иммуногенную, иммунологическую или вакцинную композицию.

Другие подходящие адъюванты включают, помимо прочих, адъювантную систему RIBI (Ribi Inc.), блок-сополимер (CytRx, Atlanta GA), SAF-M (Chiron, Emeryville CA), монофосфорил-липид А адъювант авридин липид-амин, термолабильный энтеротоксин из *E. coli* (рекомбинантный или иной), холерный токсин, IMS 1314 или мурамилдипептид, или природные или рекомбинантные цитокины или их аналоги или стимуляторы высвобождения эндогенного цитокина и др.

Ожидается, что адъювант может добавляться 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 от приблизительно 1 мг на дозу. В альтернативном варианте адъювант может быть в концентрации от приблизительно 0,01 до 50%, предпочтительно в концентрации от приблизительно 2 до 30%, более предпочтительно - в концентрации от приблизительно 5 до 25%, еще более предпочтительно - в концентрации от приблизительно 7 до 22%, и наиболее предпочтительно - в концентрации от 10 до 20% по объему готового продукта.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция включает приблизительно от 0,1 до 50 мкг антигена PPV VP2. Предпочтительно иммуногенная композиция включает приблизительно от 0,2 мкг и 40 мкг, более предпочтительно - приблизительно от 0,3 до 30 мкг, более предпочтительно - приблизительно от 0,4 до 20 мкг, и еще более предпочтительно - приблизительно от 0,5 до 10 мкг, причем наиболее предпочтительное количество составляет 0,5, 0,75, 1, 1,25, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 или 10 мкг антигена PPV VP2.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция является вакциной.

Термин "вакцина" уже описывался в других разделах данного описания. Однако в случае, если хозяин демонстрирует защитный иммунный ответ, например, для повышения сопротивляемости новой инфекции и/или снижения клинической тяжести заболевания, иммуногенная композиция описывается как "вакцина".

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция защищает от гомологичного и/или гетерологичного провокационного заражения. Преимущество состоит в том, что экспериментальные данные, обеспечиваемые настоящим изобретением, обнаруживают, что вакцина в соответствии с настоящим изобретением обладает широким спектром защиты, поскольку вакцина защищает от гетерологичных североамериканских, а также гетерологичных европейских штаммов для провокационного заражения.

Термины "защищает" и "профилактика" и "предотвращение" применяются в этой заявке взаимозаменяемо. Эти термины определяются в других разделах данного описания.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция защищает от провокационного заражения североамериканскими и/или европейскими изолятами.

Термин "североамериканские и европейские изоляты" хорошо известен среди специалистов в данной области. Термин "североамериканские и/или европейские изоляты" охватывает все изоляты, которые были или будут выделены в Северной Америке и Европе.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция обеспечивает перекрестный иммунитет от североамериканских и/или европейских изолятов.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция эффективна для лечения и/или профилактики клинических признаков, вызываемых инфекцией PPV у субъекта, который в этом нуждается. Термины "лечение и/или профилактика", "клинические признаки" и "нуждается" определены в других разделах этого описания.

Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает полинуклеотид, включающий нуклеотидную последовательность, которая кодирует PPV VP2, как описывается авторами.

Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает полинуклеотид, включающий нуклеотидную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,1%, по меньшей мере 99,2%, по меньшей мере 99,3%, по меньшей мере 99,4%, по меньшей мере 99,5%, по меньшей мере 99,6%, по меньшей мере 99,7%, по меньшей мере 99,8%, или по меньшей мере 99,9% последовательности с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 4.

Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает полинуклеотид, включающий или состоящий из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 4.

Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает вектор, включающий полинуклеотид, как описывается авторами.

В одном аспекте настоящего изобретения вектор является вектором экспрессии.

В одном аспекте настоящего изобретения вектор является бакуловирусом.

Термин "вектор" хорошо известен среди специалистов в данной области. Термин "вектор", известный специалистам в данной области, относится к полинуклеотидной конструкции, как правило, плазмиды или вируса, которые используют для переноса генетического материала в клетку-хозяин. Векторы могут быть, например, вирусами, плазмидами, космидами или фагами. Вектор в контексте настоящего изобретения может состоять из ДНК или РНК. В некоторых вариантах осуществления вектор состоит из ДНК. "Вектор экспрессии" представляет собой вектор, способный направлять экспрессию белка, кодируемого одним или несколькими генами, которые несет вектор, когда он присутствует в соответствующей среде. Векторы предпочтительно способны к самостоятельной репликации. Как правило, вектор экспрессии включает промотор транскрипции, ген и терминатор транскрипции. Экспрессию гена обычно осуществляют под контролем промотора, и ген считается "функционально связанным" с промотором.

В контексте данного описания термин "функционально связанный" применяют для описания связи между регуляторными элементами и геном или его кодирующим участком. Как правило, экспрессию гена осуществляют под контролем одного или нескольких регуляторных элементов, к которым, помимо прочих, относятся, например, конститутивные или индуцибельные промоторы, тканеспецифические регуляторные элементы и энхансеры. Ген или кодирующий участок считается "функционально связанным" или "функционально соединенным" или "функционально ассоциированным" с регуляторными элементами в том смысле, что ген или кодирующий участок находится под контролем или влиянием регуляторного элемента. Например, промотор считается функционально связанным кодирующей последовательностью, если промотор осуществляет транскрипцию или экспрессию кодирующей последовательности.

Векторы и способы получения и/или применения векторов (или рекомбинантов) для экспрессии могут быть идентичными или аналогичными способом, раскрываемым в: патентах США №№ 4,603,112, 4,769,330, 5,174,993, 5,505,941, 5,338,683, 5,494,807, 4,722,848, 5,942,235, 5,364,773, 5,762,938, 5,770,212, 5,942,235, 382,425, публикациях PCT WO 94/16716, WO 96/39491, WO 95/30018; Paoletti, "Applications of pox virus vectors to vaccination: An update," PNAS USA 93: 11349-11353, October 1996; Moss, "Genetically engineered poxviruses for recombinant gene expression, vaccination, and safety," PNAS USA 93: 11341-11348, October 1996; Smith et al., Патенте США № 4,745,051 (рекомбинантный бакуловирус); 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; EPAO 370 573; U.S. application No. 920,197, filed Oct. 16, 1986; EP patent publication No. 0265785; Патенте США № 4769331 (рекомбинантный герпесвирус); Roizman, "The function of herpes simplex virus genes: A primer for genetic engineering of novel vectors," PNAS USA 93: 11307-11312, October 1996; Andreansky et al., "The application of genetically engineered herpes simplex viruses to the treatment of experimental brain tumors," PNAS USA 93: 11313-11318, October 1996; Robertson et al., "Epstein-Barr virus vectors for gene delivery to B lymphocyte", PNAS USA 93: 11334-11340, October 1996; Frolov et al., "Alphavirus-based expression vectors: Strategies and application," PNAS USA 93: 11371-11377, October 1996; Kitson et al., *J. Virol.* 65, 3068-3075, 1991; U.S. Pat. Nos. 5,591,439, 5,552,143; WO 98/00166; акцептованных заявках США, сер. №№ 08/675,556, и 08/675,566, обе из которых были поданы 3 июля 1996 г. (рекомбинантный аденовирус); публикации Grunhaus et al., 1992, "Adenovirus as cloning vectors," *Seminars in Virology* (Vol. 3), p. 237-52, 1993; Ballay et al. *EMBO Journal*, vol. 4, p. 3861-65, *Graham, Tibtech* 8, 85-87, April, 1990; Prevec et al., *J. Gen Virol.* 70, 42434; 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", PNAS USA 93: 11414-11420, October 1996; и патентах США №№ 5,591,639, 5,589,466, и 5,580,859, а также WO 90/11092, WO 93/19183, WO 94/21797, WO 95/11307, WO 95/20660; публикациях Tang et al., Nature, and Furth et al., Analytical Biochemistry, касающихся векторов экспрессии ДНК, и др. См. также публикации WO 98/33510; Ju et al., Diabetologia, 41: 736-739, 1998 (лентивирусная экспрессирующая система); Sanford et al., U.S. Pat. No. 4,945,050; Fischbach et al. (Intracel); WO 90/01543; Robinson et al., Seminars in Immunology vol. 9, pp. 271-283 (1997), (системы ДНК-векторов); Szoka et al., Патенте США № 4,394,448 (способ вставки ДНК в живые клетки); McCormick et al., Патенте США № 5,677,178 (применение цитопатических вирусов); и Патенте США № 5,928,913 (векторы для доставки генов); а также других упомянутых авторами документах.

Термины "регуляторный элемент" и "элемент контроля экспрессии" применяются взаимозаменяемо и относятся к молекулам нуклеиновых кислот, которые влияют на экспрессию функционально связанной кодирующей последовательности в конкретном организме-хозяине. Эти термины применяются в широком смысле и охватывают все элементы, способствующие транскрипции или регулирующие ее, включая промоторы, основные элементы, необходимые для фундаментального взаимодействия РНК-полимеразы и факторов транскрипции, расположенные против хода транскрипции элементы, энхансеры и элементы ответа. Типичными регуляторными элементами в прокариотах являются промоторы, операторные последовательности и участки связывания рибосом. Регуляторные элементы, применяемые в эукариотных клетках, могут включать, помимо прочих, транскрипционные и трансляционные контрольные последовательности, такие, как промоторы, энхансеры, сигналы сплайсинга, сигналы полиаденилирования, терминаторы, сигналы разрушения белка, элемент внутренней посадки рибосомы (IRES), 2A последовательности и т.п., которые обеспечивают и/или регулируют экспрессию кодирующей последовательности и/или образование кодированного полипептида в клетке-хозяине.

В контексте данного описания термин "промотор" означает нуклеотидную последовательность, обеспечивающую возможность связывания РНК-полимеразы и направляет транскрипцию гена. Как правило, промотор расположен в 5'-некодирующем участке гена, приближенном к сайту инициации транскрипции гена. Элементы последовательности в пределах промоторов, которые выполняют функцию инициации транскрипции, часто характеризуются консенсусными нуклеотидными последовательностями. Примерами промоторов, помимо прочих, могут быть промоторы из бактерий, дрожжей, растений, вирусов и млекопитающих (включая человека). Промотор может быть индуцибельным, репрессуемым и/или конститутивным. Индуцибельные промоторы иницируют повышенный уровень транскрипции из ДНК под их контролем в ответ на некоторые изменения в условиях культивирования, например, изменение температуры.

В контексте данного описания термин "энхансер" относится к типу регуляторного элемента, который может повышать эффективность транскрипции, независимо от расстояния или ориентации энхансера относительно сайта начала транскрипции.

Образование вирусного вектора может осуществляться с применением любых подходящих технологий инженерии, общеизвестных среди специалистов в данной области, включая, помимо прочих, стандартные технологии расщепления рестрикционной эндонуклеазы, лигирования, трансформации, очистки плазмиды и секвенирования ДНК, например, как описывается в публикации Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y. (1989)).

Термин "бакуловирус" хорошо известен среди специалистов в данной области. Однако в контексте данного описания "бакуловирус" в частности, означает систему выработки нужного белка в клетках насекомых с применением рекомбинантного бакуловирусного вектора, предназначенного для экспрессии вышеупомянутого белка. Бакуловирусная система экспрессии в целом включает все элементы, необходимые для достижения экспрессии рекомбинантного белка в клетках насекомых, и, как правило, включает инженерию бакуловирусного вектора для экспрессии нужного белка, введение подвергнутого инженерии бакуловирусного вектора в клетки насекомых, культивирование клеток насекомых, содержащих подвергнутый инженерии бакуловирусный вектор, в подходящей среде для выращивания, таким образом, чтобы экспрессировался нужный белок, и выделение белка. Как правило, инженерия бакуловирусного вектора включает построение и выделение рекомбинантных бакуловирусов, в которых кодирующая последовательность для выбранного гена вставлена за промотором для второстепенного вирусного гена, причем большинство применяемых в настоящее время бакуловирусных систем экспрессии основаны на последовательности вируса ядерного полиэдрома совки калифорнийской люцерновой (AcMNPV) ((Virology 202 (2), 586-605 (1994), NCBI Accession No.: NC_001623). Бакуловирусные системы экспрессии общеизвестны среди специалистов в данной области и описывались, например, в публикациях "Baculovirus Expression Vectors: A Laboratory Manual", David R. O'Reilly, Lois Miller, Verne Luckow, изд. Oxford Univ. Press (1994), "The Baculovirus Expression System: A Laboratory Guide", Linda A. King, R. D. Possee, изд. Chapman & Hall (1992). Типичный неограничивающий пример бакуловирусной системы для получения рекомбинантного белка описывается, например, в документе WO 2006/072065 A2.

Предпочтительные бакуловирусные векторы включают бакуловирус, такой, как BaculoGold (BD Biosciences Pharmingen, San Diego, Calif.) или DiamondBac (Sigma Aldrich), в частности, при условии, что

продуцирующие клетки являются клетками насекомых. Хотя предпочтение отдается бакуловирусной системе экспрессии, специалистам в данной области станет понятно, что с точки зрения настоящего изобретения могут применяться и другие системы экспрессии.

Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает клетку, включающую полинуклеотид или вектор, как описывается авторами. Предпочтительно вектор является бакуловирусом.

Термин "клетка" хорошо известен среди специалистов в данной области. Термин "клетка" охватывает эукариотную клетку, такую, как клетка животного, клетка простейшего, растительная клетка или грибковая клетка. Предпочтительно эукариотная клетка является клеткой млекопитающего, такого, как СНО, ВНК или COS, или грибковой клеткой, например, *Saccharomyces cerevisiae*, или клеткой насекомого, например, Sf9.

В одном аспекте настоящего изобретения клетка является клеткой насекомого.

"Клетка насекомого" в контексте данного описания означает клетку или клеточную культуру, взятую из вида насекомого. Особенный интерес с точки зрения настоящего изобретения представляют клетки насекомых, взятые из видов *Spodoptera frugiperda* и *Trichoplusia ni*.

Предпочтительно клетка насекомого, как упомянуто авторами, является клеткой *Spodoptera frugiperda* (Sf) или клеткой из клеточной линии, взятой из *Spodoptera frugiperda*, более предпочтительно - выбранной из группы, состоящей из клетки Sf9 и клетки Sf+. Соответственно, клетки насекомых, упомянутые авторами, предпочтительно представляют собой клетки *Spodoptera frugiperda* (Sf) или клетки из клеточной линии, взятой из *Spodoptera frugiperda*, более предпочтительно - выбраны из группы, состоящей из клеток Sf9 и клеток Sf+.

В одном аспекте настоящего изобретения клетку насекомого выбирают из группы, к которой относятся клетки Sf9 и клетки Sf+.

Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает вирусоподобную частицу, включающую PPV VP2, как описывается авторами.

Термин "вирусоподобная частица" (VLP) охватывает нереплицирующуюся, пустую вирусную оболочку от вируса. VLP обычно состоят из одного или более вирусных белков, к которым, помимо прочих, относятся белки, указываемые как капсиды, белки покрытия, поверхности и/или оболочки, или образующие частицы полипептиды, производные от этих белков. VLP могут образовываться спонтанно после рекомбинантной экспрессии белка в соответствующей экспрессирующей системе. Присутствие VLP после рекомбинантной экспрессии вирусных белков обнаруживают с применением традиционных технологий, известных специалистам в данной области, таких, как электронная микроскопия, рентгеновская кристаллография и т.п. См., например, Baker et al., *Biophys. J.* (1991) 60: 1445-1456; Hagensee et al., *J. Virol.* (1994) 68: 4503-4505. Например, криоэлектронную микроскопию выполняют на витрифицированных водных образцах данного препарата VLP и изображения записывают при соответствующих условиях экспозиции.

Термин "вирусоподобная частица" (VLP) также охватывает VLP, состоящие из множества PPV VP2.

В одном аспекте настоящего изобретения вирусоподобная частица состоит из множества PPV VP2, как описывается авторами.

Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает способ получения PPV VP2, как описывается авторами, включающий трансфекцию клетки вектором, как описывается авторами.

Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает способ получения PPV VP2, как описывается авторами, включающий трансфекцию клетки, предпочтительно клетки насекомого, бакуловирусом, как описывается авторами.

Композиции, в случае потребности, могут быть представлены в упаковке или дозирующем устройстве, которое может содержать одну или несколько единичных лекарственных форм, содержащих активный ингредиент. Упаковка может включать, например, металлическую или пластиковую пленку, например блистерная упаковка. К упаковке или дозирующему устройству могут прилагаться инструкции по введению, предпочтительно по введению животным, в частности, свиньям. К контейнеру(ам) может прилагаться записка в форме, предписываемой правительственным органом, регулирующим производство, использование или продажу фармацевтических или биологических продуктов, причем в записке отражается разрешение со стороны данного органа на производство, использование или продажу с целью введения человеку.

Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает комплект, включающий PPV VP2 или иммунную композицию, как описывается авторами.

В одном аспекте настоящего изобретения комплект также включает инструкцию по лечению и/или профилактике заболеваний свиней.

В одном аспекте настоящего изобретения комплект также включает инструкцию по лечению и/или профилактике инфекций PPV.

В другом аспекте настоящего изобретения вирус PPV в соответствии с настоящим изобретением был инактивирован, в результате чего был получен цельный инактивированный вирус с вирусным белком 2 (VP2), как описывается авторами.

Таким образом, настоящее изобретение также касается инактивированного свиного парвовируса

(PPV), включающего вирусный белок 2 (VP2), который имеет:

в аминокислотной позиции 228 глутаминовокислотный остаток или глутаматный остаток; и/или

в аминокислотной позиции 414 сериновый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 419 глутаминовый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 436 треониновый остаток, причем нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности дикого типа PPV VP2.

Кроме того, настоящее изобретение также касается инактивированного свиного парвовируса (PPV), включающего вирусный белок 2 (VP2), который включает или состоит из аминокислотной последовательности, которая имеет по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,1%, по меньшей мере 99,2%, по меньшей мере 99,3%, по меньшей мере 99,4%, по меньшей мере 99,5%, по меньшей мере 99,6%, по меньшей мере 99,7%, по меньшей мере 99,8%, или по меньшей мере 99,9% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16.

Кроме того, настоящее изобретение также касается иммуногенной композиции, включающей инактивированный свиной парвовирус (PPV), включающий вирусный белок 2 (VP2), как описывается авторами.

Таким образом, настоящее изобретение также касается иммуногенной композиции, включающей инактивированный свиной парвовирус (PPV), включающий вирусный белок 2 (VP2), который имеет:

в аминокислотной позиции 228 глутаминовокислотный остаток или глутаматный остаток; и/или

в аминокислотной позиции 414 сериновый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 419 глутаминовый остаток; и/или

в аминокислотной позиции 436 треониновый остаток, причем нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности дикого типа PPV VP2.

Таким образом, настоящее изобретение также касается иммуногенной композиции, включающей инактивированный свиной парвовирус (PPV), включающий вирусный белок 2 (VP2), который включает или состоит из аминокислотной последовательности, которая имеет по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,1%, по меньшей мере 99,2%, по меньшей мере 99,3%, по меньшей мере 99,4%, по меньшей мере 99,5%, по меньшей мере 99,6%, по меньшей мере 99,7%, по меньшей мере 99,8%, или по меньшей мере 99,9% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16.

С точки зрения настоящего изобретения может применяться любой традиционный способ инактивации. Таким образом, инактивация может выполняться с применением способов химической и/или физической обработки, которые известны специалистам в данной области. Предпочтительные способы инактивации включают добавление циклизированного бинарного этиленамина (BEI), включающее добавление раствора 2-бромэтиленамингидробромида (BEA), который был циклизирован до бинарного этиленамина (BEI). Предпочтительные дополнительные средства химической инактивации включают, помимо прочих, Triton X-100, дезоксихолат натрия, бромид цетилтриметиламмония, β -пропиолактон, тимеросал, фенол и формальдегид (формалин). Однако инактивация также может включать этап нейтрализации. Предпочтительные средства нейтрализации включают, помимо прочих, тиосульфат натрия, бисульфат натрия и т.п.

Предпочтительные условия инактивации формалином включают концентрацию формалина приблизительно от 0,02% (об./об.) до 2,0% (об./об.), более предпочтительно - приблизительно от 0,1% (об./об.) до 1,0% (об./об.), еще более предпочтительно - приблизительно от 0,15% (об./об.) до 0,8% (об./об.), еще более предпочтительно - приблизительно от 0,16% (об./об.) до 0,6% (об./об.), и наиболее предпочтительно приблизительно от 0,2% (об./об.) до 0,4% (об./об.). Время инкубации зависит от резистентности PPV. Как правило, процесс инактивации выполняют до тех пор, пока не перестанет обнаруживаться рост PPV в соответствующей системе культивирования.

Предпочтительно инактивированный PPV в соответствии с настоящим изобретением инактивируют формалином, предпочтительно с применением описанной выше концентрации.

Инактивированный PPV в соответствии с изобретением может быть включен в липосомы с применением известной технологии, такой, как описываемая в публикациях Nature, 1974, 252, 252-254 или Journal of Immunology, 1978, 120, 1109-13. В другом варианте осуществления изобретения инактивированный PPV в соответствии с изобретением может быть конъюгирован с подходящими биологическими соединениями, такими, как полисахариды, пептиды, белки и т.п., или их комбинация.

Настоящее изобретение также касается применения:

PPV VP2, как описывается авторами;

иммуногенной композиции, как описывается авторами;

полинуклеотида, как описывается авторами;

вектора, как описывается авторами;

клетки, как описывается авторами;
бакуловируса, как описывается авторами; и/или
вирусоподобных частиц, как описывается авторами для приготовления медикамента, предпочтительно вакцины.

Настоящее изобретение также касается применения PPV VP2, как описывается авторами, или иммуногенной композиции, как описывается авторами, для приготовления медикамента для лечения и/или профилактики инфекции PPV, снижения, профилактики и/или лечения клинических признаков, вызванных инфекцией PPV, и/или для лечения и/или профилактики заболевания, вызванного инфицированием PPV.

Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает способ иммунизации субъекта, включающий введение такому субъекту иммуногенной композиции, как описывается авторами.

Термин "иммунизация" относится к активной иммунизации путем введения иммуногенной композиции субъекту, подлежащему иммунизации, таким образом, чтобы вызывался иммунный ответ против антигена, включенного в такую иммуногенную композицию.

Предпочтительно в результате иммунизации обеспечивается уменьшение частоты инфицирования PPV в стаде и/или уменьшение тяжести клинических признаков, вызванных конкретной инфекцией PPV или связанных с ней.

Кроме того, результатом иммунизации субъекта, который в ней нуждается, иммуногенными композициями, обеспечиваемыми настоящим изобретением, является предотвращение заражения субъекта инфекцией PPV. В еще более предпочтительном варианте результатом иммунизации является эффективный, длительный иммунологический ответ против инфекции PPV. Следует понимать, что вышеупомянутый период времени должен длиться более 1 месяца, предпочтительно свыше 2 месяцев, более предпочтительно - свыше 3 месяцев, более предпочтительно - свыше 4 месяцев, более предпочтительно - свыше 5 месяцев, более предпочтительно - свыше 6 месяцев. Следует понимать, что иммунизация может не быть эффективной у всех иммунизированных субъектов. Однако термин требует, чтобы значительная часть субъектов в стаде была эффективно иммунизирована.

Предпочтительно в контексте настоящего изобретения предполагается стадо субъектов, в котором в нормальных условиях, т.е. без иммунизации, проявляются клинические признаки, вызываемые инфекцией PPV или связанные с ней. Эффективно ли иммунизированы субъекты стада, можно определить без лишних усилий со стороны специалистов в данной области. Предпочтительно иммунизация считается эффективной, если клинические признаки у по меньшей мере 33%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, еще более предпочтительно - у по меньшей мере 95%, наиболее предпочтительно - у 100% субъектов данного стада снижаются по частоте или тяжести по меньшей мере на 10%, более предпочтительно - по меньшей мере на 20%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 30%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 40%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 50%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 60%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 70%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 80%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 90%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 95%, наиболее предпочтительно - на 100%, по сравнению с субъектами, которые либо не были иммунизированы, либо были иммунизированы иммуногенной композицией, которая имела в наличии до настоящего изобретения, но впоследствии были инфицированы конкретным PPV.

Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения и/или предотвращения клинических признаков, вызванных инфекцией PPV у субъекта, который в этом нуждается, причем способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества иммуногенной композиции, как описывается авторами.

В качестве преимущества, как показывается в разделе примеров данного описания, обеспечиваемая иммуногенная композиция оказалась эффективной в лечении и/или предотвращении клинических признаков, вызываемых инфекцией PPV, у субъекта, который в этом нуждается.

Термин "лечение и/или профилактика" касается снижения частоты случаев конкретной инфекции PPV в стаде и/или снижения тяжести клинических признаков, вызванных конкретной инфекцией PPV или связанных с ней. Таким образом, термин "лечение и/или профилактика" также касается уменьшения количества животных в стаде, инфицированных конкретным PPV (= снижения частоты случаев конкретной инфекции PPV) и/или снижения тяжести клинических признаков, обычно связанных с инфекцией PPV или вызываемых ею, в группе животных, которые получили эффективное количество иммуногенной композиции, предусмотренное в соответствии с изобретением, по сравнению с группой животных, которые не получали такой иммуногенной композиции.

"Лечение и/или профилактика" как правило, включает введение эффективного количества иммуногенной композиции в соответствии с настоящим изобретением субъекту или стаду субъектов, которые нуждаются в таком лечении/профилактике, или для которых такое лечение/профилактика являются благоприятными. Термин "лечение" касается введения эффективного количества иммуногенной композиции после того, как субъект или по меньшей мере некоторые животные из стада уже были инфицированы таким PPV, и такие животные уже проявляли некоторые клинические признаки, вызываемые такой ин-

фекцией PPV или связанные с ней. Термин "профилактика" касается введения субъекту перед любым инфицированием такого субъекта PPV, или ситуацию, когда хотя бы такое животное или ни одно из животных в группе животных не проявляет никаких клинических признаков, вызываемых инфицированием таким PPV, или связанных с ним. Термины "профилактика" и "предотвращение" применяются в этой заявке взаимозаменяемо.

Термин "эффективное количество" в контексте данного описания означает, помимо прочего, количество антигена, которое вызывает или способно вызвать иммунный ответ у субъекта. Такое эффективное количество способно снизить частоту случаев конкретной инфекции PPV в стаде и/или снизить тяжесть клинических признаков конкретной инфекции PPV.

Предпочтительно клинические признаки снижаются по частоте или тяжести по меньшей мере на 10%, более предпочтительно - по меньшей мере на 20%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 30%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 40%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 50%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 60%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 70%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 80%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 90%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 95%, наиболее предпочтительно - на 100%, по сравнению с субъектами, которые не получали лечения или получали иммуногенную композицию, которая имелась в наличии до настоящего изобретения, но впоследствии были инфицированы конкретным PPV.

Термин "клинические признаки" в контексте данного описания касается наличия у субъекта признаков инфекции PPV. Клинические признаки инфекции зависят от выбранного патогена. Примеры таких клинических признаков включают, помимо прочих, переходную лейкопению и репродуктивную недостаточность, характеризующиеся инфицированием и гибелью эмбриона и/или плода, или их комбинации. Примеры прямо наблюдаемых клинических признаков включают уменьшенный размер помета, повышенную мумификацию эмбриона или плода на выводок, аутолизацию эмбриона или плода, уменьшенный размер эмбриона или плода, уменьшенный вес эмбриона или плода и т.п., или их комбинации. Другие примеры таких клинических признаков включают, помимо прочих, повышенную вирусемию, повышенную вирусную нагрузку в тканях-мишенях и крови, повышенная передача/распространение PPV на однопометников и т.п., или их комбинации.

Предпочтительно клинические признаки, которые снижаются по частоте случаев или тяжести у подвергнутого лечению субъекта по сравнению с субъектами, которые либо не подвергались лечению, либо подвергались лечению иммуногенной композицией, которая имелась в наличии до настоящего изобретения, но впоследствии были инфицированы конкретным PPV, касаются переходной лейкопении и репродуктивной недостаточности, характеризующихся инфицированием и гибелью эмбриона и/или плода, или их комбинации.

Термин "нуждающийся" или "нуждается" в контексте данного описания означает, что введение/лечение связано со стимулированием или улучшением состояния здоровья или клинических признаков или любым другим положительным медицинским воздействием на здоровье животных (включая их эмбрионы или плоды), которые получают иммуногенную композицию в соответствии с настоящим изобретением.

Термин "снижение" или "сниженный" или "уменьшение" или "уменьшать" применяются в этой заявке взаимозаменяемо. Термин "снижение" означает, что клинический признак снижается по меньшей мере на 10%, более предпочтительно - по меньшей мере на 20%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 30%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 40%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 50%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 60%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 70%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 80%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 90%, еще более предпочтительно - по меньшей мере на 95% наиболее предпочтительно - на 100% по сравнению с субъектами, не подвергнутыми лечению (иммунизации), но впоследствии инфицированными конкретным PPV.

Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает способ снижения репродуктивной недостаточности у субъекта по сравнению с субъектом неиммунизированной контрольной группы того же вида, причем способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества иммуногенной композиции, как описывается авторами.

В качестве преимущества, как показывается в разделе примеров данного описания, обеспечиваемая иммуногенная композиция оказалась эффективной в снижении репродуктивной недостаточности.

Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает способ снижения смертности эмбриона и плода у субъекта по сравнению с субъектом неиммунизированной контрольной группы того же вида, причем способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества иммуногенной композиции, как описывается авторами.

В качестве преимущества, как показывается в разделе примеров данного описания, обеспечиваемая иммуногенная композиция оказалась эффективной в снижении смертности эмбриона и плода.

Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает способ активной иммунизации племенных свиной (свиноматок и свинок) для защиты эмбрионов и плодов от инфекции свиного парвовируса, причем спо-

соб включает введения таким свиньям (свиноматкам и свинкам) терапевтически эффективного количества иммуногенной композиции, как описывается авторами.

В одном аспекте настоящего изобретения вышеупомянутый субъект выбирают из группы, к которой относятся свиньи, крупный рогатый скот, кошки или собаки.

Предпочтительно вышеупомянутым субъектом является свинья. Следует понимать, что свинья подразумевает животных как женского, так и мужского пола. Сперма может содержать РРV, поэтому самки и самцы племенных животных охватываются определением "свинья". Таким образом, определение "свинья" включает животных мужского пола, таких, как хряки, а также животных женского пола, таких, как свинки и свиноматки.

Термин "свинка" в контексте данного описания предпочтительно относится к свинье до и во время первой супоросности / беременности. В отличие от него, термин "свиноматка" в контексте данного описания предпочтительно относится к свинье после первого опороса - как положительного результата ее первой супоросности / беременности.

В одном аспекте настоящего изобретения вышеупомянутым субъектом является свинья, предпочтительно свинка и/или свиноматка.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенную композицию вводят однократно.

Следует понимать, что разовую дозу вводят лишь один раз.

Объем дозы на субъекта зависит от способа вакцинации и возраста субъекта. Предпочтительно разовая доза имеет общий объем приблизительно от 0,2 до 2,5 мл, более предпочтительно - приблизительно от 0,2 до 2,0 мл, еще более предпочтительно - приблизительно от 0,2 до 1,75 мл, еще более предпочтительно - приблизительно от 0,2 до 1,5 мл, еще более предпочтительно - приблизительно от 0,4 до 1,25 мл, еще более предпочтительно - приблизительно от 0,4 до 1,0 мл, причем наибольшее предпочтение отдается разовой дозе 0,5 или 1,0 мл. Наиболее предпочтительно разовая доза имеет общий объем 0,5, 1, 1,5 или 2 мл.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенную композицию вводят двумя или более дозами.

Как показывается в разделе примеров данного описания, обеспечиваемая иммуногенная композиция оказалась эффективной после введения двух доз субъекту, который в этом нуждается.

Однако иммуногенная композиция может вводиться двумя или более дозами, причем первую дозу вводят перед введением второй (бустерной) дозы. Предпочтительно вторую дозу вводят по меньшей мере через 15 дней после первой дозы. Более предпочтительно вторую дозу вводят между 15 и 40 днями после первой дозы. Еще более предпочтительно вторую дозу вводят по меньшей мере через 17 дней после первой дозы. Еще более предпочтительно вторую дозу вводят между 17 и 30 днями после первой дозы. Еще более предпочтительно вторую дозу вводят по меньшей мере 19 дней после первой дозы. Еще более предпочтительно вторую дозу вводят между 19 и 25 днями после первой дозы. Наиболее предпочтительно вторую дозу вводят по меньшей мере через 21 день после первой дозы. Еще более предпочтительно вторую дозу вводят приблизительно через 21 день после первой дозы или через 21 день после первой дозы. В предпочтительном аспекте двухразового режима введения и первую, и вторую дозы иммуногенной композиции вводят в одинаковом количестве. Предпочтительно каждую дозу вводят в указанном выше предпочтительном количестве, причем наиболее предпочтительной является доза 1 мл или 2 мл для первой и второй дозы. Помимо режима первой и второй дозы, альтернативный вариант осуществления включает дополнительные последующие дозы. Например, в этих аспектах может вводиться третья, четвертая или пятая доза. Предпочтительно последующие третья, четвертую и пятую дозы в этом режиме вводят в таком же количестве, что и первую дозу, с интервалом времени между дозами, соответствующим времени между вышеупомянутыми первой и второй дозами.

Объем дозы на субъекта зависит от способа вакцинации и возраста субъекта. Предпочтительно общий объем составляет приблизительно от 0,2 до 5 мл, более предпочтительно - приблизительно от 0,5 до 3,0 мл, еще более предпочтительно - приблизительно от 1,0 до 2,5 мл, еще более предпочтительно - приблизительно от 1,0 до 2,0 мл. Наиболее предпочтительный объем составляет 1, 1,5, 2 или 2,5 мл на дозу.

Иммуногенную композицию предпочтительно вводят по месту или системно. Подходящими традиционно применяемыми путями введения являются пероральное или парентеральное введение, такое, как интраназальное, внутривенное, внутрикожное, чрескожное, внутримышечное, внутрибрюшинное, подкожное, а также ингаляция. Однако, в зависимости от характера и способа действия соединения, иммуногенная композиция также может вводиться другими путями. Например, к таким путям относятся внутрикожный, внутривенный, внутрисосудистый, внутриартериальный, внутрибрюшинный, интратекальный, интратрахеальный, внутрикожный, интракардиальный, внутридолевой, внутримозговой, внутривлагалищный, ректальный и вагинальный. Однако в более предпочтительном варианте иммуногенную композицию вводят подкожно или внутримышечно. В наиболее предпочтительном варианте иммуногенную композицию вводят внутримышечно.

В одном аспекте настоящего изобретения вышеупомянутую иммуногенную композицию вводят внутримышечно.

В одном аспекте настоящего изобретения вышеупомянутую иммуногенную композицию вводят

свинкам и/или свиноматкам.

Предпочтительно иммуногенную композицию вводят свинкам и/или свиноматкам по меньшей мере 3-месячного возраста, более предпочтительно по меньшей мере 4-месячного возраста, наиболее предпочтительно по меньшей мере 5-месячного возраста.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенную композицию вводят свинкам и/или свиноматкам по меньшей мере 3-месячного возраста.

В одном аспекте настоящего изобретения вышеупомянутую иммуногенную композицию вводят свинкам и/или свиноматкам перед беременностью.

В двухдозовом режиме вторую дозу вышеупомянутой иммуногенной композиции предпочтительно вводят свинкам и/или свиноматкам за 2, 3, 4 или 5 недель до спаривания / осеменения, наиболее предпочтительно - приблизительно за 3 недели до спаривания / осеменения. Предпочтительно первую дозу вышеупомянутой иммуногенной композиции вводят свинкам и/или свиноматкам за 2, 3, 4, 5 или 6 недель до введения второй дозы, наиболее предпочтительно - приблизительно за 3 недели до введения второй дозы. Однако после применения двухдозового режима свинок и/или свиноматок предпочтительно повторно вакцинируют каждые 3, 4, 5, 6, 7 или 8 месяцев, наиболее предпочтительно - приблизительно каждые 6 месяцев.

В одном аспекте настоящего изобретения вышеупомянутую иммуногенную композицию вводят свинкам и/или свиноматкам во время беременности и лактации.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция является безопасной для свиной и/или свиноматок во время беременности и лактации.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция является безопасной для свиной и/или свиноматок после 30 дней беременности, предпочтительно после 40 дней беременности.

Предпочтительно иммуногенная композиция в соответствии с настоящим изобретением включает от 0,1 до 50 мкг, предпочтительно от 0,25 до 25 мкг, более предпочтительно - от 0,5 до 12,5 мкг, еще более предпочтительно - от 0,5 до 5 мкг, наиболее предпочтительно - от 0,5 до 2 мкг антигена PPV VP2. Более предпочтительно иммуногенная композиция в соответствии с настоящим изобретением включает антиген PPV VP2 в соответствии с настоящим изобретением в количестве приблизительно 0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,25, 1,5, 1,75, 2, 2,25, 2,5, 2,75, 3, 3,5, 4, 4,5 или 5 мкг.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция включает от 0,1 до 50 мкг антигена PPV VP2, предпочтительно от 0,5 и 10 мкг антигена PPV VP2.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция защищает от гомологичного и/или гетерологичного провокационного заражения.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция защищает от провокационного заражения североамериканскими и/или европейскими изолятами.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция обеспечивает перекрестный иммунитет от североамериканских и/или европейских изолятов.

В одном аспекте настоящего изобретения в результате выполнения вышеупомянутого способа обеспечивается улучшение параметра эффективности, выбранного из группы, к которой относятся: сниженная переходная лейкопения и репродуктивная недостаточность, характеризующиеся инфицированием и гибелью эмбриона и/или плода, или их комбинации, по сравнению с субъектом неиммунизированной контрольной группы того же вида.

В одном аспекте настоящего изобретения в результате выполнения вышеупомянутого способа обеспечивается улучшение параметра эффективности, выбранного из группы, к которой относятся: уменьшенный размер помета, повышенная мумификация эмбриона или плода на выводок, аутолизация эмбриона или плода, уменьшенный размер эмбриона или плода, уменьшенный вес эмбриона или плода, повышенную виремию, повышенную вирусную нагрузку в тканях-мишенях и крови, повышенная передача / распространение PPV на однопометников, или их комбинации, по сравнению с субъектом неиммунизированной контрольной группы того же вида.

Варианты осуществления

Следующие пункты также описываются авторами:

1. Вирусный белок 2 (VP2) свиного парвовируса (PPV), имеющий:
в аминокислотной позиции 228 глутаминовокислотный остаток или глутаматный остаток; и/или
в аминокислотной позиции 414 сериновый остаток; и/или
в аминокислотной позиции 419 глутаминовый остаток; и/или
в аминокислотной позиции 436 треониновый остаток, причем нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности дикого типа PPV VP2.
2. PPV VP2 по пункту 1, отличающийся тем, что PPV VP2 также имеет:
в аминокислотной позиции 25 изолейциновый остаток; и/или
в аминокислотной позиции 36 сериновый остаток; и/или
в аминокислотной позиции 37 изолейциновый остаток.
3. PPV VP2 по пункту 1 или 2, отличающийся тем, что нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности, показанной в SEQ ID NO: 1.

4. PPV VP2 по любому из пунктов с 1 по 3, отличающийся тем, что PPV VP2 представляет собой рекомбинантный PPV VP2.

5. PPV VP2 по любому из пунктов с 1 по 4, отличающийся тем, что PPV VP2 представляет собой экспрессируемый рекомбинантным бакуловирусом PPV VP2.

6. PPV VP2 по любому из пунктов с 1 по 5, отличающийся тем, что вышеупомянутый PPV VP2 включает или состоит из аминокислотной последовательности, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16.

7. PPV VP2 по любому из пунктов с 1 по 6, отличающийся тем, что вышеупомянутый PPV VP2 включает или состоит из аминокислотной последовательности, которая имеет по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,1%, по меньшей мере 99,2%, по меньшей мере 99,3%, по меньшей мере 99,4%, по меньшей мере 99,5%, по меньшей мере 99,6%, по меньшей мере 99,7%, по меньшей мере 99,8%, или по меньшей мере 99,9% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16.

8. PPV VP2 по любому из пунктов с 1 по 6, отличающийся тем, что вышеупомянутый PPV VP2 включает или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, или SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16 или включает или состоит из любого фрагмента, который имеет по меньшей мере 210, по меньшей мере 250 или по меньшей мере 300 смежных аминокислотных остатков из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16.

9. PPV VP2 по любому из пунктов с 1 по 6, отличающийся тем, что вышеупомянутый PPV VP2 включает или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16.

10. PPV VP2 по любому из пунктов с 1 по 9, отличающийся тем, что вышеупомянутый PPV VP2 кодируется нуклеотидной последовательностью, кодирующей аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16.

11. PPV VP2 по любому из пунктов с 1 по 10, отличающийся тем, что вышеупомянутый PPV VP2 кодируется нуклеотидной последовательностью, кодирующей аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,1%, по меньшей мере 99,2%, по меньшей мере 99,3%, по меньшей мере 99,4%, по меньшей мере 99,5%, по меньшей мере 99,6%, по меньшей мере 99,7%, по меньшей мере 99,8%, или по меньшей мере 99,9% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16.

12. PPV VP2 по любому из пунктов с 1 по 11, отличающийся тем, что вышеупомянутый PPV VP2 кодируется нуклеотидной последовательностью, кодирующей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5-16.

13. Иммуногенная композиция, включающая PPV VP2 по любому из пунктов с 1 по 12.

14. Иммуногенная композиция по пункту 13, отличающаяся тем, что иммуногенную композицию рецептируют для введения разовой дозой.

15. Иммуногенная композиция по пунктам 13 или 14, отличающаяся тем, что иммуногенную композицию вводят внутримышечно.

16. Иммуногенная композиция по любому из пунктов с 13 по 15, отличающаяся тем, что иммуногенная композиция является безопасной для свиней и/или свиноматок во время беременности и лактации.

17. Иммуногенная композиция по любому из пунктов с 13 по 16, отличающаяся тем, что иммуногенная композиция является безопасной для свиней и/или свиноматок после 30 дней беременности, предпочтительно после 40 дней беременности.

18. Иммуногенная композиция по любому из пунктов с 13 по 17, отличающаяся тем, что иммуногенная композиция также включает фармацевтически приемлемый носитель.

19. Иммуногенная композиция по пункту 18, отличающаяся тем, что фармацевтически приемлемым носителем является карбомер.

20. Иммуногенная композиция по любому из пунктов с 13 по 19, отличающаяся тем, что иммуногенная композиция включает от 0,1 до 50 мкг антигена PPV VP2, предпочтительно от 0,5 и 10 мкг антигена PPV VP2.

21. Иммуногенная композиция по любому из пунктов с 13 по 20, отличающаяся тем, что иммуногенная композиция является вакциной.

22. Иммуногенная композиция по любому из пунктов с 13 по 21, отличающаяся тем, что иммуногенная композиция защищает от гомологичного и/или гетерологичного провокационного заражения.

23. Иммуногенная композиция по любому из пунктов с 13 по 22, отличающаяся тем, что иммуно-

генная композиция защищает от провокационного заражения североамериканскими и/или европейскими изолятами.

24. Иммуногенная композиция по любому из пунктов с 13 по 23, отличающаяся тем, что иммуногенная композиция обеспечивает перекрестный иммунитет от североамериканских и/или европейских изолятов.

25. Иммуногенная композиция по любому из пунктов с 13 по 24, отличающаяся тем, что иммуногенная композиция эффективна для лечения и/или профилактики клинических признаков, вызываемых инфекцией PPV у субъекта, который в этом нуждается.

26. Полинуклеотид, включающий последовательность, которая кодирует PPV VP2 по любому из пунктов с 1 по 12.

27. Полинуклеотид, включающий нуклеотидную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,1%, по меньшей мере 99,2%, по меньшей мере 99,3%, по меньшей мере 99,4%, по меньшей мере 99,5%, по меньшей мере 99,6%, по меньшей мере 99,7%, по меньшей мере 99,8%, или по меньшей мере 99,9% идентичности последовательности с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 4.

28. Полинуклеотид, включающий или состоящий из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 4.

29. Вектор, включающий полинуклеотид по любому из пунктов с 26 по 28.

30. Вектор по пункту 29, отличающийся тем, что вектор является вектором экспрессии.

31. Вектор по пункту 29 или 30, отличающийся тем, что вектор является бакуловирусом.

32. Клетка, включающая полинуклеотид по любому из пунктов с 26 по 28 или вектор по любому из пунктов с 29 по 31.

33. Клетка по пункту 32, отличающаяся тем, что клетка является клеткой насекомого.

34. Клетка насекомого по пункту 33, отличающаяся тем, что клетку насекомого выбирают из группы, к которой относятся клетки Sf9 и клетки Sf+.

35. Вирусоподобная частица, включающая PPV VP2 по любому из пунктов с 1 по 12.

36. Вирусоподобная частица по пункту 35, отличающаяся тем, что вирусоподобная частица состоит из множества PPV VP2 по любому из пунктов с 1 по 12.

37. Способ получения PPV VP2 по любому из пунктов с 1 по 12, включающий трансфекцию клетки вектором по любому из пунктов с 29 по 31.

38. Способ получения PPV VP2 по любому из пунктов с 1 по 12, включающий трансфекцию клетки, предпочтительно клетки насекомого, бакуловирусом по пункту 31.

39. Комплект, включающий PPV VP2 или иммуногенную композицию по любому из пунктов с 1 по 25.

40. Комплект по пункту 39, отличающийся тем, что комплект также включает инструкцию по лечению и/или профилактике заболеваний свиней.

41. Комплект по пункту 39, отличающийся тем, что комплект также включает инструкцию по лечению и/или профилактике инфекции PPV.

42. Применение:

PPV VP2 по любому из пунктов с 1 по 12;

иммуногенной композиции по любому из пунктов с 13 по 25;

полинуклеотида по любому из пунктов с 26 по 28;

вектора по любому из пунктов с 29 по 31;

клетки по любому из пунктов с 32 по 34;

бакуловируса по пункту 31; и/или

вирусоподобных частиц по пункту 35 или 36;

для приготовления медикамента, предпочтительно вакцины.

43. Применение PPV VP2 по любому из пунктов с 1 по 12 или иммуногенной композиции по любому из пунктов с 13 по 25 для приготовления медикамента для лечения и/или профилактики инфекции PPV, снижения, профилактики и/или лечения клинических признаков, вызванных инфекцией PPV, и/или для лечения и/или профилактики заболевания, вызванного инфицированием PPV.

44. Способ иммунизации субъекта, включающий введение такому субъекту иммуногенной композиции по любому из пунктов с 13 по 25.

45. Способ лечения и/или предотвращения клинических признаков, вызванных инфекцией PPV у субъекта, который в этом нуждается, причем способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества иммуногенной композиции по любому из пунктов с 13 по 25.

46. Способ снижения репродуктивной недостаточности у субъекта по сравнению с субъектом неиммунизированной контрольной группы того же вида, причем способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества иммуногенной композиции по любому из пунктов с 13 по 25.

47. Способ снижения смертности эмбриона и плода у субъекта по сравнению с субъектом неимму-

низированной контрольной группы того же вида, причем способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества иммуногенной композиции по любому из пунктов с 13 по 25.

48. Способ по любому из пунктов с 44 по 47, отличающийся тем, что вышеупомянутый субъект выбран из списка, включающего свиней, крупный рогатый скот, кошек и собак.

49. Способ по любому из пунктов с 44 по 48, отличающийся тем, что вышеупомянутым субъектом является свинья, предпочтительно свинка и/или свиноматка.

50. Способ по любому из пунктов с 44 по 49, отличающийся тем, что иммуногенную композицию вводят однократно.

51. Способ по любому из пунктов с 44 по 49, отличающийся тем, что иммуногенную композицию вводят двумя или более дозами.

52. Способ по любому из пунктов с 44 по 51, отличающийся тем, что иммуногенную композицию вводят внутримышечно.

53. Способ по любому из пунктов с 44 по 52, отличающийся тем, что иммуногенную композицию вводят свинкам и/или свиноматкам.

54. Способ по любому из пунктов с 44 по 53, отличающийся тем, что иммуногенную композицию вводят свинкам и/или свиноматкам по меньшей мере 3-месячного возраста.

55. Способ по любому из пунктов с 44 по 54, отличающийся тем, что иммуногенную композицию вводят свинкам и/или свиноматкам перед беременностью.

56. Способ по любому из пунктов с 44 по 54, отличающийся тем, что иммуногенную композицию вводят свинкам и/или свиноматкам во время беременности и лактации.

57. Способ по любому из пунктов с 44 по 56, отличающийся тем, что иммуногенная композиция является безопасной для свиней и/или свиноматок во время беременности и лактации.

58. Способ по любому из пунктов с 44 по 57, отличающийся тем, что иммуногенная композиция является безопасной для свиней и/или свиноматок после 30 дней беременности, предпочтительно после 40 дней беременности.

59. Способ по любому из пунктов с 44 по 58, отличающийся тем, что иммуногенная композиция включает от 0,1 и 50 мкг антигена PPV VP2, предпочтительно от 0,5 и 10 мкг антигена PPV VP2.

60. Способ по любому из пунктов с 44 по 59, отличающийся тем, что иммуногенная композиция защищает от гомологичного и/или гетерологичного провокационного заражения.

61. Способ по любому из пунктов с 44 по 60, отличающийся тем, что иммуногенная композиция защищает от провокационного заражения североамериканскими и/или европейскими изолятами.

62. Способ по любому из пунктов с 44 по 61, отличающийся тем, что иммуногенная композиция обеспечивает перекрестный иммунитет от североамериканских и/или европейских изолятов.

63. Способ по любому из пунктов с 44 по 62, отличающийся тем, что в результате выполнения вышеупомянутого способа обеспечивается улучшение параметра эффективности, выбранного из группы, к которой относятся: сниженная переходная лейкопения и репродуктивная недостаточность, характеризующиеся инфицированием и гибелью эмбриона и/или плода, или их комбинации, по сравнению с субъектом неиммунизированной контрольной группы того же вида.

64. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 44 по 63, отличающаяся тем, что в результате выполнения вышеупомянутого способа обеспечивается улучшение параметра эффективности, выбранного из группы, к которой относятся: уменьшенный размер помета, повышенная мумификация эмбриона или плода на выводок, аутолизация эмбриона или плода, уменьшенный размер эмбриона или плода, уменьшенный вес эмбриона или плода, повышенную вирусность, повышенную вирусную нагрузку в тканях-мишенях и крови, повышенная передача / распространение PPV на однопометников, или их комбинации, по сравнению с субъектом неиммунизированной контрольной группы того же вида.

65. Иммуногенная композиция по любому из пунктов с 13 по 25 для применения согласно способу иммунизации субъекта, включающему введение вышеупомянутой иммуногенной композиции такому субъекту.

66. Иммуногенная композиция по любому из пунктов с 13 по 25 для применения согласно способу лечения или предотвращения клинических признаков вызываемых инфекцией PPV, у субъекта, который в этом нуждается, причем способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества вышеупомянутой иммуногенной композиции.

67. Иммуногенная композиция по любому из пунктов с 13 по 25 для применения согласно способу снижения репродуктивной недостаточности у субъекта по сравнению с субъектом неиммунизированной контрольной группы того же вида, причем способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества вышеупомянутой иммуногенной композиции.

68. Иммуногенная композиция по любому из пунктов с 13 по 25 для применения согласно способу снижения смертности эмбриона и плода у субъекта по сравнению с субъектом неиммунизированной контрольной группы того же вида, причем способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества вышеупомянутой иммуногенной композиции.

69. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 65 по 68, отличающаяся

тем, что вышеупомянутый субъект выбран из списка, включающего свиней, крупный рогатый скот, кошек и собак.

70. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 65 по 69, отличающаяся тем, что вышеупомянутым субъектом является свинья, предпочтительно свинка и/или свиноматка.

71. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 65 по 70, отличающаяся тем, что иммуногенную композицию вводят однократно.

72. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 65 по 70, отличающаяся тем, что иммуногенную композицию вводят двумя или более дозами.

73. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 65 по 72, отличающаяся тем, что иммуногенную композицию вводят внутримышечно.

74. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 65 по 73, отличающаяся тем, что иммуногенную композицию вводят свинкам и/или свиноматкам.

75. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 65 по 74, отличающаяся тем, что иммуногенную композицию вводят свинкам и/или свиноматкам по меньшей мере 3-месячного возраста.

76. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 65 по 75, отличающаяся тем, что иммуногенную композицию вводят свинкам и/или свиноматкам перед беременностью.

77. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 65 по 75, отличающаяся тем, что иммуногенную композицию вводят свинкам и/или свиноматкам во время беременности и лактации.

78. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 65 по 77, отличающаяся тем, что иммуногенная композиция является безопасной для свиней и/или свиноматок во время беременности и лактации.

79. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 65 по 78, отличающаяся тем, что иммуногенная композиция является безопасной для свиней и/или свиноматок после 30 дней беременности, предпочтительно после 40 дней беременности.

80. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 65 по 78, отличающаяся тем, что иммуногенная композиция включает от 0,1 мкг и 50 мкг антигена PPV VP2, предпочтительно от 0,5 и 10 мкг антигена PPV VP2.

81. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 65 по 80, отличающаяся тем, что иммуногенная композиция защищает от гомологичного и/или гетерологичного провокационного заражения.

82. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 65 по 81, отличающаяся тем, что иммуногенная композиция защищает от провокационного заражения североамериканскими и/или европейскими изолятами.

83. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 65 по 82, отличающаяся тем, что иммуногенная композиция обеспечивает перекрестный иммунитет от североамериканских и/или европейских изолятов.

84. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 65 по 83, отличающаяся тем, что в результате выполнения вышеупомянутого способа обеспечивается улучшение параметра эффективности, выбранного из группы, к которой относятся: сниженная переходная лейкопения и репродуктивная недостаточность, характеризующиеся инфицированием и гибелью эмбриона и/или плода, или их комбинации, по сравнению с субъектом неиммунизированной контрольной группы того же вида.

85. Иммуногенная композиция для применения по любому из пунктов с 65 по 84, отличающаяся тем, что в результате выполнения вышеупомянутого способа обеспечивается улучшение параметра эффективности, выбранного из группы, к которой относятся: уменьшенный размер помета, повышенная мумификация эмбриона или плода на выводок, аутолизация эмбриона или плода, уменьшенный размер эмбриона или плода, уменьшенный вес эмбриона или плода, повышенную вирусную нагрузку в тканях-мишенях и крови, повышенную передачу / распространение PPV на однопометников, или их комбинации, по сравнению с субъектом неиммунизированной контрольной группы того же вида.

86. Способ активной иммунизации племенных свиней (свиноматок и свинок) для защиты эмбрионов и плодов от инфекции свиного парвовируса, причем способ включает введения таким свиньям (свиноматкам и свинкам) терапевтически эффективного количества иммуногенной композиции по пунктам с 13 по 25.

87. Иммуногенная композиция по любому из пунктов с 13 по 25 для применения согласно способу активной иммунизации племенных свиней (свиноматок и свинок) для защиты эмбрионов и плодов от инфекции свиного парвовируса, причем способ включает введения таким свиньям (свиноматкам и свинкам) терапевтически эффективного количества вышеупомянутой иммуногенной композиции.

Примеры

Следующие примеры представлены ниже для пояснения конкретных вариантов осуществления настоящего изобретения. Эти примеры являются лишь пояснительными, их не следует рассматривать в качестве ограничивающих объем или принципы, лежащие в основе настоящего изобретения.

Пример 1.

Приготовление субъединичной вакцины против PPV.

Антиген PPV VP2 выбирают для экспрессии в инфицированных бакуловирусом клетках насекомых на основе немецкого изолята PPV 27a. Нуклеотидную последовательность свиного парвовируса (PPV) 27a VP2 получают от Genbank под номером доступа AY684871.1. Кодирующий участок PPV 27a VP2 является подвергнутым обратной трансляции и кодон-оптимизированным для *Drosophila* (SEQ ID NO: 4 и SEQ ID NO: 3). Кодон-оптимизированный ген PPV 27a VP2 химически синтезирован в Integrated DNA Technologies. Ген PPV 27a затем субклонировать в бакуловирусный вектор переноса pVL1393 и совместно трансфицируют с линейризованным остовом бакуловируса DiamondBac® в клетки насекомых Sf9 для генерации рекомбинантного бакуловируса, содержащего ген PPV 27a VP2, под контролем полиэдринового промотора.

При экспрессии в клетках насекомых Sf9 PPV VP2 самоорганизуется в безоболочечный VLP (данные не показаны).

Антиген PPV VP2 дополняется карбомером в качестве адьюванта (Carbopol).

Пример 2.

Ранняя стадия клинического исследования вакцины против PPV.

Во всех исследованиях на животных животные имеют хорошее состояние здоровья и алиментарный статус перед началом исследования. Перед процедурой рандомизации проводят медицинское обследование. Нелекарственный корм используют на протяжении всего исследования. Рацион питания подбирают согласно возрасту, состоянию и виду испытуемого животного в соответствии с утвержденной для центра стандартной рабочей процедурой. Воду обеспечивали *ad libitum* в течение всего исследования.

Цель этого исследования провокационной вакцинации состоит в обеспечении доказательства эффективности концепции определения дозы для предслучной субъединичной вакцины против свиного парвовируса (PPV) (см. пример 1). Свинок вакцинируют и осеменяют перед провокацией изолятом живого вирулентного PPV (PPV 002346-5; североамериканский штамм) приблизительно после 40 дней беременности (dG). Плоды оценивают на наличие инфекции PPV приблизительно после 90 dG.

План исследования описывается в табл. 1.

Таблица 1
План исследования

Лечение		Вакцинация	Осеменение	Оценка беременности	Провокация	Вскрытие
T1	Отрицательный контроль	2 мл на D0 прав. шея IM и 2 мл на D21 лев. шея IM	D34 – D42	D71	6 мл на D80 (~40dG) PPV 002346-5 прав. шея IM и IN	D129/130 (~90dG)
T2	PPV 10 мкг					
T3	Положительный контроль (цельноклеточный инактивированный PPV)					
NTX	Нет	Не применяется			Не применяется	D79 (39dG)

NTX = контроль без лечения / провокации; IN = интраназальное; IM = внутримышечное; dG = дней беременности.

Используют шестьдесят семь свинок из стада, ранее испытанного на отсутствие PPV, с отсутствующей историей заболеваний репродуктивной системы или вакцинации против PPV. Свинок рандомизированно разбивают по 6 экспериментальным группам (Т) n=9, объединенных в 3 загона, получающих вакцинацию на D0 и стимуляцию на D21: T1 NC (отрицательный контроль, получающий воду для инъекций), T2 PPV 10 мкг, T3 PC (положительный контроль; цельный, инактивированный свиной парвовирус (PPV), *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. hardjo*, *L. icterohaemorrhagiae* и *L. Pomona*; серийного производства; применяются в соответствии с инструкцией производителя). Включают не получавших лечения контрольных (NTX) свинок, по одной на загон. После вакцинации свинок синхронизируют (путем введения Matrix®; altrenogest, Intervet Schering-Plough Animal Health; согласно маркировке в течение 14 последовательных дней, с D18 по D31), а затем спаривали между D35 и D42. Пятьдесят четыре из 67 свинок забеременели. На D80 (приблизительно 40 dG), NTX-свинок подвергают вскрытию, а остальных свинок инокулируют 6 мл штамма PPV PPV002346-5 (североамериканский штамм) в количестве 4,25 log₁₀TCID₅₀ на дозу (2 мл внутримышечно и 2 мл в каждую ноздрю интраназально). У свинок еженедельно брали кровь, за исключением периодов синхронизации и спаривания (D35 -D70). Серологическое исследование выполняют на образцах сыворотки, взятых на D0, D7, D14, D21, D28 и D73; серологическое исследование и полимеразную цепную реакцию (ПЦР) (как описывается в публикации Jozwik et al. 2009; Journal of General Virology, 90, 2437-2441) на виремию выполняют

на образцах сыворотки, взятых на D80, D87, D94, D101, D108, D115, D122 и D128. Свинок подвергают вскрытию на D129 или D130 (приблизительно 90 dG). При вскрытии каждый репродуктивный тракт извлекают и записывают позицию плода в матке, состояние плода, его размер и вес. Собирают образцы торакальной промывки и легких каждого плода. Образцы торакальной промывки собирают в асептических условиях с каждого плода. В общих чертах, 3 мл стерильного PBS путем инъекции вводят в грудную полость при помощи стерильной иглы и шприца. Жидкость отсасывают назад в шприц и вводят в соответствующую стерильную SST (пробирку для отделения сыворотки) подходящего размера. Образцы торакальной промывки испытывают на наличие PPV при помощи ПЦР и на наличие антитела PPV при помощи ингибирования геммагглютинации (HI). Легочную ткань хранят в замороженном виде.

Виремия свинок (PPV).

Все свинки являются отрицательными на вирус PPV перед провокацией на D0, D73 (данные не показаны) и D80 (табл. 2). Все отрицательные контрольные животные являются вирусемическими на D87, и 4/7 являются вирусемическими на D94.

Поствакцинационные свинки T3 сероконвертируются после бустерной вакцинации. T2 обнаруживает серологические ответ на первоначальную вакцинацию и остается сероположительным после бустерной вакцинации. Контрольные свинки T1 остаются серологически отрицательными в отношении PPV до провокации. После провокации все отрицательные контрольные свинки являются вирусемическими на D87 (через семь дней после провокации). Одна свинка T3 является вирусемической на D87. Все остальные свинки не являются вирусемическими в эти моменты времени (см. табл. 2).

Свинки NTX оставались серологически отрицательными, и их плоды были отрицательными на PPV согласно ПЦР на образцах торакальной промывки.

Таблица 2

Распределение частоты PPV-положительных свинок (ПЦР), получивших провокационную дозу PPV после 40 дней беременности (dG) на D80

Лечение / описание		День исследования (dG =дней беременности)							
		D80 dG 40	D87 dG 47	D94 dG 54	D101 dG 61	D108 dG 68	D115 dG 75	D122 dG 82	D128 dG 89
T1	Отрицательный контроль	0/7	7/7	4/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7
T2	10 мкг PPV	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
T3	Положительный контроль (цельноклеточный инактивированный PPV)	0/9	1/9	0/9	0/9	0/9	0/8	0/8	0/8
NTX	Нет	0/3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

NA = не применяется.

Результаты плодов.

Все плоды NTX считаются нормальными согласно вскрытию на D80 (табл. 3). При окончательном вскрытии на D129 и D130 22,5% плодов T1 (отрицательный контроль) являются нормальными, и при этом 98,39% плодов в T3 и 97,62% плодов в T2 являются нормальными. Средний размер и вес плодов T1 (отрицательный контроль) составляет 11,5 см и 168,8 г, соответственно, тогда как средний размер и вес плодов в T2 составляет 17,5 см и 590,1 г, соответственно.

Все плоды T4 (NTX) являются отрицательными на PPV согласно ПЦР на образцах торакальной промывки (см. табл. 3). Инфекция PPV подтверждается в 67/80 отрицательных контрольных плодов T1 (83,75%). Шестьдесят два из 67 отрицательных контрольных плодов, подтвержденных как инфицированные PPV, являются мумиями. В отличие от них, инфекция PPV подтверждается лишь у 0,79% плодов T2.

На основе определяющих параметров эффективности, как указывается в Европейской фармакопее (монография 01/2008: 0965), можно прийти к заключению, что все вакцины [включая положительный контроль (цельноклеточный инактивированный PPV)] отвечают критериям защиты от инфекции (>80% плодов, отрицательных на PPV).

Таблица 3

Детали помета: количество, размер, вес и состояние плодов и лабораторное подтверждение инфекции PPV (ПЦР на образцах торакальной промывки)

Лечение	T1	T2	T3	T4
Описание	NC	PPV 10 мкг	Положительный контроль (цельнокл. инактивированный PPV)	NTX*
# свинок	5	8	9	3
Общ. # плодов	80	126	124	44
Средн. размер помета	16,0	15,8	13,8	14,7
Состояние плода:				
Мумии	62	3	2	0
Нормальное	18	123	122	44
% нормальных	22,50	97,62	98,39	100,0
Средний размер (см)	11,5	17,5	17,8	6,0
Средний вес (г)	168,8	590,1	580,3	11,9
Лабораторное подтверждение инфекции PPV:				
# PPV+ плоды	67	1	3	0
% положительных	83,75	0,79	2,42	0,0
% защищенных	16,25	99,21	97,58	
* Вскрытие плодов NTX после 50 дней беременности NC = Отрицательный контроль				

Заключение.

Вакцина против PPV в соответствии с настоящим изобретением продемонстрировала защиту плодов после провокации вирулентным гетерологичным PPV. Результаты исследования показывают, что вакцина безопасна при введении в предслучный период и эффективна для существенного снижения виремии и трансплацентарной инфекции плодов. Кроме того, было продемонстрировано, что вакцина защищает от гетерологичного североамериканского штамма PPV для провокационного заражения. Кроме того, было продемонстрировано, что субъединичный белок PPV VP2 является столь же эффективным, как и цельный убитый вирус.

Пример 3.

Установление минимальной иммунизирующей дозы вакцины против ppv - защита от гетерологичного североамериканского штамма PPV.

Цель этого исследования провокационной вакцинации состоит в установлении минимальной иммунизирующей дозы (MID) для вакцины против свиного парвовируса (PPV). Свинкам вводят провоцирующую дозу изолята живого вирулентного PPV серотипа 1 (PPV 002346-5) приблизительно после 40 дней беременности (dG). Вакцина считается эффективной, если $\geq 80\%$ плодов в вакцинированной группе являются отрицательными на PPV после провокации. К подтверждающим параметрам относятся размер, вес и состояние плода, статус виремии свинок после провокации и серологический статус свинок.

Свинок (с отсутствующей историей заболеваний репродуктивной системы или вакцинации от PPV) рандомизированно разбивают по экспериментальным группам: T01 = отрицательный контроль (соответствующее продукту плацебо (PMP)) и T02=1,0 мкг PPV/2 мл дозу). Свинок без лечения / провокации (NTX) рандомизированно распределяют по загонам в качестве контрольных животных для общего состояния здоровья.

Свинки получают 2 мл соответствующего лекарственного препарата внутримышечно на D0 и D21. После вакцинации свинок спаривают между D37 и D50, а затем оценивают состояние беременности на D74. На D81 беременным свинкам вводят провоцирующую дозу $6,77 \log_{10}$ TCID₅₀/6 мл PPV серотипа 1 внутримышечно и интраназально. У свинок еженедельно берут кровь, за исключением периодов синхронизации и спаривания (D36-D73). Анализы ингибирования гемагглютинации (HI) выполняют на образцах сыворотки, взятых на D7, D14, D21, D28 и D35; HI и полимеразную цепную реакцию (ПЦР) (см. Пример 2) на виремию выполняют на образцах сыворотки, взятых на D-3, D74, D80, D88, D95, D102 и D127. Свинок подвергают вскрытию на D128 и D129 (приблизительно 90 dG). При вскрытии репродуктивный тракт каждой свиноматки извлекают и записывают позицию плода в матке, состояние плода, его размер и вес. Образцы торакальной промывки (см. пример 2) собирают с каждого плода и испытывают на наличие PPV при помощи ПЦР.

Виремия свинок (PPV).

Вакцины считаются безопасными, поскольку у животных не обнаруживается отклонений температуры тела через 24 или 48 ч после вакцинации, аномальных местных реакций, обусловленных действием вакцины, и клинических признаков, связанных с вакцинацией (данные не показаны).

Все свинки являются отрицательными на виремию PPV перед вакцинацией, перед провокацией на D74 и на D80. Таким образом, после вакцинации клинические признаки, связанные с введением вакцины, не наблюдаются. На D88 все десять свинок T01 являются вiremическими, и все вакцинированные свинки

являются отрицательными. Все остальные образцы крови, взятые на D95, D102 и D127, являются отрицательными на вирус PPV для всех экспериментальных групп (табл. 4).

Таблица 4

Распределение частоты PPV-положительных свинок (ПЦР), получивших провокационную дозу PPV после ~40 дней беременности (dG) на D81

Лечение / описание	День исследования / дни беременности (dG)					
	D74 dG 32	D80 dG 38	D88 dG 46	D95 dG 53	D102 dG 60	D127 dG 85
T01 Отрицательный контроль	0/12	0/12	10/10*	0/10	0/10	0/10
T02 PPV (1,0 мкг/дозу)	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12

* у 2 свинок было диагностировано отсутствие беременности, и, таким образом, они были исключены из группы.

Результаты плодов.

При окончательном вскрытии на D128 и D129, 38% из плодов T01 (отрицательный контроль) пребывают в нормальном состоянии, тогда как в вакцинированной группе в нормальном состоянии пребывают 95% плодов. Средний размер и вес плодов T01 (отрицательный контроль) составляют 14,4 см и 245,9 г, соответственно, тогда как средний размер и вес плодов у вакцинированных свинок составляет 19,3 см и 550 г, соответственно (табл. 5). Таким образом, вакцинированная группа отвечает критериям защиты от инфекции PPV, поскольку согласно определяющему параметру для эффективности против PPV, установленному в Ph. Eug. 01/2008:0965, >80% плодов в экспериментальной группе должны быть отрицательными на PPV.

Инфекция PPV подтверждается у 113/146 отрицательных контрольных плодов (T01) (77%). Однако инфекция PPV в вакцинированной группе (T02) составляет всего 10%.

Таблица 5

Детали помета: количество, размер, вес и состояние плодов, и лабораторное подтверждение инфекции PPV ПЦР на образцах торакальной промывки)

Лечение	T01	T02
Описание	Отрицательный контроль	PPV 1мкг
# свинок	10	11
Общее кол-во плодов	146	148
Средн. размер помета	14,6	13,5
Состояние плода:		
# некротич. (%)	9 (6 %)	0 (0 %)
# мумий (%)	82 (56 %)	8 (5 %)
# нормальных (%)	55 (38 %)	140 (95 %)
Средний размер (см)	14,4	19,3
Средний вес (г)	245,9	550,0
Лабораторное подтверждение инфекции PPV:		
# плодов с полож. торакал. пром. (%)	113 (77 %)	15 (10 %)
% защищенных		90 %
# = количество, % = процент		

Заключение.

Субъединичная вакцина против PPV VP2 в соответствии с настоящим изобретением демонстрирует защиту плодов после провокации вирулентным гетерологичным PPV. Результаты этого исследования обнаруживают, что вакцина является безопасной и эффективной для предотвращения вирусемии у свинок и инфекция PPV у плодов при применении всего 1 мкг субъединичной вакцины PPV VP2. Кроме того, продемонстрировано, что вакцина защищает от гетерологичного североамериканского штамма для провокационного заражения.

Пример 4.

Установление минимальной иммунизирующей дозы вакцины против ppv - защита от гетерологичного европейского штамма PPV.

Цель этого исследования состоит в оценке начала иммунитета, обеспечиваемого вакциной от свиного парвовируса (также называемой вакциной против PPV или PPV VP2). Кроме того, безопасность и эффективность оценивают с применением плана рандомизированного, слепого исследования с отрицательным контролем, включающего вакцинацию и провокацию.

Свинок рандомизированно разбивают на три группы. В группах 1 и 2 свинок вакцинируют дважды, с трехнедельным интервалом (на D0 и D21). Вторую дозу вводят за три недели до спаривания. Все лекарственные препараты вводят внутримышечным (ИМ) путем в объеме 2 мл. Группа 2 получает вакцину против PPV, тогда как группа 1 является плацебо-группой, получающей стерильный разбавитель в качестве контрольного продукта, и группа 3 служит в качестве строгого контроля, без какого бы то ни было лечения.

Свинок синхронизируют по эструсу и через три недели после второй вакцинации искусственно осеменяют. Забеременевшие животные на D84 между 39-м и 42-м днями беременности получают провоцирующую дозу вирулентного, гетерологичного штамма PPV.

На D132-135, приблизительно после 90-го дня беременности, свинок умерщвляют, подвергают вскрытию и исследуют плоды.

Таблица 6
План исследования

Группа	1-е лечение D0 (2 мл в прав. стор. шеи IM)	2-е лечение D21 (2 мл в лев. стор. шеи IM)	Провокация D84 6,0 Log ₁₀ TCID ₅₀ /6 мл) доза (~40dG) 2 мл прав. шея IM и 2 мл в каждую ноздрю интраназально	Вскрытие
1 (Отрицательный контроль)	Контрольный продукт	Контрольный продукт	Евр. штамм PPV 401/09 (198669)	D132 - D135
2	PPV (1 мкг/дозу)	PPV (1 мкг/дозу)	Евр. штамм PPV 401/09 (198669)	D132 - D135
3 (Строгий контроль)	-	-	Без провокации	D83

Оценка виремии PPV у свинок до и после провокации при помощи ПЦР.

Все животные являются отрицательными на PPV согласно ПЦР на D-6 и D-1 перед вакцинацией, что соответствует критериям включения. После вакцинации все животные в группах строгого контроля и контрольного продукта являются отрицательными на антиген PPV до провокации, и, таким образом, инфекция PPV до провокации может быть исключена.

Виремию исследуют на 7 (D90), 14 (D97) и 21 (D104) дни после провокации и в день вскрытия. После провокации у вакцинированных животных виремия не обнаруживается, виремия имеет место только у невакцинированных контрольных животных.

На D90, (через 7 дней после провокации) уже 95% невакцинированных контрольных животных являются положительными на PPV. На D97 60% этих животных все еще имели положительный результат, тогда как на D104 все испытанные животные оказались отрицательными на PPV. В отличие от них, в вакцинированной группе все животные, испытанные на D90, D97 или D104, являются отрицательными на PPV.

Таблица 7
Количество животных с виремией после провокации

	7 дней после провокации (D90)	14 дней после провокации (D97)	21 день после провокации (D104)
Контроль	19/20 (95 %)	12/20 (60 %)	0/20
PPV	0/20	0/20	0/20

Результаты плодов.

Процент инфицированных PPV плодов составлял 91,4% в контрольной группе, но лишь 4,3% в группе PPV (см. табл. 8).

Таблица 8
Процент положительных плодов на группу и размер помета

Группа	N Кол-во свинок	N Кол-во плодов	N Кол-во полож. плодов	% PPV- полож. (ПЦР) плодов для режима лечения ¹	N Средний размер помета	Мин. % положительных плодов на выводок	Макс. % положительных плодов на выводок
Контроль	19	269	246	91,4	14,2	57	100
PPV	19	231	10	4,3	12,2	0	20

¹ Кол-во PPV-положительных плодов/Кол-во плодов на группу. N - общее количество.

Оценка состояния плодов.

Все плоды оценивали на их состояние и разделяли на три категории: нормальные, мумифицированные и аутолизированные.

Большинство мумифицированных и аутолизированных плодов обнаруживается в контрольной группе. Лишь 39,8% плодов в этой группе пребывают в нормальном состоянии, тогда как в вакцинированных группах 97,4% (PPV-группа) плодов имеют нормальное состояние (см. табл. 9).

Таблица 9
Состояние плода

Группа	Состояние плода			
	[% нормальных]	[% аутолизированных]	% мумифицированных]	[N (всего)]
Контроль	39,8 %	12,3 %	48,0 %	269
PPV	97,4 %	0,9 %	1,7 %	231

Заключение.

Вакцина против PPV в соответствии с настоящим изобретением демонстрирует защиту плодов после провокации вирулентным гетерологичным PPV, что свидетельствует о том, что вакцина является безопасной и эффективной для профилактики виремии и инфицирования плода PPV при применении всего 1 мкг вакцины. Кроме того, продемонстрировано, что вакцина также защищает от гетерологичного европейского штамма для провокационного заражения PPV. Таким образом, вакцина обладает широким спектром защиты, поскольку вакцина защищает от гетерологичных североамериканских, а также гетерологичных европейских штаммов для провокационного заражения.

Все композиции и способы, которые раскрываются и заявляются авторами, могут быть получены и выполнены без лишних экспериментов в свете представленного описания. Хотя композиции и способы согласно настоящему изобретению были описаны на примерах предпочтительных вариантов осуществления, специалистам в данной области станет понятна возможность внесения изменений в композиции и способы и этапы или последовательность этапов описанного авторами способа без отклонения от идеи, сущности и объема изобретения. Более конкретно, станет очевидно, что некоторые агенты, которые являются химически и физиологически родственными, могут замещать описанные авторами агенты при достижении таких же или подобных результатов. Все подобные замещения и модификации, являющиеся очевидными для специалистов в данной области, считаются охватываемыми сущностью, объемом и идеей изобретения, которые определяются представленной ниже формулой изобретения.

Перечень последовательностей

<110> БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ ВЕТМЕДИКА ГМБХ

<120> ВАКЦИНА ПРОТИВ СВИНОГО ПАРВОВИРУСА

<130> 01-3228

<160> 16

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 579

<212> PRT

<213> Свиной парвовирус

<400> 1

Met Ser Glu Asn Val Glu Gln His Asn Pro Ile Asn Ala Gly Thr Glu
1 5 10 15

Leu Ser Ala Thr Gly Asn Glu Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Arg Gly Ala Gly Gly Val Gly Val Ser Thr Gly Ser Phe Asn Asn
35 40 45

Gln Thr Glu Phe Gln Tyr Leu Gly Glu Gly Leu Val Arg Ile Thr Ala
50 55 60

His Ala Ser Arg Leu Ile His Leu Asn Met Pro Glu His Glu Thr Tyr
65 70 75 80

Lys Arg Ile His Val Leu Asn Ser Glu Ser Gly Val Ala Gly Gln Met
85 90 95

Val Gln Asp Asp Ala His Thr Gln Met Val Thr Pro Trp Ser Leu Ile
100 105 110

Asp Ala Asn Ala Trp Gly Val Trp Phe Asn Pro Ala Asp Trp Gln Leu
115 120 125

045363

Ile Ser Asn Asn Met Thr Glu Ile Asn Leu Val Ser Phe Glu Gln Glu
 130 135 140
 Ile Phe Asn Val Val Leu Lys Thr Ile Thr Glu Ser Ala Thr Ser Pro
 145 150 155 160
 Pro Thr Lys Ile Tyr Asn Asn Asp Leu Thr Ala Ser Leu Met Val Ala
 165 170 175
 Leu Asp Thr Asn Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Arg Ser
 180 185 190
 Glu Thr Leu Gly Phe Tyr Pro Trp Leu Pro Thr Lys Pro Thr Gln Tyr
 195 200 205
 Arg Tyr Tyr Leu Ser Cys Thr Arg Asn Leu Asn Pro Pro Thr Tyr Thr
 210 215 220
 Gly Gln Ser Glu Gln Ile Thr Asp Ser Ile Gln Thr Gly Leu His Ser
 225 230 235 240
 Asp Ile Met Phe Tyr Thr Ile Glu Asn Ala Val Pro Ile His Leu Leu
 245 250 255
 Arg Thr Gly Asp Glu Phe Ser Thr Gly Ile Tyr His Phe Asp Thr Lys
 260 265 270
 Pro Leu Lys Leu Thr His Ser Trp Gln Thr Asn Arg Ser Leu Gly Leu
 275 280 285
 Pro Pro Lys Leu Leu Thr Glu Pro Thr Thr Glu Gly Asp Gln His Pro
 290 295 300
 Gly Thr Leu Pro Ala Ala Asn Thr Arg Lys Gly Tyr His Gln Thr Ile
 305 310 315 320
 Asn Asn Ser Tyr Thr Glu Ala Thr Ala Ile Arg Pro Ala Gln Val Gly
 325 330 335
 Tyr Asn Thr Pro Tyr Met Asn Phe Glu Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Phe
 340 345 350
 Leu Thr Pro Ile Val Pro Thr Ala Asp Thr Gln Tyr Asn Asp Asp Glu
 355 360 365
 Pro Asn Gly Ala Ile Arg Phe Thr Met Gly Tyr Gln His Gly Gln Leu
 370 375 380
 Thr Thr Ser Ser Gln Glu Leu Glu Arg Tyr Thr Phe Asn Pro Gln Ser
 385 390 395 400
 Lys Cys Gly Arg Ala Pro Lys Gln Gln Phe Asn Gln Gln Ser Pro Leu
 405 410 415
 Asn Leu Gln Asn Thr Asn Asn Gly Thr Leu Leu Pro Ser Asp Pro Ile
 420 425 430
 Gly Gly Lys Thr Asn Met His Phe Met Asn Thr Leu Asn Thr Tyr Gly
 435 440 445
 Pro Leu Thr Ala Leu Asn Asn Thr Ala Pro Val Phe Pro Asn Gly Gln
 450 455 460

045363

Ile Trp Asp Lys Glu Leu Asp Thr Asp Leu Lys Pro Arg Leu His Val
 465 470 475 480

Thr Ala Pro Phe Val Cys Lys Asn Asn Pro Pro Gly Gln Leu Phe Val
 485 490 495

Lys Ile Ala Pro Asn Leu Thr Asp Asp Phe Asn Ala Asp Ser Pro Gln
 500 505 510

Gln Pro Arg Ile Ile Thr Tyr Ser Asn Phe Trp Trp Lys Gly Thr Leu
 515 520 525

Thr Phe Thr Ala Lys Met Arg Ser Ser Asn Met Trp Asn Pro Ile Gln
 530 535 540

Gln His Thr Thr Thr Ala Glu Asn Ile Gly Asn Tyr Ile Pro Thr Asn
 545 550 555 560

Ile Gly Gly Ile Lys Met Phe Pro Glu Tyr Ser Gln Leu Ile Pro Arg
 565 570 575

Lys Leu Tyr

<210> 2
 <211> 579
 <212> PRT
 <213> СВИНОЙ парвовирус
 <400> 2

Met Ser Glu Asn Val Glu Gln His Asn Pro Ile Asn Ala Gly Thr Glu
 1 5 10 15

Leu Ser Ala Thr Gly Asn Glu Ser Ile Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 20 25 30

Gly Arg Gly Ser Ile Gly Val Gly Val Ser Thr Gly Ser Phe Asn Asn
 35 40 45

Gln Thr Glu Phe Gln Tyr Leu Gly Glu Gly Leu Val Arg Ile Thr Ala
 50 55 60

His Ala Ser Arg Leu Ile His Leu Asn Met Pro Glu His Glu Thr Tyr
 65 70 75 80

Lys Arg Ile His Val Leu Asn Ser Glu Ser Gly Val Ala Gly Gln Met
 85 90 95

Val Gln Asp Asp Ala His Thr Gln Met Val Thr Pro Trp Ser Leu Ile
 100 105 110

Asp Ala Asn Ala Trp Gly Val Trp Phe Asn Pro Ala Asp Trp Gln Leu
 115 120 125

Ile Ser Asn Asn Met Thr Glu Ile Asn Leu Val Ser Phe Glu Gln Glu
 130 135 140

Ile Phe Asn Val Val Leu Lys Thr Ile Thr Glu Ser Ala Thr Ser Pro
 145 150 155 160

Pro Thr Lys Ile Tyr Asn Asn Asp Leu Thr Ala Ser Leu Met Val Ala
 165 170 175

Leu Asp Thr Asn Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Arg Ser

045363

	180		185		190														
Glu	Thr	Leu	Gly	Phe	Tyr	Pro	Trp	Leu	Pro	Thr	Lys	Pro	Thr	Gln	Tyr				
		195					200					205							
Arg	Tyr	Tyr	Leu	Ser	Cys	Thr	Arg	Asn	Leu	Asn	Pro	Pro	Thr	Tyr	Thr				
	210					215					220								
Gly	Gln	Ser	Glu	Gln	Ile	Thr	Asp	Ser	Ile	Gln	Thr	Gly	Leu	His	Ser				
225					230					235					240				
Asp	Ile	Met	Phe	Tyr	Thr	Ile	Glu	Asn	Ala	Val	Pro	Ile	His	Leu	Leu				
				245					250					255					
Arg	Thr	Gly	Asp	Glu	Phe	Ser	Thr	Gly	Ile	Tyr	His	Phe	Asp	Thr	Lys				
			260					265					270						
Pro	Leu	Lys	Leu	Thr	His	Ser	Trp	Gln	Thr	Asn	Arg	Ser	Leu	Gly	Leu				
		275					280					285							
Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Thr	Glu	Pro	Thr	Thr	Glu	Gly	Asp	Gln	His	Pro				
	290					295					300								
Gly	Thr	Leu	Pro	Ala	Ala	Asn	Thr	Arg	Lys	Gly	Tyr	His	Gln	Thr	Ile				
305					310					315					320				
Asn	Asn	Ser	Tyr	Thr	Glu	Ala	Thr	Ala	Ile	Arg	Pro	Ala	Gln	Val	Gly				
				325					330					335					
Tyr	Asn	Thr	Pro	Tyr	Met	Asn	Phe	Glu	Tyr	Ser	Asn	Gly	Gly	Pro	Phe				
			340					345					350						
Leu	Thr	Pro	Ile	Val	Pro	Thr	Ala	Asp	Thr	Gln	Tyr	Asn	Asp	Asp	Glu				
		355					360						365						
Pro	Asn	Gly	Ala	Ile	Arg	Phe	Thr	Met	Gly	Tyr	Gln	His	Gly	Gln	Leu				
	370					375					380								
Thr	Thr	Ser	Ser	Gln	Glu	Leu	Glu	Arg	Tyr	Thr	Phe	Asn	Pro	Gln	Ser				
385					390					395					400				
Lys	Cys	Gly	Arg	Ala	Pro	Lys	Gln	Gln	Phe	Asn	Gln	Gln	Ser	Pro	Leu				
				405					410					415					
Asn	Leu	Gln	Asn	Thr	Asn	Asn	Gly	Thr	Leu	Leu	Pro	Ser	Asp	Pro	Ile				
			420					425					430						
Gly	Gly	Lys	Thr	Asn	Met	His	Phe	Met	Asn	Thr	Leu	Asn	Thr	Tyr	Gly				
		435					440					445							
Pro	Leu	Thr	Ala	Leu	Asn	Asn	Thr	Ala	Pro	Val	Phe	Pro	Asn	Gly	Gln				
	450					455					460								
Ile	Trp	Asp	Lys	Glu	Leu	Asp	Thr	Asp	Leu	Lys	Pro	Arg	Leu	His	Val				
465					470					475					480				
Thr	Ala	Pro	Phe	Val	Cys	Lys	Asn	Asn	Pro	Pro	Gly	Gln	Leu	Phe	Val				
				485					490					495					
Lys	Ile	Ala	Pro	Asn	Leu	Thr	Asp	Asp	Phe	Asn	Ala	Asp	Ser	Pro	Gln				
			500					505					510						

045363

Gln Pro Arg Ile Ile Thr Tyr Ser Asn Phe Trp Trp Lys Gly Thr Leu
 515 520 525
 Thr Phe Thr Ala Lys Met Arg Ser Ser Asn Met Trp Asn Pro Ile Gln
 530 535 540
 Gln His Thr Thr Thr Ala Glu Asn Ile Gly Asn Tyr Ile Pro Thr Asn
 545 550 555 560
 Ile Gly Gly Ile Lys Met Phe Pro Glu Tyr Ser Gln Leu Ile Pro Arg
 565 570 575

Lys Leu Tyr

<210> 3
 <211> 1760
 <212> ДНК
 <213> Свиной парвовирус
 <400> 3

```

ggatccgccca ccatgtccga gaacgtggag cagcacaacc cgataaacgc aggcacagag      60
ctgtcggcgca ctggcaatga gagcggaggc ggaggcgggcg gaggaggtgg acgcggcgca      120
ggcggagtggt gcgtttcgcac cggaaagcttc aataatcaaa ccgagtttca gtacctgggc      180
gaggggtttgg tgcggattac ggctcacgcg tcccgactga tacatctcaa tatgccggag      240
catgagacct acaagcgtat ccatgtcctg aactcggaat cgggcgtcgc cggtcagatg      300
gtccaagatg atgctcatac tcagatggtg acaccctgga gcttgataga tgccaacgca      360
tggggcgtgt ggttcaacc cgcggattgg cagctgataa gcaataacat gacagaaatc      420
aatttgggta gtttcgagca agagatattt aatgtcgtgc tgaaaaccat cacagagagc      480
gccacgagcc ccccgacgaa gatttacaat aacgacctga cggcgtcctt gatggtcgcc      540
ttggacacaa ataaccacct cccgtacacc cccgcggccc cccgcagcga gacctgggc      600
ttttatccct ggctgcccac caagccaacg cagtatcgct actacctgag ttgtacacga      660
aatttgaatc cgccgacata cactggtcag tcggagcaga tcacggacag cattcaaacg      720
ggcctgcaact ccgatatcat gttttacacg atagagaacg cagtacctat ccacctgctg      780
cgtacggggag atgagttctc gaccgggtatc tatcattttg acacaaaacc cttgaaattg      840
acgcacagtt ggcaaaccaa tcgctcgcgtg ggcttgcccc caaagttggt gacggaacc      900
accaccgagg gtgaccaaca cccaggcact ctccccgcag caaatacccg caagggtat      960
catcaaacga tcaacaatag ctataccgag gctaccgcca ttcggccagc acaggtggga      1020
tacaacacac cttacatgaa ctttgaatac tccaacggcg gcccgttcct gaccccgata      1080
gttccgaccg ccgacactca gtacaacgat gacgagccga acggcgccat caggtttacc      1140
atgggctatc agcacgggtca attgacaact tcgctcgcaag aactggaacg ctatacatc      1200
aacctcaga gtaagtgtgg cggggcacc aaacaacagt tcaaccagca atccccactg      1260
aacctgcaga ataccaacaa tggcacgctg ctgccatccg atcccattgg aggaaagacc      1320
aacatgcatt tcatgaacac gctgaataca tacggaccac tgaccgccct gaacaatacc      1380
gcaccgctct tccctaattg ccagatctgg gataaagac tggatacggga cctgaagccc      1440
cgactccacg tgactgcgcc ctttgtgtgc aaaaataacc caccgggaca gttgttcgtc      1500
aaaatagccc ccaacttgac cgcgacttc aatgcagaca gccctcagca gccgcgaatc      1560
atcacctatt cgaacttctg gtggaagggc acgctgactt tcacggctaa gatgctcgtc      1620
agcaatatgt ggaacccaat ccagcaacat accacaaccg ctgaaaatat tggcaattac      1680
atccctacga atataggcgg aataaagatg tttccggagt attcccagct cattccacgc      1740
    
```

aagctgtatt aagcggccgc 1760

<210> 4
 <211> 1760
 <212> ДНК
 <213> Свиной парвовирус
 <400> 4

```

ggatccgccca ccatgtccga gaacgtggag cagcacaacc cgataaacgc aggcacagag      60
ctgtcggcgca ctggcaatga atcgatcggc ggaggcgggcg gaggaggtgg acgcggatcg      120
atcggagtggt gcgtttcgcac cggaaagcttc aataatcaaa ccgagtttca gtacctgggc      180
gaggggtttgg tgcggattac ggctcacgcg tcccgactga tacatctcaa tatgccggag      240
catgagacct acaagcgtat ccatgtcctg aactcggaat cgggcgtcgc cggtcagatg      300
    
```

```

gtccaagatg atgctcatac tcagatgggtg acaccctgga gcttgataga tgccaacgca      360
tggggcgtgt ggttcaaccc tgcggattgg cagctgataa gcaataacat gacagaaatc      420
aatttggtta gtttcgagca agagatattt aatgtcgtgc tgaaaaccat cacagagagc      480
gccacgagcc ccccgacgaa gatttacaat aacgacctga cggcgtcctt gatggtcgcc      540
ttggacacaa ataacaccct cccgtacacc cccgcggccc cccgcagcga gaccctgggc      600
ttttatccct ggctgcccac caagccaacg cagtatcgtt actacctgag ttgtacacga      660
aatttgaatc cgccgacata cactggtcag tcggagcaga tcacggacag cattcaaaccg      720
ggcctgcact ccgatatcat gttttacacg atagagaacg cagtacccat ccacctgctg      780
cgtacgggag atgagttctc gaccgggtatc tatcattttg acacaaaacc cttgaaattg      840
acgcacagtt ggcaaaccaa tcgctcgtcg ggcttgcccc caaagttggt gacggaaccc      900
accaccgagg gtgaccaaca cccaggcact ctccccgag caaatacccg caagggctat      960
catcaaacga tcaacaatag ctataccgag gctaccgcca ttcggccagc acaggtggga     1020
tacaacacac cttacatgaa ctttgaatac tocaacggcg gcccgttcct gaccccgata     1080
gttccgaccg ccgacactca gtacaacgat gacgagccga acggcgccat caggtttacc     1140
atgggctatc agcacggcca attgacaact tcgtcgcgaag aactggaacg ctatacattc     1200
aacctcaga  gtaagtgtgg cggggcacc  aaacaacagt tcaaccagca atccccactg     1260

```

```

aacctgcaga ataccaacaa tggcacgctg ctgccatccg atcccattgg aggaaagacc     1320
aacatgcatt tcatgaacac gctgaataca tacggaccac tgaccgccct gaacaatacc     1380
gcaccgctct tccctaattg ccagatctgg gataaagagc tggatacggga cctgaagccc     1440
cgactccacg tgactgcgcc ctttgtgtgc aaaaataacc caccgggaca gttgttcgctc     1500
aaaatagccc ccaacttgac cgacgacttc aatgcagaca gccctcagca gccgcgaatc     1560
atcacctatt cgaacttctg gtggaagggc acgctgactt tcacggctaa gatgcgctcg     1620
agcaatatgt ggaaccfaat ccagcaacat accacaaccg ctgaaaatat tggcaattac     1680
atccctacga atatagggcg aataaagatg tttccggagt attcccagct cattccacgc     1740
aagctgtatt aagcggccgc

```

<210> 5

<211> 579

<212> PRT

<213> Свиной парвовирус

<400> 5

```

Met Ser Glu Asn Val Glu Gln His Asn Pro Ile Asn Ala Gly Thr Glu
1          5          10          15

```

```

Leu Ser Ala Thr Gly Asn Glu Ser Ile Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20          25          30

```

```

Gly Arg Gly Ser Ile Gly Val Gly Val Ser Thr Gly Ser Phe Asn Asn
35          40          45

```

```

Gln Thr Glu Phe Gln Tyr Leu Gly Glu Gly Leu Val Arg Ile Thr Ala
50          55          60

```

```

His Ala Ser Arg Leu Ile His Leu Asn Met Pro Glu His Glu Thr Tyr
65          70          75          80

```

```

Lys Arg Ile His Val Leu Asn Ser Glu Ser Gly Val Ala Gly Gln Met
85          90          95

```

```

Val Gln Asp Asp Ala His Thr Gln Met Val Thr Pro Trp Ser Leu Ile
100         105         110

```

```

Asp Ala Asn Ala Trp Gly Val Trp Phe Asn Pro Ala Asp Trp Gln Leu
115         120         125

```

```

Ile Ser Asn Asn Met Thr Glu Ile Asn Leu Val Ser Phe Glu Gln Ala
130         135         140

```

```

Ile Phe Asn Val Val Leu Lys Thr Ile Thr Glu Ser Ala Thr Ser Pro
145         150         155         160

```

045363

Pro Thr Lys Ile Tyr Asn Asn Asp Leu Thr Ala Ser Leu Met Val Ala
165 170 175

Leu Asp Thr Asn Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Arg Ser
180 185 190

Glu Thr Leu Gly Phe Tyr Pro Trp Leu Pro Thr Lys Pro Thr Gln Tyr
195 200 205

Arg Tyr Tyr Leu Ser Cys Ile Arg Asn Leu Asn Pro Pro Thr Tyr Thr
210 215 220

Gly Gln Ser Glu Gln Ile Thr Asp Ser Ile Gln Thr Gly Leu His Ser
225 230 235 240

Asp Ile Met Phe Tyr Thr Ile Glu Asn Ala Val Pro Ile His Leu Leu
245 250 255

Arg Thr Gly Asp Glu Phe Ser Thr Gly Ile Tyr His Phe Asp Thr Lys
260 265 270

Pro Leu Lys Leu Thr His Ser Trp Gln Thr Asn Arg Ser Leu Gly Leu
275 280 285

Pro Pro Lys Leu Leu Thr Glu Pro Thr Thr Glu Gly Asp Gln His Pro
290 295 300

Gly Thr Leu Pro Ala Ala Asn Thr Arg Lys Gly Tyr His Gln Thr Thr
305 310 315 320

Asn Asn Ser Tyr Thr Glu Ala Thr Ala Ile Arg Pro Ala Gln Val Gly
325 330 335

Tyr Asn Thr Pro Tyr Met Asn Phe Glu Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Phe
340 345 350

Leu Thr Pro Ile Val Pro Thr Ala Asp Thr Gln Tyr Asn Asp Asp Glu
355 360 365

Pro Asn Gly Ala Ile Arg Phe Thr Met Asp Tyr Gln His Gly Gln Leu
370 375 380

Thr Thr Ser Ser Gln Glu Leu Glu Arg Tyr Thr Phe Asn Pro Gln Ser
385 390 395 400

Lys Cys Gly Arg Ala Pro Lys Gln Gln Phe Asn Gln Gln Ser Pro Leu
405 410 415

Asn Leu Gln Asn Thr Asn Asn Gly Thr Leu Leu Pro Ser Asp Pro Ile
420 425 430

Gly Gly Lys Thr Asn Met His Phe Met Asn Thr Leu Asn Thr Tyr Gly
435 440 445

Pro Leu Thr Ala Leu Asn Asn Thr Ala Pro Val Phe Pro Asn Gly Gln
450 455 460

Ile Trp Asp Lys Glu Leu Asp Thr Asp Leu Lys Pro Arg Leu His Val
465 470 475 480

Thr Ala Pro Phe Val Cys Lys Asn Asn Pro Pro Gly Gln Leu Phe Val
485 490 495

045363

Lys Ile Ala Pro Asn Leu Thr Asp Asp Phe Asn Ala Asp Ser Pro Gln
500 505 510

Gln Pro Arg Ile Ile Thr Tyr Ser Asn Phe Trp Trp Lys Gly Thr Leu
515 520 525

Thr Phe Thr Ala Lys Met Arg Ser Ser Asn Met Trp Asn Pro Ile Gln
530 535 540

Gln His Thr Thr Thr Ala Glu Asn Ile Gly Asn Tyr Ile Pro Thr Asn
545 550 555 560

Ile Gly Gly Ile Arg Met Phe Pro Glu Tyr Ser Gln Leu Ile Pro Arg
565 570 575

Lys Leu Tyr

<210> 6

<211> 579

<212> PRT

<213> Свиной парвовирус

<400> 6

Met Ser Glu Asn Val Glu Gln His Asn Pro Ile Asn Ala Gly Thr Glu
1 5 10 15

Leu Ser Ala Thr Gly Asn Glu Ser Ile Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Arg Gly Ser Ile Gly Val Gly Val Ser Thr Gly Ser Phe Asn Asn
35 40 45

Gln Thr Glu Phe Gln Tyr Leu Gly Glu Gly Leu Val Arg Ile Thr Ala
50 55 60

His Ala Ser Arg Leu Ile His Leu Asn Met Pro Glu His Glu Thr Tyr
65 70 75 80

Lys Arg Ile His Val Leu Asn Ser Glu Ser Gly Val Ala Gly Gln Met
85 90 95

Val Gln Asp Asp Ala His Thr Gln Met Val Thr Pro Trp Ser Leu Ile
100 105 110

Asp Ala Asn Ala Trp Gly Val Trp Phe Asn Pro Ala Asp Trp Gln Leu
115 120 125

Ile Ser Asn Asn Met Thr Glu Ile Asn Leu Val Ser Phe Glu Gln Glu
130 135 140

Ile Phe Asn Val Val Leu Lys Thr Ile Thr Glu Ser Ala Thr Ser Pro
145 150 155 160

Pro Thr Lys Ile Tyr Asn Asn Asp Leu Thr Ala Ser Leu Met Val Ala
165 170 175

Leu Asp Thr Asn Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Arg Ser
180 185 190

Glu Thr Leu Gly Phe Tyr Pro Trp Leu Pro Thr Lys Pro Thr Gln Tyr
195 200 205

Arg Tyr Tyr Leu Ser Cys Thr Arg Asn Leu Asn Pro Pro Thr Tyr Thr

045363

210						215						220					
Gly	Gln	Ser	Glu	Gln	Ile	Thr	Asp	Ser	Ile	Gln	Thr	Gly	Leu	His	Ser		
225					230					235					240		
Asp	Ile	Met	Phe	Tyr	Thr	Ile	Glu	Asn	Ala	Val	Pro	Ile	His	Leu	Leu		
				245					250					255			
Arg	Thr	Gly	Asp	Glu	Phe	Ser	Thr	Gly	Ile	Tyr	His	Phe	Asp	Thr	Lys		
			260					265					270				
Pro	Leu	Lys	Leu	Thr	His	Ser	Trp	Gln	Thr	Asn	Arg	Ser	Leu	Gly	Leu		
		275					280					285					
Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Thr	Glu	Pro	Thr	Thr	Glu	Gly	Asp	Gln	His	Pro		
	290					295					300						
Gly	Thr	Leu	Pro	Ala	Ala	Asn	Thr	Arg	Lys	Gly	Tyr	His	Gln	Thr	Ile		
305					310					315					320		
Asn	Asn	Ser	Tyr	Thr	Glu	Ala	Thr	Ala	Ile	Arg	Pro	Ala	Gln	Val	Gly		
				325					330					335			
Tyr	Asn	Thr	Pro	Tyr	Met	Asn	Phe	Glu	Tyr	Ser	Asn	Gly	Gly	Pro	Phe		
				340					345					350			
Leu	Thr	Pro	Ile	Val	Pro	Thr	Ala	Asp	Thr	Gln	Tyr	Asn	Asp	Asp	Glu		
		355					360					365					
Pro	Asn	Gly	Ala	Ile	Arg	Phe	Thr	Met	Gly	Tyr	Gln	His	Gly	Gln	Leu		
	370					375					380						
Thr	Thr	Ser	Ser	Gln	Glu	Leu	Glu	Arg	Tyr	Thr	Phe	Asn	Pro	Gln	Ser		
385				390					395					400			
Lys	Cys	Gly	Arg	Ala	Pro	Lys	Gln	Gln	Phe	Asn	Gln	Gln	Ser	Pro	Leu		
				405					410					415			
Asn	Leu	Gln	Asn	Thr	Asn	Asn	Gly	Thr	Leu	Leu	Pro	Ser	Asp	Pro	Ile		
			420					425					430				
Gly	Gly	Lys	Thr	Asn	Met	His	Phe	Met	Asn	Thr	Leu	Asn	Thr	Tyr	Gly		
		435					440					445					
Pro	Leu	Thr	Ala	Leu	Asn	Asn	Thr	Ala	Pro	Val	Phe	Pro	Asn	Gly	Gln		
	450					455					460						
Ile	Trp	Asp	Lys	Glu	Leu	Asp	Thr	Asp	Leu	Lys	Pro	Arg	Leu	His	Val		
465					470					475					480		
Thr	Ala	Pro	Phe	Val	Cys	Lys	Asn	Asn	Pro	Pro	Gly	Gln	Leu	Phe	Val		
				485					490					495			
Lys	Ile	Ala	Pro	Asn	Leu	Thr	Asp	Asp	Phe	Asn	Ala	Asp	Ser	Pro	Gln		
			500					505					510				
Gln	Pro	Arg	Ile	Ile	Thr	Tyr	Ser	Asn	Phe	Trp	Trp	Lys	Gly	Thr	Leu		
		515					520					525					
Thr	Phe	Thr	Ala	Lys	Met	Arg	Ser	Ser	Asn	Met	Trp	Asn	Pro	Ile	Gln		
	530					535					540						

045363

Gln His Thr Thr Thr Ala Glu Asn Ile Gly Asn Tyr Ile Pro Thr Asn
545 550 555 560

Ile Gly Gly Ile Lys Met Phe Pro Glu Tyr Ser Gln Leu Ile Pro Arg
565 570 575

Lys Leu Tyr

<210> 7

<211> 579

<212> PRT

<213> Свиной парвовирус

<400> 7

Met Ser Glu Asn Val Glu Gln His Asn Pro Ile Asn Ala Gly Thr Glu
1 5 10 15

Leu Ser Ala Thr Gly Asn Glu Ser Ile Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Arg Gly Ser Ile Gly Val Gly Val Ser Thr Gly Ser Phe Asn Asn
35 40 45

Gln Thr Glu Phe Gln Tyr Leu Gly Glu Gly Leu Val Arg Ile Thr Ala
50 55 60

His Ala Ser Arg Leu Ile His Leu Asn Met Pro Glu His Glu Thr Tyr
65 70 75 80

Lys Arg Ile His Val Leu Asn Ser Glu Ser Gly Val Ala Gly Gln Met
85 90 95

Val Gln Asp Asp Ala His Thr Gln Met Val Thr Pro Trp Ser Leu Ile
100 105 110

Asp Ala Asn Ala Trp Gly Val Trp Phe Asn Pro Ala Asp Trp Gln Leu
115 120 125

Ile Ser Asn Asn Met Thr Glu Ile Asn Leu Val Ser Phe Glu Gln Glu
130 135 140

Ile Phe Asn Val Val Leu Lys Thr Ile Thr Glu Ser Ala Thr Ser Pro
145 150 155 160

Pro Thr Lys Ile Tyr Asn Asn Asp Leu Thr Ala Ser Leu Met Val Ala
165 170 175

Leu Asp Thr Asn Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Arg Ser
180 185 190

Glu Thr Leu Gly Phe Tyr Pro Trp Leu Pro Thr Lys Pro Thr Gln Tyr
195 200 205

Arg Tyr Tyr Leu Ser Cys Thr Arg Asn Leu Asn Pro Pro Thr Tyr Thr
210 215 220

Gly Gln Ser Glu Gln Ile Thr Asp Ser Ile Gln Thr Gly Leu His Ser
225 230 235 240

Asp Ile Met Phe Tyr Thr Ile Glu Asn Ala Val Pro Ile His Leu Leu
245 250 255

Arg Thr Gly Asp Glu Phe Ser Thr Gly Ile Tyr His Phe Asp Thr Lys

045363

260 265 270
 Pro Leu Lys Leu Thr His Ser Trp Gln Thr Asn Arg Ser Leu Gly Leu
 275 280 285
 Pro Pro Lys Leu Leu Thr Glu Pro Thr Thr Glu Gly Asp Gln His Pro
 290 295 300
 Gly Thr Leu Pro Ala Ala Asn Thr Arg Lys Gly Tyr His Gln Thr Ile
 305 310 315 320
 Asn Asn Ser Tyr Thr Glu Ala Thr Ala Ile Arg Pro Ala Gln Val Gly
 325 330 335
 Tyr Asn Thr Pro Tyr Met Asn Phe Glu Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Phe
 340 345 350
 Phe Ile Pro Ile Val Pro Thr Ala Asp Thr Gln Tyr Asn Asp Asp Glu
 355 360 365
 Pro Asn Gly Gly Ile Arg Phe Thr Met Gly Tyr Gln His Gly Gln Leu
 370 375 380
 Ile Thr Ser Ser Gln Glu Val Glu Arg Tyr Thr Phe Asn Pro Gln Arg
 385 390 395 400
 Lys Cys Gly Arg Gly Ala Lys Gln Gln Phe Asn Gln Gln Ser Pro Leu
 405 410 415
 Asn Ile Gln Asn Thr Asn Asn Gly Thr Ile Leu Pro Ser Asp Pro Ile
 420 425 430
 Gly Gly Lys Thr Asn Met His Phe Met Asn Thr Pro Asn Thr Tyr Gly
 435 440 445
 Pro Leu Thr Ala Val Asn Asn Thr Ala Pro Val Phe Pro Asn Gly Gln
 450 455 460
 Ile Trp Asp Lys Glu Leu Asp Thr Asp Leu Lys Pro Arg Leu His Val
 465 470 475 480
 Thr Ala Pro Phe Val Cys Lys Asn Asn Pro Pro Gly Gln Leu Phe Val
 485 490 495
 Lys Ile Ala Pro Asn Leu Thr Asp Asp Phe Asn Ala Asp Ser Pro Gln
 500 505 510
 Gln Pro Arg Ile Ile Thr Tyr Ser Asn Phe Trp Trp Lys Gly Thr Leu
 515 520 525
 Thr Phe Thr Ala Lys Met Arg Ser Ser Asn Met Trp Asn Pro Ile Gln
 530 535 540
 Gln His Thr Thr Thr Ala Glu Asn Ile Gly Asn Tyr Ile Pro Thr Asn
 545 550 555 560
 Ile Gly Gly Ile Lys Met Phe Pro Glu Tyr Ser Gln Leu Ile Pro Arg
 565 570 575
 Lys Leu Tyr

<210> 8

045363

<211> 579

<212> PRT

<213> Свиной парвовирус

<400> 8

Met Ser Glu Asn Val Glu Gln His Asn Pro Ile Asn Ala Gly Thr Glu
 1 5 10 15

Leu Ser Ala Thr Gly Asn Glu Ser Ile Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 20 25 30

Gly Arg Gly Ser Ile Gly Val Gly Val Ser Thr Gly Ser Phe Asn Asn
 35 40 45

Gln Thr Glu Phe Gln Tyr Leu Gly Glu Gly Leu Val Arg Ile Thr Ala
 50 55 60

His Ala Ser Arg Leu Ile His Leu Asn Met Pro Glu His Glu Thr Tyr
 65 70 75 80

Lys Arg Ile His Val Leu Asn Ser Glu Ser Gly Val Ala Gly Gln Met
 85 90 95

Val Gln Asp Asp Ala His Thr Gln Met Val Thr Pro Trp Ser Leu Ile
 100 105 110

Asp Ala Asn Ala Trp Gly Val Trp Phe Asn Pro Ala Asp Trp Gln Leu
 115 120 125

Ile Ser Asn Asn Met Thr Glu Ile Asn Leu Val Ser Phe Glu Gln Ala
 130 135 140

Ile Phe Asn Val Val Leu Lys Thr Ile Thr Glu Ser Ala Thr Ser Pro
 145 150 155 160

Pro Thr Lys Ile Tyr Asn Asn Asp Leu Thr Ala Ser Leu Met Val Ala
 165 170 175

Leu His Thr Asn Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Arg Ser
 180 185 190

Glu Thr Leu Gly Phe Tyr Pro Trp Leu Pro Thr Lys Pro Thr Gln Tyr
 195 200 205

Arg Tyr Tyr Leu Ser Cys Ile Arg Asn Leu Asn Pro Pro Thr Tyr Thr
 210 215 220

Gly Gln Ser Glu Gln Ile Thr Asp Ser Ile Gln Thr Gly Leu His Ser
 225 230 235 240

Asp Ile Met Phe Tyr Thr Ile Glu Asn Ala Val Pro Ile His Leu Leu
 245 250 255

Arg Thr Gly Asp Glu Phe Ser Thr Gly Ile Tyr His Phe Asp Thr Lys
 260 265 270

Pro Leu Lys Leu Thr His Ser Trp Gln Thr Asn Arg Ser Leu Gly Leu
 275 280 285

Pro Pro Lys Leu Leu Thr Glu Pro Thr Thr Glu Gly Asp Gln His Pro
 290 295 300

Gly Thr Leu Pro Ala Ala Asn Thr Arg Lys Gly Tyr His Gln Thr Ile
 305 310 315 320

045363

Asn Asn Ser Tyr Thr Glu Ala Thr Ala Ile Arg Pro Ala Gln Val Gly
 325 330 335

Tyr Asn Thr Pro Tyr Met Asn Phe Glu Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Phe
 340 345 350

Leu Thr Pro Ile Val Pro Thr Ala Asp Thr Gln Tyr Asn Asp Asp Glu
 355 360 365

Pro Asn Gly Ala Ile Arg Phe Thr Met Asp Tyr Gln His Gly His Leu
 370 375 380

Thr Thr Ser Ser Gln Glu Leu Glu Arg Tyr Thr Phe Asn Pro Gln Ser
 385 390 395 400

Lys Cys Gly Arg Thr Pro Lys Gln Gln Phe Asn Gln Gln Ser Pro Leu
 405 410 415

Asn Leu Gln Asn Thr Asn Asn Gly Thr Leu Leu Pro Ser Asp Pro Ile
 420 425 430

Gly Gly Lys Thr Asn Met His Phe Met Asn Thr Leu Asn Thr Tyr Gly
 435 440 445

Pro Leu Thr Ala Leu Asn Asn Thr Ala Pro Val Phe Pro Asn Gly Gln
 450 455 460

Ile Trp Asp Lys Glu Leu Asp Thr Asp Leu Lys Pro Arg Leu His Val
 465 470 475 480

Thr Ala Pro Phe Val Cys Lys Asn Asn Pro Pro Gly Gln Leu Phe Val
 485 490 495

Lys Ile Ala Pro Asn Leu Thr Asp Asp Phe Asn Ala Asp Ser Pro Gln
 500 505 510

Gln Pro Arg Ile Ile Thr Tyr Ser Asn Phe Trp Trp Lys Gly Thr Leu
 515 520 525

Thr Phe Thr Ala Lys Met Arg Ser Ser Asn Met Trp Asn Pro Ile Gln
 530 535 540

Gln His Thr Thr Thr Ala Glu Asn Ile Gly Lys Tyr Ile Pro Thr Asn
 545 550 555 560

Ile Gly Gly Ile Lys Met Phe Pro Glu Tyr Ser Gln Leu Ile Pro Arg
 565 570 575

Lys Leu Tyr

<210> 9
 <211> 579
 <212> PRT
 <213> СВИНОЙ парвовирус
 <400> 9

Met Ser Glu Asn Val Glu Gln His Asn Pro Ile Asn Ala Gly Thr Glu
 1 5 10 15

Leu Ser Ala Thr Gly Asn Glu Ser Ile Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 20 25 30

045363

Gly Arg Gly Ser Ile Gly Val Gly Val Ser Thr Gly Ser Phe Asn Asn
 35 40 45
 Gln Thr Glu Phe Gln Tyr Leu Gly Glu Gly Leu Val Arg Ile Thr Ala
 50 55 60
 His Ala Ser Arg Leu Ile His Leu Asn Met Pro Glu His Glu Thr Tyr
 65 70 75 80
 Lys Arg Ile His Val Leu Asn Ser Glu Ser Gly Val Ala Gly Gln Met
 85 90 95
 Val Gln Asp Asp Ala His Thr Gln Met Val Thr Pro Trp Ser Leu Ile
 100 105 110
 Asp Ala Asn Ala Trp Gly Val Trp Phe Asn Pro Ala Asp Trp Gln Leu
 115 120 125
 Ile Ser Asn Asn Met Thr Glu Ile Asn Leu Val Ser Phe Glu Gln Glu
 130 135 140
 Ile Phe Asn Val Val Leu Lys Thr Ile Thr Glu Ser Ala Thr Ser Pro
 145 150 155 160
 Pro Thr Lys Ile Tyr Asn Asn Asp Leu Thr Ala Ser Leu Met Val Ala
 165 170 175
 Leu Asp Thr Asn Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Arg Ser
 180 185 190
 Glu Thr Leu Gly Phe Tyr Pro Trp Leu Pro Thr Lys Pro Thr Gln Tyr
 195 200 205
 Arg Tyr Tyr Leu Ser Cys Thr Arg Asn Leu Asn Pro Pro Thr Tyr Thr
 210 215 220
 Gly Gln Ser Glu Gln Ile Thr Asp Ser Ile Gln Thr Gly Leu His Ser
 225 230 235 240
 Asp Ile Met Phe Tyr Thr Ile Glu Asn Ala Val Pro Ile His Leu Leu
 245 250 255
 Arg Thr Gly Asp Glu Phe Ser Thr Gly Ile Tyr His Phe Asp Thr Lys
 260 265 270
 Pro Leu Lys Leu Thr His Ser Trp Gln Thr Asn Arg Ser Leu Gly Leu
 275 280 285
 Pro Pro Lys Leu Leu Thr Glu Pro Thr Thr Glu Gly Asp Gln His Pro
 290 295 300
 Gly Thr Leu Pro Ala Ala Asn Thr Arg Lys Gly Tyr His Gln Thr Ile
 305 310 315 320
 Asn Asn Ser Tyr Thr Glu Ala Thr Ala Ile Arg Pro Ala Gln Val Gly
 325 330 335
 Tyr Asn Thr Pro Tyr Met Asn Phe Glu Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Phe
 340 345 350
 Leu Thr Pro Ile Val Pro Thr Ala Asp Thr Gln Tyr Asn Asp Asp Glu
 355 360 365

045363

Pro Asn Gly Ala Ile Arg Phe Thr Met Gly Tyr Gln His Gly Gln Leu
 370 375 380

Thr Thr Ser Ser Gln Glu Leu Glu Arg Tyr Thr Phe Asn Pro Gln Ser
 385 390 395 400

Lys Cys Gly Arg Ala Pro Lys Gln Gln Phe Asn Gln Gln Ser Pro Leu
 405 410 415

Asn Leu Gln Asn Thr Asn Asn Gly Thr Leu Leu Pro Ser Asp Pro Ile
 420 425 430

Gly Gly Lys Thr Asn Met His Phe Met Ser Thr Leu Asn Thr Tyr Gly
 435 440 445

Pro Leu Thr Ala Leu Asn Asn Thr Ala Pro Val Phe Pro Asn Gly Gln
 450 455 460

Ile Trp Asp Lys Glu Leu Asp Thr Asp Leu Lys Pro Arg Leu His Val
 465 470 475 480

Thr Ala Pro Phe Val Cys Lys Asn Asn Pro Pro Gly Gln Leu Phe Val
 485 490 495

Lys Ile Ala Pro Asn Leu Thr Asp Asp Phe Asn Ala Asp Ser Pro Gln
 500 505 510

Gln Pro Arg Ile Ile Thr Tyr Ser Asn Phe Trp Trp Lys Gly Thr Leu
 515 520 525

Thr Phe Thr Ala Lys Met Arg Ser Ser Asn Met Trp Asn Pro Ile Gln
 530 535 540

Gln His Thr Thr Thr Ala Glu Asn Ile Gly Asn Tyr Ile Pro Thr Asn
 545 550 555 560

Ile Gly Gly Ile Lys Met Phe Pro Glu Tyr Ser Gln Leu Ile Pro Arg
 565 570 575

Lys Leu Tyr

<210> 10

<211> 579

<212> PRT

<213> Свиной парвовирус

<400> 10

Met Ser Glu Asn Val Glu Gln His Asn Pro Ile Asn Ala Gly Thr Glu
 1 5 10 15

Leu Ser Ala Thr Gly Asn Glu Ser Ile Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 20 25 30

Gly Arg Gly Ser Ile Gly Val Gly Val Ser Thr Gly Ser Phe Asn Asn
 35 40 45

Gln Thr Glu Phe Gln Tyr Leu Gly Glu Gly Leu Val Arg Ile Thr Ala
 50 55 60

His Ala Ser Arg Leu Ile His Leu Asn Met Pro Glu His Glu Thr Tyr
 65 70 75 80

045363

Lys Arg Ile His Val Leu Asn Ser Glu Ser Gly Val Ala Gly Gln Met
85 90 95

Val Gln Asp Asp Ala His Thr Gln Met Val Thr Pro Trp Ser Leu Ile
100 105 110

Asp Ala Asn Ala Trp Gly Val Trp Phe Asn Pro Ala Asp Trp Gln Leu
115 120 125

Ile Ser Asn Asn Met Thr Glu Ile Asn Leu Val Ser Phe Glu Gln Glu
130 135 140

Ile Phe Asn Val Val Leu Lys Thr Ile Thr Glu Ser Ala Thr Ser Pro
145 150 155 160

Pro Thr Lys Ile Tyr Asn Asn Asp Leu Thr Ala Ser Leu Met Val Ala
165 170 175

Leu Asp Thr Asn Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Arg Ser
180 185 190

Glu Thr Leu Gly Phe Tyr Pro Trp Leu Pro Thr Lys Pro Thr Gln Tyr
195 200 205

Arg Tyr Tyr Leu Ser Cys Thr Arg Asn Leu Asn Pro Pro Thr Tyr Thr
210 215 220

Gly Gln Ser Glu Gln Ile Thr Asp Ser Ile Gln Thr Gly Leu His Ser
225 230 235 240

Asp Ile Met Phe Tyr Thr Ile Glu Asn Ala Val Pro Ile His Leu Leu
245 250 255

Arg Thr Gly Asp Glu Phe Ser Thr Gly Ile Tyr His Phe Asp Thr Lys
260 265 270

Pro Leu Lys Leu Thr His Ser Trp Gln Thr Asn Arg Ser Leu Gly Leu
275 280 285

Pro Pro Lys Leu Leu Thr Glu Pro Thr Thr Glu Gly Asp Gln His Pro
290 295 300

Gly Thr Leu Pro Ala Ala Asn Thr Arg Lys Gly Tyr His Gln Thr Thr
305 310 315 320

Asn Asn Ser Tyr Thr Glu Ala Thr Ala Ile Arg Pro Ala Gln Val Gly
325 330 335

Tyr Asn Thr Pro Tyr Met Asn Phe Glu Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Phe
340 345 350

Leu Thr Pro Ile Val Pro Thr Ala Asp Thr Gln Tyr Asn Asp Asp Glu
355 360 365

Pro Asn Gly Ala Ile Arg Phe Thr Met Gly Tyr Gln His Gly Gln Leu
370 375 380

Thr Thr Ser Ser Gln Glu Leu Glu Arg Tyr Thr Phe Asn Pro Gln Ser
385 390 395 400

Lys Cys Gly Arg Ala Pro Lys Gln Gln Phe Asn Gln Gln Ser Pro Leu
405 410 415

045363

Asn Leu Gln Asn Thr Asn Asn Gly Thr Leu Leu Pro Ser Asp Pro Ile
 420 425 430

Gly Gly Lys Thr Asn Met His Phe Met Asn Thr Leu Asn Thr Tyr Gly
 435 440 445

Pro Leu Thr Ala Leu Asn Asn Thr Ala Pro Val Phe Pro Asn Gly Gln
 450 455 460

Ile Trp Asp Lys Glu Leu Asp Thr Asp Leu Lys Pro Arg Leu His Val
 465 470 475 480

Thr Ala Pro Phe Val Cys Lys Asn Asn Pro Pro Gly Gln Leu Phe Val
 485 490 495

Lys Ile Ala Pro Asn Leu Thr Asp Asp Phe Asn Ala Asp Ser Pro Gln
 500 505 510

Gln Pro Arg Ile Ile Thr Tyr Ser Asn Phe Trp Trp Lys Gly Thr Leu
 515 520 525

Thr Phe Thr Ala Lys Met Arg Ser Ser Asn Met Trp Asn Pro Ile Gln
 530 535 540

Gln His Thr Thr Thr Ala Glu Asn Ile Gly Asn Tyr Ile Pro Thr Asn
 545 550 555 560

Ile Gly Gly Ile Lys Met Phe Pro Glu Tyr Ser Gln Leu Ile Pro Arg
 565 570 575

Lys Leu Tyr

<210> 11
 <211> 579
 <212> PRT
 <213> Свиной парвовирус
 <400> 11

Met Ser Glu Asn Val Glu Gln His Asn Pro Ile Asn Ala Gly Thr Glu
 1 5 10 15

Leu Ser Ala Thr Gly Asn Glu Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 20 25 30

Gly Arg Gly Ala Gly Gly Val Gly Val Ser Thr Gly Ser Phe Asn Asn
 35 40 45

Gln Thr Glu Phe Gln Tyr Leu Gly Glu Gly Leu Val Arg Ile Thr Ala
 50 55 60

His Ala Ser Arg Leu Ile His Leu Asn Met Pro Glu His Glu Thr Tyr
 65 70 75 80

Lys Arg Ile His Val Leu Asn Ser Glu Ser Gly Val Ala Gly Gln Met
 85 90 95

Val Gln Asp Asp Ala His Thr Gln Met Val Thr Pro Trp Ser Leu Ile
 100 105 110

Asp Ala Asn Ala Trp Gly Val Trp Phe Asn Pro Ala Asp Trp Gln Leu
 115 120 125

045363

Ile Ser Asn Asn Met Thr Glu Ile Asn Leu Val Ser Phe Glu Gln Ala
 130 135 140

Ile Phe Asn Val Val Leu Lys Thr Ile Thr Glu Ser Ala Thr Ser Pro
 145 150 155 160

Pro Thr Lys Ile Tyr Asn Asn Asp Leu Thr Ala Ser Leu Met Val Ala
 165 170 175

Leu Asp Thr Asn Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Arg Ser
 180 185 190

Glu Thr Leu Gly Phe Tyr Pro Trp Leu Pro Thr Lys Pro Thr Gln Tyr
 195 200 205

Arg Tyr Tyr Leu Ser Cys Ile Arg Asn Leu Asn Pro Pro Thr Tyr Thr
 210 215 220

Gly Gln Ser Glu Gln Ile Thr Asp Ser Ile Gln Thr Gly Leu His Ser
 225 230 235 240

Asp Ile Met Phe Tyr Thr Ile Glu Asn Ala Val Pro Ile His Leu Leu
 245 250 255

Arg Thr Gly Asp Glu Phe Ser Thr Gly Ile Tyr His Phe Asp Thr Lys
 260 265 270

Pro Leu Lys Leu Thr His Ser Trp Gln Thr Asn Arg Ser Leu Gly Leu
 275 280 285

Pro Pro Lys Leu Leu Thr Glu Pro Thr Thr Glu Gly Asp Gln His Pro
 290 295 300

Gly Thr Leu Pro Ala Ala Asn Thr Arg Lys Gly Tyr His Gln Thr Thr
 305 310 315 320

Asn Asn Ser Tyr Thr Glu Ala Thr Ala Ile Arg Pro Ala Gln Val Gly
 325 330 335

Tyr Asn Thr Pro Tyr Met Asn Phe Glu Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Phe
 340 345 350

Leu Thr Pro Ile Val Pro Thr Ala Asp Thr Gln Tyr Asn Asp Asp Glu
 355 360 365

Pro Asn Gly Ala Ile Arg Phe Thr Met Asp Tyr Gln His Gly Gln Leu
 370 375 380

Thr Thr Ser Ser Gln Glu Leu Glu Arg Tyr Thr Phe Asn Pro Gln Ser
 385 390 395 400

Lys Cys Gly Arg Ala Pro Lys Gln Gln Phe Asn Gln Gln Ser Pro Leu
 405 410 415

Asn Leu Gln Asn Thr Asn Asn Gly Thr Leu Leu Pro Ser Asp Pro Ile
 420 425 430

Gly Gly Lys Thr Asn Met His Phe Met Asn Thr Leu Asn Thr Tyr Gly
 435 440 445

Pro Leu Thr Ala Leu Asn Asn Thr Ala Pro Val Phe Pro Asn Gly Gln
 450 455 460

045363

Ile Trp Asp Lys Glu Leu Asp Thr Asp Leu Lys Pro Arg Leu His Val
 465 470 475 480

Thr Ala Pro Phe Val Cys Lys Asn Asn Pro Pro Gly Gln Leu Phe Val
 485 490 495

Lys Ile Ala Pro Asn Leu Thr Asp Asp Phe Asn Ala Asp Ser Pro Gln
 500 505 510

Gln Pro Arg Ile Ile Thr Tyr Ser Asn Phe Trp Trp Lys Gly Thr Leu
 515 520 525

Thr Phe Thr Ala Lys Met Arg Ser Ser Asn Met Trp Asn Pro Ile Gln
 530 535 540

Gln His Thr Thr Thr Ala Glu Asn Ile Gly Asn Tyr Ile Pro Thr Asn
 545 550 555 560

Ile Gly Gly Ile Arg Met Phe Pro Glu Tyr Ser Gln Leu Ile Pro Arg
 565 570 575

Lys Leu Tyr

<210> 12

<211> 579

<212> PRT

<213> Свиной парвовирус

<400> 12

Met Ser Glu Asn Val Glu Gln His Asn Pro Ile Asn Ala Gly Thr Glu
 1 5 10 15

Leu Ser Ala Thr Gly Asn Glu Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 20 25 30

Gly Arg Gly Ala Gly Gly Val Gly Val Ser Thr Gly Ser Phe Asn Asn
 35 40 45

Gln Thr Glu Phe Gln Tyr Leu Gly Glu Gly Leu Val Arg Ile Thr Ala
 50 55 60

His Ala Ser Arg Leu Ile His Leu Asn Met Pro Glu His Glu Thr Tyr
 65 70 75 80

Lys Arg Ile His Val Leu Asn Ser Glu Ser Gly Val Ala Gly Gln Met
 85 90 95

Val Gln Asp Asp Ala His Thr Gln Met Val Thr Pro Trp Ser Leu Ile
 100 105 110

Asp Ala Asn Ala Trp Gly Val Trp Phe Asn Pro Ala Asp Trp Gln Leu
 115 120 125

Ile Ser Asn Asn Met Thr Glu Ile Asn Leu Val Ser Phe Glu Gln Glu
 130 135 140

Ile Phe Asn Val Val Leu Lys Thr Ile Thr Glu Ser Ala Thr Ser Pro
 145 150 155 160

Pro Thr Lys Ile Tyr Asn Asn Asp Leu Thr Ala Ser Leu Met Val Ala
 165 170 175

045363

Leu Asp Thr Asn Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Arg Ser
 180 185 190
 Glu Thr Leu Gly Phe Tyr Pro Trp Leu Pro Thr Lys Pro Thr Gln Tyr
 195 200 205
 Arg Tyr Tyr Leu Ser Cys Thr Arg Asn Leu Asn Pro Pro Thr Tyr Thr
 210 215 220
 Gly Gln Ser Glu Gln Ile Thr Asp Ser Ile Gln Thr Gly Leu His Ser
 225 230 235 240
 Asp Ile Met Phe Tyr Thr Ile Glu Asn Ala Val Pro Ile His Leu Leu
 245 250 255
 Arg Thr Gly Asp Glu Phe Ser Thr Gly Ile Tyr His Phe Asp Thr Lys
 260 265 270
 Pro Leu Lys Leu Thr His Ser Trp Gln Thr Asn Arg Ser Leu Gly Leu
 275 280 285
 Pro Pro Lys Leu Leu Thr Glu Pro Thr Thr Glu Gly Asp Gln His Pro
 290 295 300
 Gly Thr Leu Pro Ala Ala Asn Thr Arg Lys Gly Tyr His Gln Thr Ile
 305 310 315 320
 Asn Asn Ser Tyr Thr Glu Ala Thr Ala Ile Arg Pro Ala Gln Val Gly
 325 330 335
 Tyr Asn Thr Pro Tyr Met Asn Phe Glu Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Phe
 340 345 350
 Leu Thr Pro Ile Val Pro Thr Ala Asp Thr Gln Tyr Asn Asp Asp Glu
 355 360 365
 Pro Asn Gly Ala Ile Arg Phe Thr Met Gly Tyr Gln His Gly Gln Leu
 370 375 380
 Thr Thr Ser Ser Gln Glu Leu Glu Arg Tyr Thr Phe Asn Pro Gln Ser
 385 390 395 400
 Lys Cys Gly Arg Ala Pro Lys Gln Gln Phe Asn Gln Gln Ser Pro Leu
 405 410 415
 Asn Leu Gln Asn Thr Asn Asn Gly Thr Leu Leu Pro Ser Asp Pro Ile
 420 425 430 435
 Gly Gly Lys Thr Asn Met His Phe Met Asn Thr Leu Asn Thr Tyr Gly
 435 440 445
 Pro Leu Thr Ala Leu Asn Asn Thr Ala Pro Val Phe Pro Asn Gly Gln
 450 455 460
 Ile Trp Asp Lys Glu Leu Asp Thr Asp Leu Lys Pro Arg Leu His Val
 465 470 475 480
 Thr Ala Pro Phe Val Cys Lys Asn Asn Pro Pro Gly Gln Leu Phe Val
 485 490 495
 Lys Ile Ala Pro Asn Leu Thr Asp Asp Phe Asn Ala Asp Ser Pro Gln
 500 505 510

045363

Gln Pro Arg Ile Ile Thr Tyr Ser Asn Phe Trp Trp Lys Gly Thr Leu
515 520 525

Thr Phe Thr Ala Lys Met Arg Ser Ser Asn Met Trp Asn Pro Ile Gln
530 535 540

Gln His Thr Thr Thr Ala Glu Asn Ile Gly Asn Tyr Ile Pro Thr Asn
545 550 555 560

Ile Gly Gly Ile Lys Met Phe Pro Glu Tyr Ser Gln Leu Ile Pro Arg
565 570 575

Lys Leu Tyr

<210> 13

<211> 579

<212> PRT

<213> Свиной парвовирус

<400> 13

Met Ser Glu Asn Val Glu Gln His Asn Pro Ile Asn Ala Gly Thr Glu
1 5 10 15

Leu Ser Ala Thr Gly Asn Glu Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Arg Gly Ala Gly Gly Val Gly Val Ser Thr Gly Ser Phe Asn Asn
35 40 45

Gln Thr Glu Phe Gln Tyr Leu Gly Glu Gly Leu Val Arg Ile Thr Ala
50 55 60

His Ala Ser Arg Leu Ile His Leu Asn Met Pro Glu His Glu Thr Tyr
65 70 75 80

Lys Arg Ile His Val Leu Asn Ser Glu Ser Gly Val Ala Gly Gln Met
85 90 95

Val Gln Asp Asp Ala His Thr Gln Met Val Thr Pro Trp Ser Leu Ile
100 105 110

Asp Ala Asn Ala Trp Gly Val Trp Phe Asn Pro Ala Asp Trp Gln Leu
115 120 125

Ile Ser Asn Asn Met Thr Glu Ile Asn Leu Val Ser Phe Glu Gln Glu
130 135 140

Ile Phe Asn Val Val Leu Lys Thr Ile Thr Glu Ser Ala Thr Ser Pro
145 150 155 160

Pro Thr Lys Ile Tyr Asn Asn Asp Leu Thr Ala Ser Leu Met Val Ala
165 170 175

Leu Asp Thr Asn Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Arg Ser
180 185 190

Glu Thr Leu Gly Phe Tyr Pro Trp Leu Pro Thr Lys Pro Thr Gln Tyr
195 200 205

Arg Tyr Tyr Leu Ser Cys Thr Arg Asn Leu Asn Pro Pro Thr Tyr Thr
210 215 220

045363

Gly Gln Ser Glu Gln Ile Thr Asp Ser Ile Gln Thr Gly Leu His Ser
 225 230 235 240

Asp Ile Met Phe Tyr Thr Ile Glu Asn Ala Val Pro Ile His Leu Leu
 245 250 255

Arg Thr Gly Asp Glu Phe Ser Thr Gly Ile Tyr His Phe Asp Thr Lys
 260 265 270

Pro Leu Lys Leu Thr His Ser Trp Gln Thr Asn Arg Ser Leu Gly Leu
 275 280 285

Pro Pro Lys Leu Leu Thr Glu Pro Thr Thr Glu Gly Asp Gln His Pro
 290 295 300

Gly Thr Leu Pro Ala Ala Asn Thr Arg Lys Gly Tyr His Gln Thr Ile
 305 310 315 320

Asn Asn Ser Tyr Thr Glu Ala Thr Ala Ile Arg Pro Ala Gln Val Gly
 325 330 335

Tyr Asn Thr Pro Tyr Met Asn Phe Glu Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Phe
 340 345 350

Phe Ile Pro Ile Val Pro Thr Ala Asp Thr Gln Tyr Asn Asp Asp Glu
 355 360 365

Pro Asn Gly Gly Ile Arg Phe Thr Met Gly Tyr Gln His Gly Gln Leu
 370 375 380

Ile Thr Ser Ser Gln Glu Val Glu Arg Tyr Thr Phe Asn Pro Gln Arg
 385 390 395 400

Lys Cys Gly Arg Gly Ala Lys Gln Gln Phe Asn Gln Gln Ser Pro Leu
 405 410 415

Asn Ile Gln Asn Thr Asn Asn Gly Thr Ile Leu Pro Ser Asp Pro Ile
 420 425 430

Gly Gly Lys Thr Asn Met His Phe Met Asn Thr Pro Asn Thr Tyr Gly
 435 440 445

Pro Leu Thr Ala Val Asn Asn Thr Ala Pro Val Phe Pro Asn Gly Gln
 450 455 460

Ile Trp Asp Lys Glu Leu Asp Thr Asp Leu Lys Pro Arg Leu His Val
 465 470 475 480

Thr Ala Pro Phe Val Cys Lys Asn Asn Pro Pro Gly Gln Leu Phe Val
 485 490 495

Lys Ile Ala Pro Asn Leu Thr Asp Asp Phe Asn Ala Asp Ser Pro Gln
 500 505 510

Gln Pro Arg Ile Ile Thr Tyr Ser Asn Phe Trp Trp Lys Gly Thr Leu
 515 520 525

Thr Phe Thr Ala Lys Met Arg Ser Ser Asn Met Trp Asn Pro Ile Gln
 530 535 540

Gln His Thr Thr Thr Ala Glu Asn Ile Gly Asn Tyr Ile Pro Thr Asn
 545 550 555 560

045363

Ile Gly Gly Ile Lys Met Phe Pro Glu Tyr Ser Gln Leu Ile Pro Arg
 565 570 575

Lys Leu Tyr

<210> 14

<211> 579

<212> PRT

<213> СВИНОЙ парвовирус

<400> 14

Met Ser Glu Asn Val Glu Gln His Asn Pro Ile Asn Ala Gly Thr Glu
 1 5 10 15

Leu Ser Ala Thr Gly Asn Glu Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 20 25 30

Gly Arg Gly Ala Gly Gly Val Gly Val Ser Thr Gly Ser Phe Asn Asn
 35 40 45

Gln Thr Glu Phe Gln Tyr Leu Gly Glu Gly Leu Val Arg Ile Thr Ala
 50 55 60

His Ala Ser Arg Leu Ile His Leu Asn Met Pro Glu His Glu Thr Tyr
 65 70 75 80

Lys Arg Ile His Val Leu Asn Ser Glu Ser Gly Val Ala Gly Gln Met
 85 90 95

Val Gln Asp Asp Ala His Thr Gln Met Val Thr Pro Trp Ser Leu Ile
 100 105 110

Asp Ala Asn Ala Trp Gly Val Trp Phe Asn Pro Ala Asp Trp Gln Leu
 115 120 125

Ile Ser Asn Asn Met Thr Glu Ile Asn Leu Val Ser Phe Glu Gln Ala
 130 135 140

Ile Phe Asn Val Val Leu Lys Thr Ile Thr Glu Ser Ala Thr Ser Pro
 145 150 155 160

Pro Thr Lys Ile Tyr Asn Asn Asp Leu Thr Ala Ser Leu Met Val Ala
 165 170 175

Leu His Thr Asn Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Arg Ser
 180 185 190

Glu Thr Leu Gly Phe Tyr Pro Trp Leu Pro Thr Lys Pro Thr Gln Tyr
 195 200 205

Arg Tyr Tyr Leu Ser Cys Ile Arg Asn Leu Asn Pro Pro Thr Tyr Thr
 210 215 220

Gly Gln Ser Glu Gln Ile Thr Asp Ser Ile Gln Thr Gly Leu His Ser
 225 230 235 240

Asp Ile Met Phe Tyr Thr Ile Glu Asn Ala Val Pro Ile His Leu Leu
 245 250 255

Arg Thr Gly Asp Glu Phe Ser Thr Gly Ile Tyr His Phe Asp Thr Lys
 260 265 270

045363

Pro Leu Lys Leu Thr His Ser Trp Gln Thr Asn Arg Ser Leu Gly Leu
 275 280 285
 Pro Pro Lys Leu Leu Thr Glu Pro Thr Thr Glu Gly Asp Gln His Pro
 290 295 300
 Gly Thr Leu Pro Ala Ala Asn Thr Arg Lys Gly Tyr His Gln Thr Ile
 305 310 315 320
 Asn Asn Ser Tyr Thr Glu Ala Thr Ala Ile Arg Pro Ala Gln Val Gly
 325 330 335
 Tyr Asn Thr Pro Tyr Met Asn Phe Glu Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Phe
 340 345 350
 Leu Thr Pro Ile Val Pro Thr Ala Asp Thr Gln Tyr Asn Asp Asp Glu
 355 360 365
 Pro Asn Gly Ala Ile Arg Phe Thr Met Asp Tyr Gln His Gly His Leu
 370 375 380
 Thr Thr Ser Ser Gln Glu Leu Glu Arg Tyr Thr Phe Asn Pro Gln Ser
 385 390 395 400
 Lys Cys Gly Arg Thr Pro Lys Gln Gln Phe Asn Gln Gln Ser Pro Leu
 405 410 415
 Asn Leu Gln Asn Thr Asn Asn Gly Thr Leu Leu Pro Ser Asp Pro Ile
 420 425 430
 Gly Gly Lys Thr Asn Met His Phe Met Asn Thr Leu Asn Thr Tyr Gly
 435 440 445
 Pro Leu Thr Ala Leu Asn Asn Thr Ala Pro Val Phe Pro Asn Gly Gln
 450 455 460
 Ile Trp Asp Lys Glu Leu Asp Thr Asp Leu Lys Pro Arg Leu His Val
 465 470 475 480
 Thr Ala Pro Phe Val Cys Lys Asn Asn Pro Pro Gly Gln Leu Phe Val
 485 490 495
 Lys Ile Ala Pro Asn Leu Thr Asp Asp Phe Asn Ala Asp Ser Pro Gln
 500 505 510
 Gln Pro Arg Ile Ile Thr Tyr Ser Asn Phe Trp Trp Lys Gly Thr Leu
 515 520 525
 Thr Phe Thr Ala Lys Met Arg Ser Ser Asn Met Trp Asn Pro Ile Gln
 530 535 540
 Gln His Thr Thr Thr Ala Glu Asn Ile Gly Lys Tyr Ile Pro Thr Asn
 545 550 555 560
 Ile Gly Gly Ile Lys Met Phe Pro Glu Tyr Ser Gln Leu Ile Pro Arg
 565 570 575
 Lys Leu Tyr

<210> 15
 <211> 579
 <212> PRT

045363

<213> Свиной парвовирус

<400> 15

Met Ser Glu Asn Val Glu Gln His Asn Pro Ile Asn Ala Gly Thr Glu
 1 5 10 15
 Leu Ser Ala Thr Gly Asn Glu Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 20 25 30
 Gly Arg Gly Ala Gly Gly Val Gly Val Ser Thr Gly Ser Phe Asn Asn
 35 40 45
 Gln Thr Glu Phe Gln Tyr Leu Gly Glu Gly Leu Val Arg Ile Thr Ala
 50 55 60
 His Ala Ser Arg Leu Ile His Leu Asn Met Pro Glu His Glu Thr Tyr
 65 70 75 80
 Lys Arg Ile His Val Leu Asn Ser Glu Ser Gly Val Ala Gly Gln Met
 85 90 95
 Val Gln Asp Asp Ala His Thr Gln Met Val Thr Pro Trp Ser Leu Ile
 100 105 110
 Asp Ala Asn Ala Trp Gly Val Trp Phe Asn Pro Ala Asp Trp Gln Leu
 115 120 125
 Ile Ser Asn Asn Met Thr Glu Ile Asn Leu Val Ser Phe Glu Gln Glu
 130 135 140
 Ile Phe Asn Val Val Leu Lys Thr Ile Thr Glu Ser Ala Thr Ser Pro
 145 150 155 160
 Pro Thr Lys Ile Tyr Asn Asn Asp Leu Thr Ala Ser Leu Met Val Ala
 165 170 175
 Leu Asp Thr Asn Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Arg Ser
 180 185 190
 Glu Thr Leu Gly Phe Tyr Pro Trp Leu Pro Thr Lys Pro Thr Gln Tyr
 195 200 205
 Arg Tyr Tyr Leu Ser Cys Thr Arg Asn Leu Asn Pro Pro Thr Tyr Thr
 210 215 220
 Gly Gln Ser Glu Gln Ile Thr Asp Ser Ile Gln Thr Gly Leu His Ser
 225 230 235 240
 Asp Ile Met Phe Tyr Thr Ile Glu Asn Ala Val Pro Ile His Leu Leu
 245 250 255
 Arg Thr Gly Asp Glu Phe Ser Thr Gly Ile Tyr His Phe Asp Thr Lys
 260 265 270
 Pro Leu Lys Leu Thr His Ser Trp Gln Thr Asn Arg Ser Leu Gly Leu
 275 280 285
 Pro Pro Lys Leu Leu Thr Glu Pro Thr Thr Glu Gly Asp Gln His Pro
 290 295 300
 Gly Thr Leu Pro Ala Ala Asn Thr Arg Lys Gly Tyr His Gln Thr Ile
 305 310 315 320
 Asn Asn Ser Tyr Thr Glu Ala Thr Ala Ile Arg Pro Ala Gln Val Gly

045363

325 330 335
 Tyr Asn Thr Pro Tyr Met Asn Phe Glu Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Phe
 340 345 350
 Leu Thr Pro Ile Val Pro Thr Ala Asp Thr Gln Tyr Asn Asp Asp Glu
 355 360 365
 Pro Asn Gly Ala Ile Arg Phe Thr Met Gly Tyr Gln His Gly Gln Leu
 370 375 380
 Thr Thr Ser Ser Gln Glu Leu Glu Arg Tyr Thr Phe Asn Pro Gln Ser
 385 390 395 400
 Lys Cys Gly Arg Ala Pro Lys Gln Gln Phe Asn Gln Gln Ser Pro Leu
 405 410 415
 Asn Leu Gln Asn Thr Asn Asn Gly Thr Leu Leu Pro Ser Asp Pro Ile
 420 425 430
 Gly Gly Lys Thr Asn Met His Phe Met Ser Thr Leu Asn Thr Tyr Gly
 435 440 445
 Pro Leu Thr Ala Leu Asn Asn Thr Ala Pro Val Phe Pro Asn Gly Gln
 450 455 460
 Ile Trp Asp Lys Glu Leu Asp Thr Asp Leu Lys Pro Arg Leu His Val
 465 470 475 480
 Thr Ala Pro Phe Val Cys Lys Asn Asn Pro Pro Gly Gln Leu Phe Val
 485 490 495
 Lys Ile Ala Pro Asn Leu Thr Asp Asp Phe Asn Ala Asp Ser Pro Gln
 500 505 510
 Gln Pro Arg Ile Ile Thr Tyr Ser Asn Phe Trp Trp Lys Gly Thr Leu
 515 520 525
 Thr Phe Thr Ala Lys Met Arg Ser Ser Asn Met Trp Asn Pro Ile Gln
 530 535 540
 Gln His Thr Thr Thr Ala Glu Asn Ile Gly Asn Tyr Ile Pro Thr Asn
 545 550 555 560
 Ile Gly Gly Ile Lys Met Phe Pro Glu Tyr Ser Gln Leu Ile Pro Arg
 565 570 575

Lys Leu Tyr

<210> 16

<211> 579

<212> PRT

<213> Свиной парвовирус

<400> 16

Met Ser Glu Asn Val Glu Gln His Asn Pro Ile Asn Ala Gly Thr Glu
 1 5 10 15
 Leu Ser Ala Thr Gly Asn Glu Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 20 25 30
 Gly Arg Gly Ala Gly Gly Val Gly Val Ser Thr Gly Ser Phe Asn Asn
 35 40 45

045363

Gln Thr Glu Phe Gln Tyr Leu Gly Glu Gly Leu Val Arg Ile Thr Ala
50 55 60

His Ala Ser Arg Leu Ile His Leu Asn Met Pro Glu His Glu Thr Tyr
65 70 75 80

Lys Arg Ile His Val Leu Asn Ser Glu Ser Gly Val Ala Gly Gln Met
85 90 95

Val Gln Asp Asp Ala His Thr Gln Met Val Thr Pro Trp Ser Leu Ile
100 105 110

Asp Ala Asn Ala Trp Gly Val Trp Phe Asn Pro Ala Asp Trp Gln Leu
115 120 125

Ile Ser Asn Asn Met Thr Glu Ile Asn Leu Val Ser Phe Glu Gln Glu
130 135 140

Ile Phe Asn Val Val Leu Lys Thr Ile Thr Glu Ser Ala Thr Ser Pro
145 150 155 160

Pro Thr Lys Ile Tyr Asn Asn Asp Leu Thr Ala Ser Leu Met Val Ala
165 170 175

Leu Asp Thr Asn Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Arg Ser
180 185 190

Glu Thr Leu Gly Phe Tyr Pro Trp Leu Pro Thr Lys Pro Thr Gln Tyr
195 200 205

Arg Tyr Tyr Leu Ser Cys Thr Arg Asn Leu Asn Pro Pro Thr Tyr Thr
210 215 220

Gly Gln Ser Glu Gln Ile Thr Asp Ser Ile Gln Thr Gly Leu His Ser
225 230 235 240

Asp Ile Met Phe Tyr Thr Ile Glu Asn Ala Val Pro Ile His Leu Leu
245 250 255

Arg Thr Gly Asp Glu Phe Ser Thr Gly Ile Tyr His Phe Asp Thr Lys
260 265 270

Pro Leu Lys Leu Thr His Ser Trp Gln Thr Asn Arg Ser Leu Gly Leu
275 280 285

Pro Pro Lys Leu Leu Thr Glu Pro Thr Thr Glu Gly Asp Gln His Pro
290 295 300

Gly Thr Leu Pro Ala Ala Asn Thr Arg Lys Gly Tyr His Gln Thr Thr
305 310 315 320

Asn Asn Ser Tyr Thr Glu Ala Thr Ala Ile Arg Pro Ala Gln Val Gly
325 330 335

Tyr Asn Thr Pro Tyr Met Asn Phe Glu Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Phe
340 345 350

Leu Thr Pro Ile Val Pro Thr Ala Asp Thr Gln Tyr Asn Asp Asp Glu
355 360 365

Pro Asn Gly Ala Ile Arg Phe Thr Met Gly Tyr Gln His Gly Gln Leu
370 375 380

Thr Thr Ser Ser Gln Glu Leu Glu Arg Tyr Thr Phe Asn Pro Gln Ser
385 390 395 400

Lys Cys Gly Arg Ala Pro Lys Gln Gln Phe Asn Gln Gln Ser Pro Leu
405 410 415

Asn Leu Gln Asn Thr Asn Asn Gly Thr Leu Leu Pro Ser Asp Pro Ile
420 425 430

Gly Gly Lys Thr Asn Met His Phe Met Asn Thr Leu Asn Thr Tyr Gly
435 440 445

Pro Leu Thr Ala Leu Asn Asn Thr Ala Pro Val Phe Pro Asn Gly Gln
450 455 460

Ile Trp Asp Lys Glu Leu Asp Thr Asp Leu Lys Pro Arg Leu His Val
465 470 475 480

Thr Ala Pro Phe Val Cys Lys Asn Asn Pro Pro Gly Gln Leu Phe Val
485 490 495

Lys Ile Ala Pro Asn Leu Thr Asp Asp Phe Asn Ala Asp Ser Pro Gln
500 505 510

Gln Pro Arg Ile Ile Thr Tyr Ser Asn Phe Trp Trp Lys Gly Thr Leu
515 520 525

Thr Phe Thr Ala Lys Met Arg Ser Ser Asn Met Trp Asn Pro Ile Gln
530 535 540

Gln His Thr Thr Thr Ala Glu Asn Ile Gly Asn Tyr Ile Pro Thr Asn
545 550 555 560

Ile Gly Gly Ile Lys Met Phe Pro Glu Tyr Ser Gln Leu Ile Pro Arg
565 570 575

Lys Leu Tyr

29

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Вирусный белок 2 (VP2) свиного парвовируса (PPV), содержащий:
 - в аминокислотном положении 25 изолейциновый остаток; и
 - в аминокислотном положении 36 сериновый остаток; и
 - в аминокислотном положении 37 изолейциновый остаток; и
 - в аминокислотном положении 228 остаток глутаминовой кислоты или глутаматный остаток; и
 - в аминокислотном положении 414 сериновый остаток; и
 - в аминокислотном положении 419 глутаминовый остаток; и
 - в аминокислотном положении 436 треониновый остаток; и
 причем нумерация аминокислотных позиций относится к аминокислотной последовательности дикого типа PPV VP2, причем аминокислотная последовательность PPV VP2 дикого типа относится к аминокислотной последовательности, показанной в SEQ ID NO: 1.
2. PPV VP2 по п.1, отличающийся тем, что вышеупомянутый PPV VP2:
 - I) включает или состоит из аминокислотной последовательности, которая имеет по меньшей мере 90% идентичность с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2; или
 - II) кодируется нуклеотидной последовательностью, кодирующей аминокислотную последователь-

ность, которая имеет по меньшей мере 90% идентичность с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2.

3. Иммуногенная композиция, включающая PPV VP2 по любому из пп.1, 2.

4. Иммуногенная композиция по п.3, отличающаяся тем, что иммуногенная композиция также включает фармацевтически приемлемый носитель, причем фармацевтически приемлемым носителем предпочтительно является карбомер.

5. Иммуногенная композиция по п.3 или 4, отличающаяся тем, что иммуногенная композиция является вакциной.

6. Полинуклеотид, включающий последовательность, которая кодирует PPV VP2 по любому из пп.1, 2.

7. Вектор, включающий полинуклеотид по п.6.

8. Вектор по п.7, где вектор является вектором экспрессии, предпочтительно бакуловирусом.

9. Клетка, включающая полинуклеотид по п.6 или вектор по п.7 или 8.

10. Клетка по п.9, где клетка является клеткой насекомого, более предпочтительно клеткой насекомого, выбранной из группы, состоящей из Sf9 клеток, Sf+ клеток.

11. Вирусоподобная частица, включающая PPV VP2 по любому из пп.1, 2.

12. Способ получения PPV VP2 по любому из пп.1, 2, включающий трансфекцию клетки вектором по п.7 или 8.

13. Способ получения по п.12, где клетка является клеткой насекомого, предпочтительно клеткой насекомого, выбранной из группы, состоящей из Sf9 клеток, Sf+ клеток.

14. Применение PPV VP2 по любому из пп.1, 2 в качестве лекарственного средства.

15. Применение по п.14, где лекарственное средство является вакциной.

16. Применение вирусоподобной частицы по п.11 в качестве лекарственного средства.

17. Применение по п.16, где лекарственное средство является вакциной.

18. Применение иммуногенной композиции по любому из пп.3-5 в способе лечения и/или предотвращения инфекции PPV и/или в способе уменьшения, предотвращения и/или лечения клинических признаков, вызванных инфекцией PPV у нуждающегося субъекта, причем способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества иммуногенной композиции по любому из пп.3-5, где предпочтительно такие клинические признаки, вызванные инфекцией PPV, выбирают из группы, состоящей из транзиторной лейкопении и репродуктивной недостаточности, характеризующейся эмбриональной инфекцией и гибелью плода, уменьшением размера помета, увеличением мумификации эмбриона или плода в каждом помете, аутолизом эмбриона или плода, уменьшением размера эмбриона или плода, снижением массы эмбриона или плода, повышенной вирусемией, повышенной вирусной нагрузкой в тканях-мишенях и крови, повышенной передачей/распространением PPV среди сородичей или их комбинации; и где субъектом является ремсвинка, и где предпочтительно иммуногенная композиция безопасна для свинки с 30 дня беременности, более предпочтительно с 40 дня беременности.

19. Применение иммуногенной композиции по любому из пп.3-5 в способе лечения и/или предотвращения клинических признаков, вызванных инфекцией PPV у субъекта, который в этом нуждается, причем способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества иммуногенной композиции по любому из пп.3-5, где субъектом является ремсвинка, и где предпочтительно иммуногенная композиция безопасна для ремсвинки с 30 дня беременности, более предпочтительно с 40 дня беременности.

20. Применение иммуногенной композиции по любому из пп.3-5 в способе снижения репродуктивной недостаточности у субъекта по сравнению с субъектом неиммунизированной контрольной группы того же вида, причем способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества иммуногенной композиции по любому из пп.3-5, где субъектом является ремсвинка, и где предпочтительно иммуногенная композиция безопасна для ремсвинки с 30 дня беременности, более предпочтительно с 40 дня беременности.

