



(51) МПК
A61K 39/12 (2006.01)
A61P 31/06 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2010112939/15, 02.09.2008

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
02.09.2008

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
04.09.2007 DE EP07115609.5

(43) Дата публикации заявки: **20.10.2011** Бюл. № 29

(45) Опубликовано: **27.08.2013** Бюл. № 24

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **WO 2006113372 A2, 26.10.2006. WO 2006072065 A2, 06.07.2006. CHARBONNEAU G. Canadian experiences with porcine circovirus-associated disease// Presentation at the IOWA PORK CONGRESS, Des Moines IA, 24.01.2007. RU 2283862 C2, 20.09.2006.**

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: **05.04.2010**

(86) Заявка РСТ:
EP 2008/061566 (02.09.2008)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2009/030684 (12.03.2009)

Адрес для переписки:

105082, Москва, Спартаковский пер., д. 2, стр. 1, секция 1, этаж 3, "ЕВРОМАРКПАТ"

(72) Автор(ы):

**ФАХИНГЕР Викки (DE),
 ЭЛЬБЕРС Кнут (DE),
 КИКСМЁЛЛЕР Марион (DE)**

(73) Патентообладатель(и):

**БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ
 ВЕТМЕДИКА, ИНК. (US)**

**(54) СНИЖЕНИЕ СОПУТСТВУЮЩИХ ИНФЕКЦИЙ У СВИНЕЙ С ПОМОЩЬЮ
 АНТИГЕНА PCV2**

(57) Реферат:

Изобретение относится к ветеринарии. Применение протеина ORF-2 PCV-2 для приготовления иммуногенной композиции, предназначенной для снижения сопутствующих инфекций, которые вызываются одним или несколькими вирусными (например, PRRS), бактериальными и/или грибными патогенами (например, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus*

parausis, *Mycoplasma hyrhinis*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Salmonella* spp. или *Streptococcus suis*), отличными от PCV2, у свиней или в стаде свиней, причем процент сопутствующих инфекций в отношении одной или нескольких инфекций снижают более чем на 10% по сравнению с невакцинированной контрольной группой. 7 з.п. ф-лы, 2 табл., 1 пр., 1 ил.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 39/12 (2006.01)
A61P 31/06 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2010112939/15, 02.09.2008**

(24) Effective date for property rights:
02.09.2008

Priority:

(30) Convention priority:
04.09.2007 DE EP07115609.5

(43) Application published: **20.10.2011 Bull. 29**

(45) Date of publication: **27.08.2013 Bull. 24**

(85) Commencement of national phase: **05.04.2010**

(86) PCT application:
EP 2008/061566 (02.09.2008)

(87) PCT publication:
WO 2009/030684 (12.03.2009)

Mail address:
**105082, Moskva, Spartakovskij per., d. 2, str. 1,
seksija 1, ehtazh 3, "EVROMARKPAT"**

(72) Inventor(s):
**FAKhINGER Vikki (DE),
EhL'BERS Knut (DE),
KIKSMELLER Marion (DE)**

(73) Proprietor(s):
**BERINGER INGEL'KhAJM VETMEDIKA, INK.
(US)**

(54) RELIEVING CONCURRENT INFECTIONS IN PIGS USING PCV2 ANTIGEN

(57) Abstract:
FIELD: medicine.
SUBSTANCE: invention refers to veterinary science. Using ORF-2 PCV-2 protein for preparing an immunogenic composition applicable for relieving concurrent infections caused by one or more viral (e.g. PRRS), bacterial and/or fungal pathogens (e.g. Actinobacillus pleuropneumoniae, Haemophilus parasuis, Mycoplasma hyrhinis, Mycoplasma hyopneumoniae, Pasteurella multocida, Salmonella

spp., or Streptococcus suis) different from PCV2 in pigs or pig herds with a percent of the concurrent infections in relation to one or more infections are reduced by more than 10% as compared to an unvaccinated reference group.

EFFECT: relieving the concurrent infections caused by one or more viral (eg PRRS), bacterial and/or fungal pathogens.

8 cl, 2 tbl, 1 ex, 11 dwg

RU 2 491 092 C2

RU 2 491 092 C2

Перечень последовательностей

В настоящую заявку входит перечень последовательностей в бумажной и электронной версии, сущность и содержание которого включено в настоящее описание в качестве ссылки. Перечень последовательностей идентичен перечню, включенному в WO 06/072065.

Предпосылки создания изобретения

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к ветеринарии, в частности к инфекционным болезням. Кроме того, настоящее изобретение относится к способу снижения сопутствующих инфекций у свиней, которые вызываются патогенами, отличными от PCV2.

Описание известного уровня техники

В 1996 г. было описано новое заболевание, обозначенное как «синдром после отъемного мультисистемного истощения» (PMWS), применительно к случаям, которые были обнаружены в Канаде 5-ю годами раньше (Clark T. Pathology of the Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome of Pigs, 1996, сс.22-25). В качестве основного возбудителя этого синдрома болезни был идентифицирован цирковирус свиней типа 2 (PCV2). При этом PMWS обнаружен практически во всех регионах мира, в которых разводят свиней (Brunborg I.M., Moldal T., Jonassen S.M., J Virol Methods 15, 122(2), 20 декабря 2004 г., сс.171-178). Наиболее часто поражаются свиньи возрастом 5-15 недель (Allan G, McNeilly F., PMWS/PCVD: Diagnosis, Disease and Control: What do we know?, 16 июля-19 июля 2006 г., Allan GM и др., Vet Microbiol, 98(2), 4 февраля 2004 г., сс.165-168; Chae C., Vet J, 168(1), июль 2004 г., сс.41-49). Клинические признаки включают значительное увеличение коэффициента смертности, истощение, генерализованное увеличение лимфатических узлов, респираторные симптомы и иногда бледность, желтуху и диарею (Chae C., Vet J, 169(3), май 2005 г., сс.326-336; Segales J. и др., Vet Microbiol, 98(2), 4 февраля 2004 г., сс.151-158). Эти клинические признаки не все проявляются одновременно в пораженном PMWS стаде свиней, но, вероятно, что проявление клинических признаков косвенно связано со специфическими для фермы копатогенами, мишенью которых являются различные системы органов (Krakowka S. и др., Vet Pathol, 38(1), январь 2001 г., сс.31-42).

Эпидемиологические исследования продемонстрировали, что наиболее часто синдром заболевания встречается в сочетании с присутствием возбудителя репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PRRSV), вируса свиного гриппа (SIV), парвовируса свиней (PPV), Haemophilus parasuis, Actinobacillus pleuropneumoniae (APP), Streptococcus suis и Mycoplasma hyopneumoniae (Chae C., Vet J, 168(1), июль 2004 г., сс.41-49).

Было постулировано, что для проявления PMWS основное значение имеет активация иммунной системы (Krakowka S. и др., Vet Pathol, 38(1), январь 2001 г., сс.31-42). В то время как экспериментальная инокуляция только PCV2 приводила к возникновению лишь асимптоматических инфекций и очень незначительного гистологического проявления воспаления, двойное заражение PCV2 и PPV или PRRSV приводило к более серьезным клиническим признакам, макроскопическим и гистологическим повреждениям, более широкому распространению и более высокому уровню вирусной нагрузки PCV2 в пораженных тканях. Эти результаты позволяют предположить, что основную роль играет PCV2, поскольку заражение только PRRSV или PPV не приводит к сопоставимым клиническим признакам или повреждениям (Allan и др., J Comp Pathol, 121(1), июль 1999 г., сс.1-11; Allan G.M. и др., Arch Virol. 145(11), 2000, сс.2421-2429; Harms P.A. и др., Vet Pathol, 38(5), сентябрь 2001

г., сс.528-539; Krakowka S. и др., *Vet Pathol*, 37(3), май 2000 г., сс.254-263; Ostanello F. и др., *Vet Microbiol*, 108(3-4), 1 июля 2005 г., сс.179-186; Rovira A. и др., *J Virol*, 76(7), апреля 2002 г., сс.3232-3239). Кроме того, аналогичного усиления серьезности заболевания можно достигать также в отсутствии коинфицирующих агентов при иммуностимуляции свиней гемоцианином лимфы улитки в неполном адьюванте Фрейнда (KLH/ICFA) (Krakowka S. и др., *Vet Pathol*, 38(1), январь 2001 г., сс.31-42).

Воздействие PCV2 на иммунную систему свиней пока недостаточно изучено.

Известно, что основными клетками-мишенями, в которых происходит репликация PCV2, являются линия клеток моноцитов/макрофагов, а также другие антигенпрезентирующие клетки, такие как фолликулярные дендритные клетки (Darwich L. и др., *Arch Virol*, 149(5), май 2004 г., сс.857-874). В нескольких исследованиях было выдвинуто предположение о том, что PCV2 заражает делящиеся клетки, макрофаги и В-лимфоциты, индуцируя апоптоз В-клеток, что приводит к повреждению лимфоидных тканей, обуславливающему значительное истощение лимфоцитов (Darwich L. и др., *Arch Virol*, 149(5), май 2004 г., сс.857-874). У пораженных PMWS свиней, прежде всего, проявляются инфильтрация гистиоцитов и истощение лимфоцитов, как фолликулярных центров, так и парафолликулярных зон, т.е. симптомы, ассоциированные с присутствием PCV2 (Segales J. и др., *Vet Microbiol*, 98(2), 4 февраля 2004 г., сс.151-8; Darwich L. и др., *Arch Virol*, 149(5), май 2004, сс.857-874). Эти факты позволяют предположить, что заражение PCV2 может приводить к иммуносупрессии (Darwich L. и др., *Arch Virol*, 149(5), май 2004, сс.857-874; Krakowka S. и др., *Viral Immunol* 15(4), 2002, сс.567-582).

Подходы к лечению вызываемых PCV2 инфекций, основанные на применении ДНК-вакцины, описаны в US 6703023. В WO 03/049703 описано получение живой химерной вакцины, содержащей каркас PCV-1, в которой ген каркаса PCV-1 заменен на иммуногенный ген патогенных штаммов PCV2. В WO 99/18214 описано несколько штаммов PCV2 и процедуры получения убитой вакцины против PCV2. Эффективная субъединичная вакцина на основе OPC-2 (открытой рамки считывания 2) описана в WO 06/072065. Любая из указанных вакцин предназначена для применения с целью вакцинации/лечения свиней от PMWS.

В настоящее время отсутствуют данные о потенциальной роли вызываемых PCV2 инфекций на встречаемость сопутствующих инфекций, которые вызываются различными соответствующими свиными патогенами. В частности, отсутствуют данные о потенциальном взаимодействии PCV2 и специфических патогенов, таких как *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Mycoplasma hyorhinis*, *Pasteurella multocida*, *PRRSV*, *Salmonella* spp., *SIV* или *Streptococcus suis*. Кроме того, несмотря на то, что уже в течение некоторого времени известны различные вакцины против PCV2, их воздействие на сопутствующие отличные от PCV2 инфекции свиней пока не установлено.

Краткое описание чертежа

На чертеже показан профиль появления вируса PCV2 в крови (виремия). Получали образцы крови из предварительно отобранных обработанных плацебо животных (фиг.1А; n=110) и вакцинированных животных (фиг.1Б; n=110) в определенные моменты времени. На основе результатов количественной ПЦР животных группировали в классы животных с субклиническими вирусными нагрузками (10^4 - 10^6 геномных эквивалентов (гЭ)/мл) и с клинически значимыми вирусными нагрузками ($>10^6$ гЭ/мл). Белыми столбиками обозначена доля животных с субклиническими вирусными нагрузками, а черные столбики иллюстрируют долю животных с

клинически значимыми вирусными нагрузками в день отбора образцов.

Подробное описание изобретения

При создании настоящего изобретения неожиданно было установлено, что вакцина против PCV2 может не только снижать процент PCV2-инфекций у свиней или в стаде свиней, но также снижать процент сопутствующих инфекций, вызываемых патогенами, отличными от цирковируса, в частности отличными от PCV2.

Таким образом, одним из объектов настоящего изобретения является способ снижения процента сопутствующих инфекций у свиней или в стаде свиней, вызываемых одним или несколькими патогенами, которые отличны от PCV2, заключающийся в том, что вводят свинье(ям) в эффективном количестве антиген PCV2 или иммуногенную композицию, которая содержит антиген PCV2.

Понятие «сопутствующие инфекции» в контексте настоящего описания означает (но, не ограничиваясь только ими) любую инфекцию свиней, вызываемую такими патогенами как вирусы, бактерии, грибы или черви, отличными от цирковируса, в частности, отличными от PCV2. Понятие «сопутствующий патоген» в контексте настоящего описания означает (но, не ограничиваясь только ими) патоген свиней, отличный от цирковируса, в частности, отличный от PCV2. Таким образом, следующим объектом настоящего изобретения является способ снижения процента сопутствующих инфекций у свиней или в стаде свиней, вызываемых одним или несколькими патогенами, такими как вирусы, бактерии, грибы или черви, отличными от цирковируса, в частности, отличными от PCV2, заключающийся в том, что вводят свинье(ям) в эффективном количестве антиген PCV2 или иммуногенную композицию, которая содержит антиген PCV2. Предпочтительно сопутствующие инфекции вызываются одним или несколькими бактериальными, вирусными или грибными патогенами или их комбинациями. Более предпочтительно сопутствующие инфекции вызываются одним или несколькими бактериальными или вирусными патогенами или их комбинацией.

Согласно другому объекту настоящего изобретения понятие «сопутствующие инфекции» означает также, что свинью, которая заражена одним или несколькими сопутствующими патогенами, отличными от цирковируса, в частности отличными от PCV2, коинфицируют PCV2. Таким образом, следующим объектом настоящего изобретения является способ снижения процента сопутствующих инфекций у свиней или в стаде свиней, коинфицированных PCV2, в котором сопутствующие инфекции вызываются одним или несколькими патогенами, отличными от цирковируса, в частности отличными от PCV2, заключающийся в том, что вводят свинье(ям) в эффективном количестве антиген PCV2 или иммуногенную композицию, которая содержит антиген PCV2. Предпочтительно сопутствующие инфекции вызываются одним или несколькими такими патогенами как вирусы, бактерии, грибы или черви, отличными от цирковируса, в частности, отличными от PCV2.

Понятие «коинфицированный PCV2» в контексте настоящего изобретения означает (но, не ограничиваясь только ими) любую форму коинфекции PCV2, это означает, что заражение PCV2 имеет место до, одновременно или после заражения патогенами, отличными от цирковируса, в частности, отличными от PCV2. Под понятие подпадают также субклинические, имеющие клиническое проявление, молниеносные и хронические формы вызываемых PCV2 инфекций. В этом контексте формы проявления не ограничены PMWS, а включают также другие клинические проявления вызываемых PCV2 инфекций, такие как комплекс респираторных болезней

свиней (PRDC), синдром свиного дерматита и нефропатии (PDNS), снижение репродуктивной функции, гранулематозные энтериты и, возможно, врожденный тремор (СТ-АП) и перинатальный миокардит (Chae, Veterinary J., 169, 2005, сс.326-336).

5 Однако понятие «сопутствующая инфекция» не обязательно подразумевает, что свинья или стадо свиней коинфицированы PCV2. Понятие «сопутствующая инфекция» относится также (но, не ограничиваясь только ими) к случаям, когда свиньи или стадо свиней подвергаются воздействию PCV2 или имеют риск заражения PCV2. Таким образом, следующим объектом настоящего изобретения является способ снижения процента сопутствующих инфекций у свиней или в стаде свиней, которые подвергаются воздействию PCV2 или подвергаются риску заражения PCV2 или являются чувствительными к заражению PCV2, где сопутствующие инфекции вызываются одним или несколькими патогенами, отличными от цирковируса, в частности, отличными от PCV2, заключающийся в том, что вводят свинье(ям) в эффективном количестве антиген PCV2 или иммуногенную композицию, которая содержит антиген PCV2. Предпочтительно сопутствующие инфекции вызываются одним или несколькими такими патогенами как вирусы, бактерии, грибы или черви, отличными от цирковируса, в частности, отличными от PCV2.

10 Понятие «снижение процента сопутствующих инфекций» означает, что количество свиней, зараженных патогеном, отличным от цирковируса, снижено более чем на 10%, предпочтительно более чем на 20%, более предпочтительно более чем на 30%, еще более предпочтительно более чем на 40%, еще более предпочтительно более чем на 50%, еще более предпочтительно более чем на 60%, еще более предпочтительно более чем на 80%, еще более предпочтительно более чем на 100% по сравнению с невакцинированной контрольной группой. В этом контексте понятие «невакцинированная контрольная группа» означает группу свиней, которым не вводили в эффективном количестве антиген PCV2 или иммуногенную композицию, содержащую антиген PCV2. Таким образом, следующим объектом настоящего изобретения является способ снижения процента сопутствующих инфекций у свиней или в стаде свиней, вызываемых патогеном, отличным от цирковируса, в частности отличным от PCV2, заключающийся в том, что вводят свинье(ям) в эффективном количестве антиген PCV2 или иммуногенную композицию, которая содержит антиген PCV2, в котором количество свиней, зараженных патогеном, отличным от цирковируса, снижают более чем на 10%, предпочтительно более чем на 20%, более предпочтительно более чем на 30%, еще более предпочтительно более чем на 40%, еще более предпочтительно более чем на 50%, еще более предпочтительно более чем на 60%, еще более предпочтительно более чем на 80%, еще более предпочтительно более чем на 100% по сравнению с невакцинированной контрольной группой. Предпочтительно сопутствующая инфекция вызывается вирусным, бактериальным или грибным патогеном, отличным от цирковируса, в частности, отличным от PCV2. Более предпочтительно свиньи или стадо свиней коинфицированы PCV2, как указано выше, подвергнуты воздействию PCV2 или имеют риск заражения PCV2 или чувствительны к заражению PCV2.

45 Сопутствующие инфекции, вызываемые вирусным, бактериальным или грибным патогеном, отличным от цирковируса, в частности, отличным от PCV2, могут проявляться у зараженных животных в виде энтерита, симптомов, связанных с воздействием на респираторную систему, репродуктивную систему, центральную нервную систему или локомоторную активность. Можно снижать проявление любого

из указанных клинических симптомов, вызываемых соответствующими патогенами. Таким образом, следующим объектом настоящего изобретения является способ снижения процента сопутствующих инфекций у свиней или в стаде свиней, которые вызываются одним или несколькими отличными от PCV2 патогенами, заражение которыми может проявляться в виде энтерита, воздействия на респираторную систему, репродуктивную систему, центральную нервную систему или локомоторную активность, заключающийся в том, что вводят свинье(ям) в эффективном количестве антиген PCV2 или иммуногенную композицию, которая содержит антиген PCV2.

Предпочтительно свиньи коинфицированы PCV2, как указано выше, подвергнуты воздействию PCV2 или имеют риск заражения PCV2 или чувствительны к заражению PCV2. Более предпочтительно количество свиней, инфицированных отличным от цирковируса патогеном, заражение которым проявляется в виде энтерита, воздействия на респираторную систему, репродуктивную систему, центральную нервную систему или локомоторную активность, снижают касательно патогена, заражение которым проявляется в виде энтерита, воздействия на респираторную систему, репродуктивную систему или центральную нервную систему или локомоторную активность, более чем на 10%, предпочтительно более чем на 20%, более предпочтительно более чем на 30%, еще более предпочтительно более чем на 40%, еще более предпочтительно более чем на 50%, еще более предпочтительно более чем на 60%, еще более предпочтительно более чем на 80%, еще более предпочтительно более чем на 100% по сравнению с невакцинированной контрольной группой.

Примерами патогенов, которые вызывают энтерит (энтерических патогенов), являются *Lawsonia intracellularis*, *E.coli*, *Streptococcus suis*, *Clostridium spp*, *Salmonella spp.*, *Brachyspira spp.*, ротавирусы или коронавирусы. Примерами патогенов, которые оказывают воздействие на респираторную систему, являются PRRSV, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*. Примерами патогенов, которые оказывают воздействие на репродуктивную систему, являются *Leptospira spp.*, PRRSV, *Chlamydia spp*. Примерами патогенов, которые оказывают воздействие на локомоторную активность, являются *S. suis*, *M. hyorhinis*, *Erysipelotrix rhusiopathiae*. Примерами патогенов, которые оказывают воздействие на центральную нервную систему, являются вирус псевдобешенства, *S. suis*, *Haemophilus sp*.

В целом, понятие «патоген, отличный от PCV2» относится (но, не ограничиваясь только ими) к одному или нескольким патогенам, выбранных из группы, включающей: *Actinobacillus suis*; *Arcanobacterium pyogenes*; *Actinobacillus pleuropneumonia* (APP); вирус африканской чумы свиней; *Aspergillus spp.*; *Astroviruses*; *Ascaris suum*; *Blastocystis spp.*; *Bordetella bronchiseptica*; *Brachyspira spp.*, *B. hyodysenteriae*, *B. pilosicoli*; *Brucella suis*, биовары 1, 2 и 3 *Brucella suis*; *Candida spp.*; вирус классической чумы свиней; *Clostridium spp.*, в частности *C. difficile*, *C. perfringens* типов А, В и С, *C. novyi*, *C. septicum*, *C. difficile*, *C. tetani*; *Chlamydia spp.*, *Cryptosporidium spp.*; вирус энцефаломиокардита; *Eperythrozoonosis suis*; *Erysipelothrix rhusiopathiae*; *Escherichia coli*; *Fusarium spp.*; *Haemophilus parasuis*; гемагглютинирующий вирус энцефаломиелита; вирус гепатита Е; вирус японского энцефалита; *Hyostrogylus rubidus*; *Lawsonia intracellularis*; *Leptospira spp.*, *L. australis*, *L. canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagicae*, *L. interrogans*, *L. tarassovi*, *L. hardjo*, *L. sejroe*, *L. bratislava*; *Mannheimia haemolytica*; вирус «Менангл»; *Mycobacterium spp.*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. tuberculosis*; *Mycoplasma spp.*, *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*; вирус Нипах; *Oesophagostum spp.*, *Oesophagostum dentatum*, *Oesophagostum quadrosplinatum*;

Pasteurella spp., *P. multocida*; *Penicillium* spp.; аденовирус свиней; цитомегаловирус свиней; энтеритные калицивирусы свиней; энтеритные пикорнавирусы свиней; парвовирус свиней; респираторный коронавирус свиней; вирус PRRS; вирус псевдобешенства; реовирус; ротавирус; рубулавирус; *Salmonella* spp., *S. typhimurium*, *S. choleraesuis*, *S. dublin*; *Sarcoptes* spp.; *Staphylococcus hyicus*; *Streptococcus* spp., *S. suis*, *S. porcicus*, *S. dysgalactiae*, *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*; *Strongyloides ransomi*, вирус герпеса свиней; вирус свиного гриппа; вирус оспы свиней; вирус трансмиссивного гастроэнтерита; *Trichuris* spp. *Taenia* spp., *Trichinella spiralis*; вирус везикулезного стоматита; вирус везикулезной экзантемы свиней; вирус Западного Нила; или *Yersinia* spp., *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*.

Таким образом, следующим объектом настоящего изобретения является способ снижения процента сопутствующих инфекций у свиней или в стаде свиней, которые вызываются одним или несколькими патогенами, отличными от PCV2, заключающийся в том, что вводят свинье(ям) в эффективном количестве антиген PCV2,

или иммуногенную композицию, содержащую антиген PCV2, в котором патогены, которые вызывают сопутствующие инфекции, выбирают из группы, включающей: *Actinobacillus suis*; *Arcanobacterium pyogenes*; *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP); вирус африканской чумы свиней; *Aspergillus* spp.; *Astroviruses*; *Ascaris suum*; *Blastocystis* spp.; *Bordetella bronchiseptica*, *Brachyspira* spp., *B. hyodysenteriae*, *B. pilosicoli*; *Brucella suis*, биовары 1, 2 и 3 *Brucella suis*; *Candida* spp.; вирус классической чумы свиней; *Clostridium* spp., в частности *C. difficile*, *C. perfringens* типов А, В и С, *C. novyi*, *C. septicum*, *C. difficile*, *C. tetani*; *Chlamydia* spp., *Cryptosporidium* spp.; вирус энцефаломиокардита; *Eperythrozoonosis suis*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*; *Escherichia coli*; *Fusarium* spp.; *Haemophilus parasuis*; гемагглютинирующий вирус энцефаломиелита; вирус гепатита Е; вирус японского энцефалита; *Hyostrogylus rubidus*; *Lawsonia intracellularis*; *Leptospira* spp., *L. australis*, *L. canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. interrogans*, *L. tarassovi*, *L. hardjo*, *L. sejroe*, *L. bratislava*; *Mannheimia haemolytica*; вирус «Менангл»; *Mycobacterium* spp., *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. tuberculosis*; *Mycoplasma* spp., *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinitis*; вирус Нипах; *Oesophagostom* spp., *Oesophagostom dentatum*, *Oesophagostom quadrosinulatum*; *Pasteurella* spp., *P. multocida*; *Penicillium* spp.; аденовирус свиней; цитомегаловирус свиней; энтеритные калицивирусы свиней; энтеритные пикорнавирусы свиней; парвовирус свиней; респираторный коронавирус свиней; вирус PRRS; вирус псевдобешенства; реовирус; ротавирус; рубулавирус; *Salmonella* spp., *S. typhimurium*, *S. choleraesuis*, *S. dublin*; *Sarcoptes* spp.; *Staphylococcus hyicus*; *Streptococcus* spp., *S. suis*, *S. porcicus*, *S. dysgalactiae*, *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*; *Strongyloides ransomi*; вирус герпеса свиней; вирус свиного гриппа; вирус оспы свиней; вирус трансмиссивного гастроэнтерита; *Trichuris* spp. *Taenia* spp., *Trichinella spiralis*; вирус везикулезного стоматита; вирус везикулезной экзантемы свиней; вирус Западного Нила; или *Yersinia* spp., *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*.

Предпочтительно сопутствующие инфекции вызываются одним или несколькими патогенами, выбранными из группы, включающей: *Actinobacillus pleuropneumoniae*; *Haemophilus parasuis*, *Mycoplasma hyorhinitis*; *Pasteurella multocida*; PRRS; *Salmonella* spp. и *Streptococcus suis*. Более предпочтительно сопутствующие инфекции вызываются одним или несколькими патогенами, выбранными из группы, включающей: *Actinobacillus pleuropneumoniae*; *Haemophilus parasuis*; *Mycoplasma hyorhinitis*; *Pasteurella multocida*; PRRS; *Salmonella* spp. и *Streptococcus suis*. Наиболее предпочтительно сопутствующие инфекции вызываются одним или несколькими патогенами, выбранными из группы, включающей *Actinobacillus pleuropneumoniae*; *Mycoplasma*

hyrhinis и PRRS. Наиболее предпочтительно сопутствующие инфекции вызываются *Mycoplasma hyrhinis* и/или PRRS.

Предпочтительно свиньи коинфицированы PCV2, как указано выше, подвергнуты воздействию PCV2 или имеют риск заражения PCV2, или чувствительны к заражению PCV2. Более предпочтительно количество свиней, инфицированных одним или несколькими указанными выше патогенами, отличными от цирковируса, снижают касательно указанного патогена более чем на 10%, предпочтительно более чем на 20%, более предпочтительно более чем на 30%, еще более предпочтительно более чем на 40%, еще более предпочтительно более чем на 50%, еще более предпочтительно более чем на 60%, еще более предпочтительно более чем на 80%, еще более предпочтительно более чем на 100% по сравнению с невакцинированной контрольной группой. В случае нескольких инфекций указанное выше снижение уровней относится к каждому конкретному патогену. Например, снижение более чем на 10% сопутствующих инфекций у зараженной несколькими патогенами свиньи означает, что уровень заражения касательно конкретного патогена снижается более чем на 10%. Это не обязательно означает, что уровень заражения всеми патогенами снижается более чем на 10% по сравнению с невакцинированной контрольной группой, или в случае стада, что менее 10% свиней в указанном стаде инфицированы всеми указанными патогенами.

Понятие «антиген PCV2» в контексте настоящего описания относится к аминокислотной последовательности, которая вызывает иммунологический ответ против PCV2 у хозяина. Антиген в контексте настоящего описания включает полноразмерную последовательность любых белков PCV2, их аналогов или их иммуногенных фрагментов.

Понятие «иммуногенный фрагмент» обозначает фрагмент белка, который содержит один или несколько эпитопов, и в результате этого вызывает иммунный ответ у хозяина. Такие фрагменты можно идентифицировать с помощью любого из многочисленных методов картирования эпитопов, хорошо известных в данной области (см., например, *Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology*, том 66, под ред. Glenn E. Morris, изд-во Humana Press, Totowa, New Jersey, 1996). Например, линейные эпитопы можно выявлять, например, осуществляя конкурентный синтез большого количества пептидов на твердых подложках, где пептиды соответствуют фрагментам молекулы белка, и, подвергая пептиды взаимодействию с антителами, при этом пептиды остаются прикрепленными к подложкам. Такие методы известны в данной области и описаны, например в US 4708871; у Geysen и др., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 1984, сс.3998-4002; Geysen и др., *Molec. Immunol.* 23, 1986, сс.709-715. Аналогично этому, конформационные эпитопы легко можно идентифицировать путем определения пространственной конформации аминокислот, например, с помощью рентгеновской кристаллографии и 2-мерного ядерного магнитного резонанса (см., например, *Epitope Mapping Protocols*, выше).

Указанное понятие включает также синтетические антигены, например, полиэпитопы, фланкирующие эпитопы и другие полученные методами рекомбинации или синтеза антигены (см., например, Bergmann и др., *Eur. J. Immunol.* 23, 1993, сс.2777-2781; Bergmann и др., *J. Immunol.* 157, 1996, сс.3242-3249; Suhrbier A., *Immunol. и Cell Biol.* 75, 1997, сс.402-408; Gardner и др., 12th World AIDS Conference, Geneva, Switzerland, 28 июня-3 июля 1998 г.).

Понятие «иммунный ответ» относится (но, не ограничиваясь только указанным) к формированию в хозяине клеточно- и/или антитело-опосредованного иммунного

ответа на представляющий интерес антиген, композицию или вакцину. Как правило, «иммунный ответ» включает (но, не ограничиваясь только ими) одну или несколько из следующих реакций: производство или активацию антител, В-клеток, Т-клеток-хелперов, Т-клеток-супрессоров и/или цитотоксических Т-клеток, специфически направленных на антиген или антигены, включенный(е) в представляющую интерес композицию или вакцину. Предпочтительно организм-хозяин должен вырабатывать либо терапевтический, либо защитный иммунологический (вторичный иммунный) ответ так, чтобы повышалась устойчивость к новой инфекции и/или снижалась клиническая серьезность заболевания. Такое защитное действие можно выявлять либо по снижению уровня или серьезности симптомов, либо по отсутствию одного или нескольких симптомов, ассоциированных с заражением хозяина PCV2, замедлению появления вируса в крови (виремия), снижению персистенности вируса, снижению общей вирусной нагрузки и/или снижению вирусной экскреции.

Понятия «иммуногенная композиция» или «вакцина» (оба понятия являются синонимами) в контексте настоящего описания относятся к любой фармацевтической композиции, которая содержит антиген PCV2, при этом, композицию можно применять для предупреждения или лечения ассоциированного с заражением PCV2 заболевания или состояния у животного. Предпочтительная иммуногенная композиция может индуцировать, стимулировать или повышать иммунный ответ на PCV2. Под это понятие подпадают как субъединичные иммуногенные композиции, описанные ниже, так и композиции, которые содержат убитые (полностью обезвреженные) или ослабленные и/или инактивированные PCV2.

Таким образом, следующим объектом настоящего изобретения является способ снижения процента сопутствующих инфекций у свиней или в стаде свиней, которые вызываются одним или несколькими отличными от PCV2 патогенами, заключающийся в том, что вводят свинье(ям) в эффективном количестве антиген PCV2 или иммуногенную композицию, содержащую антиген PCV2, в котором иммуногенная композиция представляет собой субъединичную иммуногенную композицию, композицию, содержащую полностью обезвреженные или ослабленные и/или инактивированные PCV2. Предпочтительно свиньи коинфицированы PCV2, как указано выше, подвергнуты воздействию PCV2 или имеют риск заражения PCV2 или чувствительны к заражению PCV2. Более предпочтительно количество свиней, инфицированных указанными патогенами, отличными от цирковируса, снижают в отношении одного или нескольких указанных патогенов более чем на 10%, предпочтительно более чем на 20%, более предпочтительно более чем на 30%, еще более предпочтительно более чем на 40%, еще более предпочтительно более чем на 50%, еще более предпочтительно более чем на 60%, еще более предпочтительно более чем на 80%, еще более предпочтительно более чем на 100% по сравнению с невакцинированной контрольной группой.

В контексте настоящего описания понятие «субъединичная иммуногенная композиция» относится к композиции, которая содержит по меньшей мере один иммуногенный полипептид или антиген, но не все антигены, выведенные или являющиеся гомологами антигена PCV2. Такая композиция практически свободна от интактного PCV2. Таким образом, «субъединичную иммуногенную композицию» получают по меньшей мере из частично очищенных или фракционированных (предпочтительно практически очищенных) иммуногенных полипептидов PCV2, или их рекомбиантных аналогов. Субъединичная иммуногенная композиция может содержать субъединицу антигена или антигенов, представляющих интерес, которые

практически свободны от других антигенов или полипептидов из PCV2 или являются фракционированными. Предпочтительная иммуногенная субъединичная композиция содержит белок OPC-2 PCV2, описанный ниже. Наиболее предпочтительными являются иммуногенные субъединичные композиции, которые содержат любой из антигенов PCV2, представленных в WO 06/072065, которая полностью включена в настоящее описание в качестве ссылки.

Таким образом, следующим объектом изобретения является иммуногенная композиция, как она определена в контексте настоящего описания, которая наиболее предпочтительно содержит полипептид или его фрагмент, экспрессируемый OPC-2 PCV2. ДНК OPC-2 PCV2 и белок, которые применяют согласно изобретению для приготовления композиций и с помощью способов, предлагаемых в изобретении, представляет собой высококонсервативный домен в изолятах PCV2 и поэтому согласно изобретению любая OPC-2 PCV2 должна быть эффективной в качестве источника ДНК OPC-2 PCV и/или полипептида. Предпочтительным белком OPC-2 PCV2 является белок, последовательность которого представлена в SEQ ID NO:11 в WO 06/072065. Другим предпочтительным полипептидом OPC-2 PCV является полипептид, последовательность которого представлена в SEQ ID NO:5 в WO 06/072065. Однако специалистам в данной области должно быть очевидно, что последовательность может варьироваться в пределах 6-10% в соответствии с понятием гомологии последовательностей и все еще сохранять антигенные характеристики, которые делают ее приемлемой для включения в иммуногенные композиции. Антигенные характеристики иммунологической композиции можно оценивать, например, путем экспериментов по контрольному заражению, описанных в примере 4 WO 06/072065. Кроме того, антигенные характеристики модифицированного антигена все еще сохраняются, когда модифицированный антиген обеспечивает по меньшей мере 70%, предпочтительно 80%, более предпочтительно 90% защитного иммунитета по сравнению с белком OPC-2 PCV2, который кодируется полинуклеотидной последовательностью, представленной в SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4 в WO 06/072065.

Таким образом, следующим объектом настоящего изобретения является способ снижения процента сопутствующих инфекций у свиней или в стаде свиней, которые вызываются отличными от PCV2 патогенами, заключающийся в том, что вводят свинье(ям) в эффективном количестве антиген PCV2 или иммуногенную композицию, содержащую антиген PCV2, в котором антиген PCV2 представляет собой антигенный белок OPC-2 PCV2, который обеспечивает по меньшей мере 70%, предпочтительно 80%, более предпочтительно 90% защитного иммунитета по сравнению с белком OPC-2 PCV2, который кодируется полинуклеотидной последовательностью, представленной в SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4 в WO 06/072065.

Предпочтительно белок OPC-2 PCV2 имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO:11 или SEQ ID NO:5 в WO 06/072065. Предпочтительно свиньи коинфицированы PCV2, как указано выше, подвергнуты воздействию PCV2 или имеют риск заражения PCV2 или чувствительны к заражению PCV2. Более предпочтительно количество свиней, инфицированных указанными патогенами, отличными от цирковируса, снижается более чем на 40%, предпочтительно более чем на 50%, более предпочтительно более чем на 60%, еще более предпочтительно более чем на 80%, еще более предпочтительно более чем на 100% по сравнению с невакцинированной контрольной группой.

В некоторых вариантах иммуногенные участки белка OPC-2 PCV2 применяют а качестве антигенного компонента в иммуногенной композиции, содержащей

антиген PCV2. Понятие «иммуногенный участок» в контексте настоящего описания относится к укороченным и/или имеющим замены формам или фрагментам белка и/или полинуклеотида OPC-2 PCV2 соответственно. Предпочтительно такие укороченные и/или имеющие замены формы или фрагменты должны содержать по меньшей мере 6 смежных аминокислот из полноразмерного полипептида OPC-2. Более предпочтительно укороченные или имеющие замены формы или фрагменты должны содержать по меньшей мере 10, более предпочтительно по меньшей мере 15 и еще более предпочтительно по меньшей мере 19 смежных аминокислот из полноразмерного полипептида OPC-2 PCV. Две предпочтительные в этом плане последовательности представлены в виде SEQ ID NO:9 и SEQ ID NO:10 в WO 06/072065. Следует понимать также, что указанные последовательности могут представлять собой часть более крупных фрагментов или укороченные формы.

Как указано выше, предпочтительным является также любой полипептид OPC-2 PCV2, который кодируется нуклеотидными последовательностями SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. Кроме того, как должно быть очевидно специалистам в данной области, эта последовательность может варьироваться в пределах 6-20% в соответствии с понятием гомологии последовательностей и все еще сохранять антигенные характеристики, которые делают ее приемлемой для включения в иммуногенные композиции. В некоторых вариантах укороченные или имеющие замены формы или фрагменты полипептида OPC-2 PCV2 применяют в качестве антигенного компонента в композиции. Предпочтительно такие укороченные или имеющие замены формы или фрагменты должны содержать по меньшей мере 18 смежных нуклеотидов из полноразмерной нуклеотидной последовательности OPC-2 PCV2, например, SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. Более предпочтительно укороченные или имеющие замены формы или фрагменты должны содержать по меньшей мере 30, более предпочтительно по меньшей мере 45 и еще более предпочтительно по меньшей мере 57 смежных нуклеотидов из полноразмерной нуклеотидной последовательности OPC-2 PCV2, например, представленной в SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4.

Понятие «идентичность последовательностей», как известно в данной области, относится к родству между двумя или большим количеством полипептидных последовательностей или двумя или большим количеством полинуклеотидных последовательностей, а именно между референс-последовательностью и рассматриваемой последовательностью, подлежащей сравнению с референс-последовательностью. Идентичность последовательностей определяют путем сравнения данной последовательности с референс-последовательностью после оптимального выравнивания последовательностей для получения наиболее высокой степени сходства последовательностей, что определяют по совместимости отрезков указанных последовательностей. После выравнивания идентичность последовательностей оценивают по находящимся в одинаковых положениях основаниям (по типу «положение с положением»), например, последовательности являются «идентичными» в определенном положении, если в этом положении нуклеотиды или аминокислотные остатки идентичны. Общее количество таких идентичных положений затем делят на общее количество нуклеотидов или остатков в референс-последовательности, получая % идентичности последовательностей. Идентичность последовательностей легко можно рассчитывать с помощью известных методов, включая (но, не ограничиваясь только ими) описанные в: Computational Molecular Biology, под ред. Lesk A.N., изд-во Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, под ред. Smith D.W., изд-во, Academic

Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, часть I, под ред. Griffin A.M. и Griffin H.G., изд-во Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heine G., изд-во Academic Press, 1987; Sequence Analysis Primer, под ред. Gribskov M. и Devereux J., изд-во M. Stockton Press, New York, 1991; и Carillo H. и Lipman, D., SIAM J. Applied Math., 48, 1988, с.1073, содержание которых включено в настоящее описание в качестве ссылки. Предпочтительные методы определения идентичности последовательностей созданы так, чтобы получать наибольшее соответствие между изучаемыми последовательностями. Методы определения идентичности последовательностей приведены в систему в доступных обществу компьютерных программах, которые позволяют определять идентичность последовательностей для рассматриваемых последовательностей. Примерами таких программ являются (но, не ограничиваясь только ими) пакет программ GCG (Devereux J. и др., Nucleic Acids Research, 12(1), 1984, с.387), BLASTP, BLASTN и FASTA (Altschul S.F. и др., J. Molec. Biol., 215, 1990, сс.403-410). Программа BLASTX является доступной для научной обществу от фирмы NCBI и других источников (BLAST Manual, Altschul S. и др., NCVI NLM NIH Bethesda, MD 20894, Altschul S.F. и др., J. Molec. Biol., 215, 1990, сс.403-410), содержание которых включено в настоящее описание в качестве ссылки). Эти программы позволяют осуществлять оптимальное выравнивание последовательностей с помощью принимаемых по умолчанию значений таких, как вес бреши, для того, чтобы получать наиболее высокий уровень идентичности последовательностей для рассматриваемой последовательности и референс-последовательности. В качестве иллюстрации: когда упоминается полинуклеотид, нуклеотидная последовательность которого по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, еще более предпочтительно на 95% «идентична последовательности» нуклеотидной референс-последовательности, то подразумевается, что нуклеотидная последовательность данного полинуклеотида идентична референс-последовательности за исключением того, что данная полинуклеотидная последовательность может включать вплоть до 15, предпочтительно вплоть до 10, еще более предпочтительно вплоть до 5 точечных мутаций на каждые 100 нуклеотидов нуклеотидной референс-последовательности. Другими словами, для того, чтобы полинуклеотид имел нуклеотидную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, еще более предпочтительно на 95% нуклеотидной референс-последовательности, вплоть до 15%, предпочтительно 10%, еще более предпочтительно 5% нуклеотидов в референс-последовательности можно изымать путем делеции или заменять на другой нуклеотид, или вплоть до 15% нуклеотидов, предпочтительно 10%, еще более предпочтительно 5% от общего количества нуклеотидов в референс-последовательности можно встраивать в референс-последовательность. Эти мутации референс-последовательности могут иметь место на 5'- или 3'-конце нуклеотидной референс-последовательности или в любом положении между этими концами, либо находясь индивидуально среди нуклеотидов в референс-последовательности, либо в виде одной или нескольких смежных групп в референс-последовательности. Аналогично этому, когда упоминают полипептид, аминокислотная последовательность которого идентична по меньшей мере, например на 85%, предпочтительно на 90%, еще более предпочтительно на 95% аминокислотной референс-последовательности, то подразумевают, что рассматриваемая аминокислотная последовательность полипептида идентична референс-последовательности за исключением того, что рассматриваемая полипептидная

последовательность может включать вплоть до 15, предпочтительно вплоть до 10, еще более предпочтительно вплоть до 5 аминокислотных замен на каждые 100 аминокислот аминокислотной референс-последовательности. Другими словами, для получения данной полипептидной последовательности, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, еще более предпочтительно на 95% идентична последовательности аминокислотной референс-последовательности, вплоть до 15%, предпочтительно вплоть до 10%, еще более предпочтительно вплоть до 5% аминокислотных остатков в референс-последовательности можно изымать путем делеции или заменять на другую аминокислоту, или вплоть до 15% аминокислот, предпочтительно вплоть до 10%, еще более предпочтительно вплоть до 5% от общего количества аминокислотных остатков в референс-последовательности можно встраивать в референс-последовательность. Эти изменения референс-последовательности могут иметь место на амино- или карбоксиконце аминокислотной референс-последовательности или в любом положении между этими концевыми положениями, либо находясь индивидуально среди остатков в референс-последовательности, либо в виде одной или нескольких смежных групп в референс-последовательности. Предпочтительно положения остатков, которые являются неидентичными, отличаются консервативными аминокислотными заменами. Однако консервативные замены не относят к совместимым при определении идентичности последовательностей.

Определение «гомологии последовательностей» в контексте настоящего описания относится к методу определения сходства двух последовательностей. Для определения гомологии последовательностей две или большее количество последовательностей подвергают оптимальному выравниванию и при необходимости интродуцируют бреши. В отличие от оценки идентичности последовательностей при определении гомологии последовательностей консервативные аминокислотные замены считают удовлетворяющими условиям гомологии. Другими словами, для того, чтобы полипептид или полинуклеотид имел 95% гомологию последовательности с референс-последовательностью, 85%, предпочтительно 90%, еще более предпочтительно 95% аминокислотных остатков или нуклеотидов в референс-последовательности должны соответствовать или содержать консервативную замену на другую аминокислоту или нуклеотид, или количество аминокислот или нуклеотидов, составляющее вплоть до 15%, предпочтительно вплоть до 10%, еще более предпочтительно вплоть до 5% от общего количества аминокислотных остатков или нуклеотидов, не включая консервативные замены, в референс-последовательности можно встраивать в референс-последовательность. Предпочтительно гомологичная последовательность содержит по меньшей мере участок, состоящий из 50, еще более предпочтительно из 100, еще более предпочтительно из 250, еще более предпочтительно из 500 нуклеотидов.

Понятие «консервативная замена» относится к замене аминокислотного остатка или нуклеотида на другой аминокислотный остаток или нуклеотид, имеющий сходные характеристики или свойства, включая размер, гидрофобность и т.д., в результате чего общая функциональность не изменяется существенно.

Понятие «выделенный» означает «измененный человеком» относительно его встречающегося в естественных условиях состояния, т.е., если он встречается в природе, то его изменяют или удаляют из естественного окружения, или осуществляют и то, и другое. Например, полинуклеотид или полипептид, встречающийся в естественных условиях в живом организме, не является «выделенным», но этот же

полинуклеотид или полипептид, отделенный от материала, вместе с которым он присутствует в своем естественном состоянии, является «выделенным» согласно применяемому в описании понятию.

5 Таким образом, следующим объектом настоящего изобретения является способ снижения процента сопутствующих инфекций у свиней или в стаде свиней, которые вызываются одним или несколькими отличными от PCV2 патогенами, заключающийся в том, что вводят свинье(ям) в эффективном количестве антиген PCV2 или иммуногенную композицию, содержащую антиген PCV2, в котором белок
10 OPC-2 PCV2 представляет собой любой из указанных выше белков. Предпочтительно белок OPC-2 PCV2 представляет собой:

I) полипептид, содержащий последовательность, представленную в SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10 или SEQ ID NO:11 в WO 06/07065;

15 II) любой полипептид, который по меньшей мере на 80% гомологичен полипептиду, указанному в I);

III) любой иммуногенный фрагмент полипептидов, указанных в I) и/или II);

IV) иммуногенный фрагмент, указанный в III), который содержит по меньшей мере 10 смежных аминокислот, входящих в последовательности, представленные в SEQ
20 ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10 или SEQ ID NO:11 в WO 06/072065;

V) полипептид, который кодируется ДНК, содержащей последовательность, представленную в SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4 в WO 06/072065;

VI) любой полипептид, кодируемый полинуклеотидом, который по меньшей мере на 80% гомологичен полинуклеотиду, указанному в V);

25 VII) любой иммуногенный фрагмент полипептидов, которые кодируются полинуклеотидом, указанным в V) и/или VI);

VIII) иммуногенный фрагмент, указанный в VII), где полинуклеотид, кодирующий иммуногенный фрагмент, содержит по меньшей мере 30 смежных нуклеотидов,
30 входящих в последовательности, которые представлены в SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4 в WO 06/072065.

Предпочтительно любой из указанных иммуногенных фрагментов имеет иммуногенные характеристики белка OPC-2 PCV2, кодируемого последовательностями, которые представлены в SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4 в WO
35 06/07065.

Предпочтительно инфицированные свиньи коинфицированы PCV2, как указано выше, подвергнуты воздействию PCV2 или имеют риск заражения PCV2, или чувствительны к заражению PCV2. Более предпочтительно количество свиней,
40 инфицированных указанными патогенами, отличными от цирковируса, снижают в отношении одного или нескольких указанных патогенов более чем на 10%, более предпочтительно более чем на 20%, еще более предпочтительно более чем 30%, еще более предпочтительно более чем 40%, еще более предпочтительно более чем 50%, еще более предпочтительно более чем 60%, еще более предпочтительно более чем 80% еще
45 более предпочтительно более чем на 100% по сравнению с невакцинированной контрольной группой.

Таким образом, согласно следующему объекту изобретения белок OPC-2 PCV2 содержится в иммуногенной композиции с таким уровнем включения антигена,
50 который является эффективным для лечения животных, зараженных PCV2 на субклиническом уровне. Предпочтительно уровень включения белка OPC-2 PCV2 составляет по меньшей мере 0,2 мкг антигена/мл конечной иммуногенной композиции (мкг/мл), более предпочтительно от примерно 0,2 до примерно 400

мкг/мл, еще более предпочтительно от примерно 0,3 до примерно 200 мкг/мл, еще более предпочтительно от примерно 0,35 до примерно 100 мкг/мл, еще более предпочтительно от примерно 0,4 до примерно 50 мкг/мл, еще более предпочтительно от примерно 0,45 до примерно 30 мкг/мл, еще более предпочтительно от примерно 0,6 до примерно 15 мкг/мл, еще более предпочтительно от примерно 0,75 до примерно 8 мкг/мл, еще более предпочтительно от примерно 1,0 до примерно 6 мкг/мл, еще более предпочтительно от примерно 1,3 до примерно 3,0 мкг/мл, еще более предпочтительно от примерно 1,4 до примерно 2,5 мкг/мл, еще более предпочтительно от примерно 1,5 до примерно 2,0 мкг/мл и наиболее предпочтительно примерно 1,6 мкг/мл.

Согласно еще одному объекту изобретения уровень включения антигена ОРС-2 РСV2 составляет по меньшей мере 0,2 мкг белка ОРС-2 РСV2, описанного выше, на дозу конечной антигенной композиции (мкг/дозу), более предпочтительно от примерно 0,2 до примерно 400 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 0,3 до примерно 200 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 0,35 до примерно 100 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 0,4 до примерно 50 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 0,45 до примерно 30 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 0,6 до примерно 15 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 0,75 до примерно 8 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 1,0 до примерно 6 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 1,3 до примерно 3,0 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 1,4 до примерно 2,5 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 1,5 до примерно 2,0 мкг/дозу и наиболее предпочтительно примерно 1,6 мкг/дозу.

Полипептид ОРС-2 РСV2, применяемый в иммуногенной композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, можно получать любым методом, включая выделение и очистку ОРС-2 РСV2, стандартный метод синтеза белков и метод рекомбинантной ДНК. Предпочтительные методы получения полипептида ОРС-2 РСV2 представлены в WO 06/072065, сущность и содержание которой полностью включены в настоящее описание в качестве ссылки. В целом, метод состоит в следующем: заражают чувствительные клетки рекомбинантным вирусным вектором, который содержит кодирующие последовательности ДНК ОРС-2 РСV2, экспрессируют полипептид ОРС-2 РСV2 с помощью рекомбинантного вируса и выделяют экспрессируемый полипептид ОРС-2 РСV2 из супернатанта путем фильтрации, и инактивируют общепринятым методом, предпочтительно используя бинарный этиленмин (БЭИ), который затем нейтрализуют для прекращения процесса инактивации.

Понятие «иммуногенная композиция» в контексте настоящего описания относится также к композиции, которая содержит I) любой белок ОРС-2 РСV2, описанный выше, предпочтительно в указанных выше концентрациях, и II) по меньшей мере часть вирусного вектора, экспрессирующего указанный белок ОРС-2 РСV2, предпочтительно рекомбинантного бакуловируса. Кроме того, иммуногенная композиция может содержать I) любой из белков ОРС-2 РСV2, описанных выше, предпочтительно в указанных выше концентрациях, II) по меньшей мере часть вирусного вектора, экспрессирующего белок ОРС-2 РСV2, предпочтительно рекомбинантного бакуловируса, и III) часть супернатанта клеточной культуры.

Таким образом, следующим объектом настоящего изобретения является способ снижения процента сопутствующих инфекций у свиней или в стаде свиней, которые вызываются одним или несколькими отличными от РСV2 патогенами, заключающийся в том, что вводят свинье(ям) в эффективном количестве антиген РСV2

или иммуногенную композицию, содержащую антиген PCV2, в котором антиген PCV2 представляет собой рекомбинантный ОРС-2 PCV2, предпочтительно экспрессируемый в бакуловирусе ОРС-2 PCV2. Предпочтительно рекомбинантные или экспрессируемые в бакуловирусе ОРС-2 PCV2 имеют указанную выше последовательность.

Понятие «иммуногенная композиция» в контексте настоящего описания относится также к композиции, которая содержит I) любой из белков ОРС-2 PCV2, описанных выше, предпочтительно в указанных выше концентрациях, II) по меньшей мере часть вирусного вектора, экспрессирующего указанный белок ОРС-2 PCV2, предпочтительно рекомбинантного бакуловируса, и III) часть клеточной культуры; где примерно 90% компонентов имеют размер менее 1 мкм.

Понятие «иммуногенная композиция» в контексте настоящего описания относится также к композиции, которая содержит I) любой из белков ОРС-2 PCV2, описанных выше, предпочтительно в указанных выше концентрациях, II) по меньшей мере часть вирусного вектора, экспрессирующего указанный белок ОРС-2 PCV2, III) часть клеточной культуры, IV) инактивирующий агент, предназначенный для инактивации рекомбинантного вирусного вектора, предпочтительно БЭИ, где примерно 90% компонентов I)-III) имеют размер менее 1 мкм. Предпочтительно БЭИ присутствует в концентрациях, эффективных для инактивации бакуловируса, предпочтительно от 2 до примерно 8 мМ БЭИ, предпочтительно примерно 5 мМ БЭИ.

Понятие «иммуногенная композиция» в контексте настоящего описания относится также к композиции, которая содержит I) любой из белков ОРС-2 PCV2, описанных выше, предпочтительно в указанных выше концентрациях, II) по меньшей мере часть вирусного вектора, экспрессирующего указанный белок ОРС-2 PCV2, III) часть клеточной культуры, IV) инактивирующий агент, предназначенный для инактивации рекомбинантного вирусного вектора, предпочтительно БЭИ, и V) нейтрализующий агент, предназначенный для прекращения инактивации, опосредуемой инактивирующим агентом, где примерно 90% компонентов I)-III) имеют размер менее 1 мкм. Предпочтительно, если инактивирующий агент представляет собой БЭИ, то указанная композиция содержит тиосульфат натрия в количествах, эквивалентных количеству БЭИ.

Полипептид включают в композицию, которую можно вводить животному, чувствительному к заражению PCV2. В предпочтительных вариантах в композицию можно включать дополнительные компоненты, известные специалистам в данной области (см. также Remington's Pharmaceutical Sciences, 18-е изд., изд-во Mack Publ., Easton, 1990). Кроме того, в состав композиции могут входить один или несколько приемлемых для применения в ветеринарии носителей. В контексте настоящего описания понятие «приемлемый для применения в ветеринарии носитель» включает (но, не ограничиваясь только ими) любые из перечисленных или все растворители, дисперсионные среды, материалы для нанесения покрытия, адьюванты, стабилизаторы, разбавители, консерванты, антибактериальные и противогрибковые агенты, агенты для придания изотоничности, замедляющие адсорбцию агенты и т.п. В предпочтительном варианте осуществления изобретения иммуногенная композиция содержит белок ОРС-2 PCV2, описанный выше, предпочтительно в указанных выше концентрациях, который смешивают с адьювантом, предпочтительно карбополом, и физиологическим раствором.

Специалистам в данной области должно быть очевидно, что композиция, которую применяют согласно изобретению, может включать известные пригодные для

инъекции физиологически приемлемые стерильные растворы. Для приготовления готового к применению раствора для парентеральной инъекции или инфузии широко используют водные изотонические растворы, такие, например, как физиологический раствор или соответствующие растворы белков плазмы. Кроме того, иммуногенные композиции и вакцины, предлагаемые в настоящем изобретении, могут включать разбавители, агенты для придания изотоничности, стабилизаторы или адьюванты. Разбавители могут представлять собой воду, физиологический раствор, декстрозу, этанол, глицерин и т.п. Агенты для придания изотоничности могут представлять собой среди прочего хлорид натрия, декстрозу, маннит, сорбит и лактозу. Стабилизаторы представляют собой среди прочего альбумин и соли щелочных металлов и этилендиаминтетрауксусной кислоты.

Понятие «адьюванты» в контексте настоящего описания может относиться к гидроксиду алюминия и фосфату алюминия, сапонинам, таким, например, как Quil A, QS-21 (фирма Cambridge Biotech Inc., Кембридж, шт. Массачусетс), GPI-0100 (фирма Galenica Pharmaceuticals, Inc., Бирмингем, шт. Алабама), эмульсии вода-в-масле, эмульсии масло-в-воде, эмульсии вода-в-масле-в-воде. Основой эмульсии может являться, в частности, легкое жидкое парафиновое масло (соответствующее Европейской фармакопее); изопреноидное масло, такое как сквалан или сквален; масло, образовавшееся в результате олигомеризации алкенов, прежде всего изобутена или децена; эфиры кислот или спиртов, содержащие линейную алкильную группу, более конкретно растительные масла, этилолеат, ди(каприлат/капрат) пропиленгликоля, три(каприлат/капрат) глицерина или диолеат пропиленгликоля; эфиры разветвленных жирных кислот или спиртов, в частности, эфиры изостеариновой кислоты. Масла применяют в сочетании с эмульгаторами для получения эмульсии. Эмульгаторы предпочтительно представляют собой неионогенные поверхностно-активные вещества, прежде всего сложные эфиры сорбитана, маннида (например, безводный маннитолеат), гликоля, 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 и др., *The Theory and Practical Application of Adjuvants*, под ред. Stewart-Tull D.E.S., изд-во John Wiley and Sons, NY, сс.51-94, 1995 и Todd и др., *Vaccine* 15, 1997, сс.564-570).

Например, можно применять SPT-эмульсию, описанную на с.147 в: «*Vaccine Design, The Subunit and Adjuvant Approach*», под ред. M. Powell и M. Newman, изд-во Plenum Press, 1995, и эмульсию MF59, описанную на с.183 в этой же публикации.

Другим примером адьюванта является соединение, выбранное из полимеров акриловой или метакриловой кислоты и сополимеров малеинового ангидрида и алкенильного производного. Предпочтительными адьювантами являются полимеры акриловой или метакриловой кислоты, прежде всего, сшитые с простыми полиалкениловыми эфирами Сахаров или многоатомными спиртами. Эти соединения известны под названием карбомеры (Phameuropa, т.8, №2, июнь 1996 г.). Специалистам в данной области в качестве ссылки можно предложить US 2909462, в котором описаны указанные акриловые полимеры, сшитые с полигидроксилированным соединением, которое имеет по меньшей мере 3 гидроксильные группы, предпочтительно не более 8, при этом атомы водорода по меньшей мере трех гидроксильных групп замещены ненасыщенными алифатическими радикалами, которые имеют по меньшей мере 2 атома углерода. Предпочтительными являются

радикалы, которые содержат от 2 до 4 атомов углерода, например, винильные, аллильные и другие ненасыщенные группы ряда этилена. Ненасыщенные радикалы могут сами содержать другие заместители, такие как метил. Наиболее предпочтительными являются продукты, поступающие в продажу под названием карбопол (фирма BF Goodrich, шт. Огайо). Они шиты с аллилсахарозой или аллилпентаэритритолом. Среди них прежде всего следует упомянуть карбопол 974P, 934P и 971P. Наиболее предпочтительным для применения является карбопол 971P. Наиболее предпочтительно применяют карбопол, в частности можно применять карбопол 971P, предпочтительно в количествах от примерно 500 мкг до примерно 5 мг на дозу, еще более предпочтительно в количестве от примерно 750 мкг до примерно 2,5 мг на дозу и наиболее предпочтительно в количестве примерно 1 мг на дозу.

Другими пригодными адъювантами являются (но, не ограничиваясь только ими) система RIBI-адъювантов (фирма Ribi Inc.), блок-сополимеры (фирма CytRx, Атланта, шт. Джорджия), SAF-M (фирма Chiron, Эмеривилл, шт. Калифорния), монофосфорил-липид А, адъювант на основе амина липида акридина, термолабильный энтеротоксин E.coli (рекомбинантный или нереккомбинантный), токсин холеры, IMS 1314 или мурамил-дипептид.

Предпочтительно адъювант добавляют в количестве от примерно 100 мкг до примерно 10 мг на дозу. Еще более предпочтительно адъювант добавляют в количестве от примерно 100 мкг до примерно 10 мг на дозу. Еще более предпочтительно адъювант добавляют в количестве от примерно 500 мкг до примерно 5 мг на дозу. Еще более предпочтительно адъювант добавляют в количестве от примерно 750 мкг до примерно 2,5 мг на дозу. Наиболее предпочтительно адъювант добавляют в количестве примерно 1 мг на дозу.

Кроме того, композиция может включать один или несколько фармацевтически приемлемых носителей. В контексте настоящего описания понятие «фармацевтически приемлемый носитель» включает любой из перечисленных или все растворители, дисперсионные среды, материалы для нанесения покрытия, стабилизаторы, разбавители, консерванты, антибактериальные и противогрибковые агенты, агенты для придания изотоничности, замедляющие адсорбцию агенты и т.п. Наиболее предпочтительно композиция, предлагаемая в изобретении, содержит белок ОРС-2 РСV2, выделенный из супернатанта культивируемых *in vitro* клеток, где указанные клетки инфицируют рекомбинантным вирусным вектором, который содержит ДНК ОРС-2 РСV2 и экспрессирует белок ОРС-2 РСV2, и где указанную клеточную культуру обрабатывают от примерно 2 до примерно 8 мМ БЭИ, предпочтительно примерно 5 мМ БЭИ, для инактивации вирусного вектора и нейтрализующим агентом, взятым в эквивалентной концентрации, предпочтительно раствором тиосульфата натрия в конечной концентрации от примерно 2 до примерно 8 мМ, предпочтительно примерно 5 мМ.

Согласно еще одному варианту осуществления настоящее изобретение относится также к применению антигена РСV2 для приготовления иммуногенной композиции, предназначенной для снижения сопутствующих инфекций, которые вызываются одним или несколькими патогенами, отличными от РСV-2, у свиней или в стаде свиней, где иммуногенная композиция содержит I) любой из белков ОРС-2 РСV2, описанных выше, предпочтительно в указанных выше концентрациях, II) по меньшей мере часть вирусного вектора, экспрессирующего указанный белок ОРС-2 РСV2, III) часть клеточной культуры, IV) инактивирующий агент, предназначенный для инактивации

рекомбинантного вирусного вектора, предпочтительно БЭИ, и V) нейтрализующий агент, предназначенный для прекращения инактивации, опосредуемой инактивирующим агентом, предпочтительно тиосульфат натрия в количествах, эквивалентных количеству БЭИ; и VI) приемлемый адъювант, предпочтительно карбопол 971 в указанных выше количествах; где примерно 90% компонентов I)-III) имеют размер менее 1 мкм. Предпочтительно указанные свиньи коинфицированы PCV2, как указано выше, подвергнуты воздействию PCV2 или подвергнуты опасности или чувствительны к заражению PCV2. Более предпочтительно количество свиней, инфицированных указанными патогенами, отличными от цирковируса, снижается в отношении одного или нескольких указанных патогенов более чем на 10%, более предпочтительно более чем на 20%, еще более предпочтительно более чем 30%, еще более предпочтительно более чем 40%, еще более предпочтительно более чем 50%, еще более предпочтительно более чем 60%, еще более предпочтительно более чем 80% еще более предпочтительно более чем на 100% по сравнению с невакцинированной контрольной группой.

Согласно еще одному объекту изобретения указанная иммуногенная композиция содержит также фармацевтически приемлемую соль, предпочтительно фосфат, в физиологически приемлемых концентрациях. Предпочтительно значение pH указанной иммуногенной композиции доводят до физиологического значения pH, т.е. примерно 6,5-7,5.

В контексте настоящего описания понятие «иммуногенная композиция» относится также к композиции, которая содержит в одном мл: I) по меньшей мере 1,6 мкг белка ОРС-2 PCV2, описанного выше, II) по меньшей мере часть бакуловируса, экспрессирующего указанный белок ОРС-2 PCV2, III) часть клеточной культуры, IV) примерно от 2 до 8 мМ БЭИ, V) тиосульфат натрия в количествах, эквивалентных количеству БЭИ, и VI) примерно 1 мг карбопола 971, и VII) фосфат в физиологически приемлемой концентрации; где примерно 90% компонентов I)-III) имеют размер менее 1 мкм, и значение pH указанной иммуногенной композиции доведено примерно до 6,5-7,5.

Иммуногенные композиции могут содержать также один или несколько других иммуномодулирующих агентов, таких, например, как интерлейкины, интерфероны или другие цитокины. Иммуногенные композиции могут содержать также гентамицин и мертиолат. Хотя специалист в данной области легко может определить количества и концентрации адъювантов и добавок, которые можно применять в контексте настоящего изобретения, в настоящем изобретении предложены композиции, содержащие от примерно 50 до примерно 2000 мкг адъюванта и предпочтительно примерно 250 мкг/мл дозы композиции вакцины. Так, иммуногенная композиция, предлагаемая в изобретении, представляет собой также композицию, которая содержит от примерно 1 до примерно 60 мкг/мл антибиотиков и более предпочтительно менее примерно 30 мкг/мл антибиотиков.

В контексте настоящего описания понятие «иммуногенная композиция» относится также к композиции, которая содержит I) любой из белков ОРС-2 PCV2, описанных выше, предпочтительно в указанных выше концентрациях, II) по меньшей мере часть вирусного вектора, экспрессирующего указанный белок ОРС-2 PCV2, III) часть клеточной культуры, IV) инактивирующий агент, предназначенный для инактивации рекомбинантного вирусного вектора, предпочтительно БЭИ, и V) нейтрализующий агент, предназначенный для прекращения инактивации, опосредуемой инактивирующим агентом, предпочтительно тиосульфат натрия в количествах,

эквивалентных количеству БЭИ; VI) приемлемый адъювант, предпочтительно карбопол 971 в указанных выше количествах; VII) соляной буфер в фармацевтически приемлемой концентрации, предпочтительно фосфат, и VIII) противомикробное действующее вещество; где примерно 90% компонентов I)-III) имеют размер менее 1 мкм.

Понятие «иммуногенная композиция, которую можно применять согласно изобретению», относится также к Ingelvac® CircoFLEX™ (фирма Boehringer Ingelheim Vetmedica Inc, Сент-Джозеф, шт. Миссури, США), CircoVac® (фирма Merial SAS, Лион, Франция), CircoVent (фирма Intervet Inc., Миллсборо, шт. Делавэр, США) или Suvaxyn PCV-2 One Dose® (фирма Fort Dodge Animal Health, Канзас-Сити, шт. Канзас, США). Таким образом еще одним объектом настоящего изобретения является способ

снижения процента сопутствующих инфекций у свиней или в стаде свиней, которые вызываются одним или несколькими отличными от PCV2 патогенами,

закрывающийся в том, что вводят свинье(ям) в эффективном количестве антиген PCV2 или иммуногенную композицию, содержащую антиген PCV2, в котором иммуногенная композиция, содержащая антиген PCV2, представляет собой Ingelvac® CircoFLEX™, CircoVac®, CircoVent и/или Suvaxyn PCV-2 One Dose®,

предпочтительно Ingelvac® CircoFLEX™. Предпочтительно инфицированные свиньи коинфицированы PCV2, как указано выше, подвергнуты воздействию PCV2 или имеют риск заражения PCV2, или чувствительны к заражению PCV2. Более предпочтительно количество свиней, инфицированных указанными патогенами, отличными от цирковируса, снижается в отношении одного или нескольких указанных патогенов более чем на 10%, более предпочтительно более чем на 20%, еще более предпочтительно более чем 30%, еще более предпочтительно более чем 40%, еще более предпочтительно более чем 50%, еще более предпочтительно более чем 60%, еще более предпочтительно более чем 80%, еще более предпочтительно более чем на 100% по сравнению с невакцинированной контрольной группой.

Понятие «эффективное количество антигена PCV2» в контексте настоящего описания означает (но, не ограничиваясь только указанным) количество антигена PCV2, которое вызывает или может вызывать иммунный ответ у животного, которому вводят антиген PCV2 в эффективной дозе.

Эффективное количество зависит от ингредиентов вакцины и схемы введения. Как правило, когда в комбинированной вакцине применяют препарат инактивированного вируса или модифицированного живого вируса, то вакцину применяют в количестве, составляющем от примерно $10^{2,0}$ до примерно $10^{9,0}$ TCID₅₀ на дозу, предпочтительно от примерно $10^{3,0}$ до примерно $10^{8,0}$ TCID₅₀ на дозу, более предпочтительно от примерно $10^{4,0}$ до примерно $10^{8,0}$ TCID₅₀ на дозу. В частности, когда в вакцинах применяют модифицированный живой PCV2, то рекомендованная доза, предназначенная для введения чувствительному животному, составляет предпочтительно от примерно $10^{3,0}$ TCID₅₀ (средняя цитопатогенная доза, инфицирующая 50% клеток)/дозу до примерно $10^{6,0}$ TCID₅₀/дозу и более предпочтительно от примерно $10^{4,0}$ TCID₅₀/дозу до примерно $10^{5,0}$ TCID₅₀/дозу. В целом, количество антигена должно составлять от примерно 0,2 до 5000 мкг и от $10^{2,0}$ до $10^{9,0}$ TCID₅₀, предпочтительно от $10^{3,0}$ до $10^{6,0}$ TCID₅₀, более предпочтительно от $10^{4,0}$ до $10^{5,0}$ TCID₅₀, при применении очищенного антигена.

Субъединичные вакцины, как правило, вводят с уровнем включения антигена, составляющим по меньшей мере 0,2 мкг антигена на дозу, предпочтительно от

примерно 0,2 до примерно 400 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 0,3 до примерно 200 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 0,35 до примерно 100 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 0,4 до примерно 50 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 0,45 до примерно 30 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 0,6 до примерно 16 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 0,75 до примерно 8 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 1,0 до примерно 6 мкг/дозу, еще более предпочтительно от примерно 1,3 до примерно 3,0 мкг/дозу.

Введение антигена PCV2 свиньям не только приводит к снижению процента сопутствующих инфекций, которые вызываются патогенами, отличными от PCV2, но также приводит к общему улучшению состояния здоровья, прежде всего к устойчивости к указанным сопутствующим инфекциям. Таким образом, следующим объектом настоящего изобретения является также способ повышения устойчивости свиней к одной или нескольким сопутствующим инфекциям, которые вызываются патогенами, отличными от PCV2, заключающийся в том, что вводят свинье(ям) в эффективном количестве антиген PCV2 или иммуногенную композицию, содержащую антиген PCV2. Предпочтительно свиньи коинфицированы PCV2, как указано выше, подвергнуты воздействию PCV2 или имеют риск заражения PCV2, или чувствительны к заражению PCV2.

Понятие «повышения устойчивости свиней к сопутствующим инфекциям» в контексте настоящего описания относится (но, не ограничиваясь только им) к процессу, при котором количество свиней, зараженных патогеном, отличным от цирковируса, снижается в отношении указанного патогена более чем на 10%, предпочтительно более чем на 20%, еще более предпочтительно более чем 30%, еще более предпочтительно более чем 40%, еще более предпочтительно более чем 50%, еще более предпочтительно более чем 60%, еще более предпочтительно более чем 80% еще более предпочтительно более чем на 100% по сравнению с невакцинированной контрольной группой. Таким образом, следующим объектом настоящего изобретения является способ повышения устойчивости свиней к сопутствующим инфекциям, которые вызываются одним или несколькими патогенами, отличными от PCV2, заключающийся в том, что вводят свинье(ям) в эффективном количестве антиген PCV2 или иммуногенную композицию, содержащую антиген PCV2, в котором количество свиней, зараженных одним или несколькими патогенами, отличными от цирковируса, снижается касательно одного или нескольких указанных патогенов более чем на 10%, предпочтительно более чем на 20%, еще более предпочтительно более чем 30%, еще более предпочтительно более чем 40%, еще более предпочтительно более чем 50%, еще более предпочтительно более чем 60%, еще более предпочтительно более чем 80% еще более предпочтительно более чем на 100% по сравнению с невакцинированной контрольной группой. Предпочтительно свиньи коинфицированы PCV2, как указано выше, подвергнуты воздействию PCV2 или имеют риск заражения PCV2, или чувствительны к заражению PCV2.

Подробное описание предпочтительных вариантов осуществления изобретения

Ниже в примерах представлены предпочтительные материалы и процедуры, применяемые в настоящем изобретении. Хотя при воплощении на практике и проверке настоящего изобретения можно применять любые методы и материалы, аналогичные или эквивалентные представленным в настоящем описании, ниже описаны предпочтительные методы, устройства и материалы. Однако следует понимать, что эти примеры даны только с целью иллюстрации и не направлены на

ограничение общего объема изобретения.

Пример 1

Выявление сопутствующих инфекций у зараженных PCV-2 животных

Исследуемая популяция

5 Опыт проводили в южной части Германии. Гибридных свиней товарных кроссбредов (порода Ландрас (Landrace) или Эдельпвайн (Edelschwein) (f) ×Пиетрейн (Pietrain) (m)) получали из 15 различных племенных ферм, входящих в «сообщество производителей свиней». Племенные фермы различались по размеру 10 (от 50 до 300 свиноматок), содержанию и состоянию здоровья животных. Общепринятые профилактические меры, применяемые в отношении поросят на всех племенных фермах, включали инъекцию железа, удаление зубов (клыков и окрайков), обрезание хвоста и кастрацию. После отъема в возрасте примерно 4 недель поросят из различных племенных ферм перевозили в питомник для поросят с системой 15 производства типа «all-in-all-out» (полное заполнение/освобождение). Их произвольно размещали в трех свинарниках с загонами, каждый из которых был рассчитан на содержание 60-120 свиней. Общепринятые профилактические меры, принятые в питомниках для поросят, включали профилактическую обработку тетрациклина 20 гидрохлоридом в первые десять дней после прибытия животных. В процессе выращивания осуществляли четыре замены состава корма. Корм для животных приготавливали непосредственно в питомнике на основе ячменя и минералов. В возрасте примерно 12 недели свиней перевозили в откормочную ферму с системой производства типа «all-in-all-out». Их вновь перегруппировывали и размещали в двух 25 стойлах, каждое из которых было рассчитано на содержание 10-130 свиней. В период откорма осуществляли три замены состава корма. Корм для животных приготавливали непосредственно на ферме на основе ячменя, пшеницы, кукурузы и концентрата сыворотки. Свиней выдерживали на откормочной ферме в течение 13-18 30 недель.

История болезни

Схема заболевания, соответствующая PMWS, стала проявляться клинически за 3 года до начала опыта в ноябре 2002 г. и была подтверждена серологически в 35 декабре 2002 г. В конце стадии содержания в питомнике/начале стадии откорма у животных начали проявляться признаки PMWS, такие как истощение, респираторные симптомы и заметное повышение коэффициента смертности. Болезнь сопровождалась коинфекциями PRRSV. Коэффициент смертности в процессе нахождения в питомнике (возраст 4-12 недель), как правило, составлял от 3,5 до 4,8%, однако в некоторых 40 случаях получали также данные о достигающих пика значениях смертности вплоть до 10%. В течение средней-поздней фазы откорма основными признаками у зараженных PCV2 животных были респираторные симптомы и задержка роста. Коэффициент смертности в течение фазы откорма (свиньи возрастом 12-26 недель) составлял примерно 1,7-2,4% и количество отбракованных животных составляло 1%. 45 Средний суточный прирост массы тела находился лишь на среднем уровне (719-731 г/день). За три месяца до начала опыта диагноз PMWS был подтвержден на основе клинических симптомов и наличии виремии PCV2, оба признака обнаружены у животных возрастом примерно 9-13 недель. PRRSV и Mycoplasma hyorhinis 50 идентифицированы в образцах промывной жидкости легких у зараженных PCV2 животных в качестве коинфицирующих патогенов.

Исследуемые продукты

Для активной вакцинации против PCV2 вводили инактивированную субъединичную

вакцину (Ingelvac® CircoFLEX™, фирма Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH). Вакцина включала капсидный белок OPC-2 PCV2 в качестве действующего вещества и карбомер в качестве адьюванта. Последовательность OPC-2 получали из Североамериканского изолята PCV2, который был выделен из образцов миндалин и печени двух свиней, имеющих симптомы PMWS. Затем последовательность OPC-2 встраивали в бакуловирусную систему экспрессии с помощью линии клеток насекомых, выведенной из яичников совки *Spodoptera frugiperda* (клетки SF+), в качестве хозяина.

В качестве контрольного продукта применяли плацебо, в состав которого входил супернатант клеточной культуры, не содержащий капсидный белок PCV2, и карбомер в качестве адьюванта.

План эксперимента

Полевой опыт осуществляли согласно принципам надлежащей клинической практики («Good Clinical Practice» (GCP)), используя план рандомизированного, включающего применение отрицательного контроля, двойного слепого, параллельного эксперимента. Всего 1519 здоровых поросят разделяли поровну на две обрабатываемые группы с учетом начального веса тела и принадлежности к определенному помету. За одну неделю до отъема одну группу поросят (n=754) вакцинировали с помощью Ingelvac® CircoFLEX™, а другую группу (n=765) обрабатывали плацебо. Изучаемые продукты вводили в виде однократной дозы объемом 1 мл внутримышечно в правый шейный отдел, когда поросятам было 25,4±3,18 дня (среднее значение + С.К.О). После отъема свиней из обеих обрабатываемых групп содержали в виде смешанных групп до конца завершающего периода откорма с целью максимальной однородности воздействия патогенов.

Полимеразные цепные реакции

Применяли описанные выше анализы с помощью полимеразной цепной реакции для выявления специфических для PRRSV нуклеиновых кислот (Mardassi H. и др., J Clin Microbiol, 32(9), 1994, сс.2197-2203), *Mycoplasma hyorhinis* (Caron J. и др., J Clin Microbiol, 38(4), 2000, сс.1390-1396), *Mycoplasma hyopneumoniae* (Calsamiglia M. и др., J Vet Diagn Invest, 11(3), май 1999 г., сс.246-251), *Streptococcus suis* (Wisselink H.J. и др., J Clin Microbiol, 40(8), август 2002 г., сс.2922-2929), *Pasteurella multocida* (Townsend K.M. и др., J Clin Microbiol, 36(4), апреля 1998 г., сс. 1096-1100), *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Schaller A. и др., Arch toxins in Pasteurellaceae species from animals. Vet Microbiol, 74(4), 12 июня 2000 г., сс.365-376), *Bordetella bronchiseptica* (Hozbor D. и др., Res Microbiol, 150(5), июнь 1999 г., сс.333-341) и *Haemophilus parasuis* (Calsamiglia M. и др., J Vet Diagn Invest, 11(2), март 1999 г., сс.140-145) в образцах ткани легкого.

Для количественной оценки вирусной нагрузки PCV2 в сыворотке количественно оценивали геномные эквиваленты PCV2 согласно методу, описанному у Brunborg и др., J. Virol Methods 122, 2004, сс.171-178. Для амплификации PCV2 применяли праймеры PCV2-84-1265U21 и PCV2-84-1319L21. В качестве отсекающего уровня для позитивного образца с помощью экспериментов по валидации было принято значение, равное 10 копий матрицы на 1 мл сыворотки. Все количественные анализы ДНК PCV2 осуществляли на фирме bioScreen GmbH, Мюнстер, Германия.

Результаты

PCV2-виремия

Проводили изучение того, связано ли начало и серьезность обнаруженных характерных для PMWS клинических признаков и повреждений с началом PCV2-виремии в крови предварительно отобранных «модельных животных». Как

проиллюстрировано на чертеже, начало PCV2-виремии у животных в обработанной плацебо группы обнаружено, когда животные достигали возраста примерно 9-10 недель. Максимальные уровни, соответствующие наличию вплоть до 85% PCV2-позитивных животных, были достигнуты, когда возраст животных составлял примерно 11-14 недель. С 14 недели и до конца периода откорма доля животных, у которых обнаружена PCV2-виремия, снижалась, однако она не достигала вновь основного (исходного) уровня. Средняя индивидуальная продолжительность виремии составляла 56 дней (данные не представлены). По сравнению с обработанной плацебо группой животных доля PCV2-позитивных животных в вакцинированной группе достоверно снижалась ($p < 0,0001$), при этом максимальное количество животных, у которых обнаружена виремия, составляло не более 35% (фиг.1Б). Средняя продолжительность виремии у вакцинированных животных снижалась на 31 день ($p < 0,0001$; данные не представлены).

Изучение было сфокусировано также на оценке вирусной нагрузки у животных. В этом опыте установлено, что вирусная нагрузка, соответствующая клинической ($> 10^6$ гЭ/мл сыворотки), обнаружена главным образом у обработанных плацебо животных на ранней фазе виремии, когда возраст животных составлял примерно 10-15 недель (фиг.1А). В возрасте 11 недель доля животных, у которых выявлена вирусная нагрузка, соответствующая клинической (40%), была выше, чем доля животных, у которых выявлена вирусная нагрузка, соответствующая субклинической (37%). Это соотношение значительно изменялось на последней фазе виремии (возраст 17-25 недель) в результате существенного снижения инфекций, имеющих клиническую значимость. У вакцинированных животных, позитивных по PCV2, субклинические инфекции преобладали во все моменты времени, в которые проводили анализы (фиг.1Б).

В целом, профиль PCV2 в выбранной для изучения местности в течение времени эксперимента характеризовался следующим: а) начало PCV2-виремии имело место на 9-10-й неделе опыта, что согласуется с началом проявления клинических симптомов и повреждений, связанных с PMWS, б) обнаружена высокая вирусная нагрузка у обработанных плацебо животных на ранней фазе PCV2-виремии, в) обнаружено существенное снижение продолжительности виремии и процента животных, имеющих вирусную нагрузку, соответствующую клинической и субклинической, у вакцинированных животных по сравнению с обработанными плацебо животными.

Присутствие сопутствующих инфекций у обработанных плацебо животных

Полученные результаты подтвердили диагноз PMWS в анализируемой подопытной популяции и продемонстрировали, что вакцинация против PCV2 может в значительной степени защищать животных от PMWS. Таким образом, указанный эксперимент по иммунизации, проведенный с применением в качестве контроля плацебо, позволил оценить гипотезу о том, что PMWS приводит к лежащей в основе иммуносупрессии у животного. Было высказано предположение о том, что в случае ассоциированного с PCV2 иммунодефицита, частота возникновения коинфекций после начала PCV2-виремии должна быть выше у обработанных плацебо животных, чем у вакцинированных животных. Для этой цели на первой стадии более детально анализировали чувствительность подопытных животных к условно-патогенным организмам. Поскольку мониторинг клинических признаков позволил установить, что животные главным образом имели респираторные симптомы, при создании изобретения было решено получать образцы легких погибших животных для скрининга соответствующего патогена с помощью ПЦР. В таблице 3 представлены

результаты только для обработанных плацебо животных, поскольку их можно рассматривать в качестве моделей, более точно отражающих встречающуюся в естественных условиях ситуацию.

До начала PCV2-виремии (возраст 3-8 недель) единственным патогеном, который был обнаружен в 2 из 5 образцов, полученных из легких обработанных плацебо животных, оказался *Streptococcus suis*. К моменту начала PCV2-виремии (возраст 9-10 недель) 1 из 8 образцов легких, полученных из легких обработанных плацебо животных, оказался позитивным по PCV2, в то время как 4 из 8 проанализированных образцов легких оказались позитивными по PRRSV. Другие патогены, выявленные в небольшом количестве образцов, либо индивидуально, либо в сочетании с этими двумя патогенами, представляли собой *Mycoplasma hyorhinis*, *Mycoplasma hyopneumoniae* и *Streptococcus suis*. Наиболее большое количество коинфицирующих патогенов выявлено в образцах легких, полученных из обработанных плацебо животных в течение острой фазы PCV2-виремии (возраст 11-16 недель). Из 17 изученных образцов легких, позитивных по PCV2, 12 оказались также позитивными по PRRSV, а 13 по *Mycoplasma hyorhinis*. Кроме того, были выявлены единичные случаи коинфекции *Streptococcus suis* или *Pasteurella multocida*. И, наконец, на поздней фазе виремии (возраст 17-26 недель) доминировала коинфекция *Mycoplasma hyopneumoniae* (в 6 из 7 PCV2-позитивных образцов легких), но была обнаружена также коинфекция *Mycoplasma hyorhinis*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* и *Streptococcus suis*. За весь период времени после начала виремии (возраст животных 9-26 недель) только 2 из 22 из изученных образцов легких, полученных из обработанных плацебо животных, оказались позитивными только по PCV2. В большинстве проанализированных образцов легких, позитивных по PCV2, обнаружена комбинация из двух или трех условно-патогенных организмов. Таким образом, в опыте по исследованию PCV2-инфекции выявлена ассоциация с несколькими респираторными сопутствующими инфекциями. Начало и пик PCV2-виремии совпадали с началом и пиком коинфекции PRRSV и *Mycoplasma hyorhinis*, в то время как поздняя фаза PCV2-виремии совпадала с началом инфекции *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Снижение коинфекции путем вакцинации против PCV2

Сравнение частоты встречаемости респираторных патогенов, выявленных в образцах легких, продемонстрировало отсутствие существенных различий между двумя обрабатываемыми группами в период, предшествующий началу PCV2-виремии (данные не представлены). После начала PCV2-виремии (возраст 10-26 недель) доля образцов легких, полученных из вакцинированных животных, которые оказались позитивными по *Mycoplasma hyorhinis* и PRRSV, снижалась на 71% ($p=0,0293$) и 46% ($p=0,2847$) соответственно (таблица 1).

Таблица 1					
Результаты опыта B05 BIVI 030					
	Плацебо		Вакцина		Снижение
	%	(N)	%	(N)	%
PCV2	92	(24/26)	55	(6/11)	40
PRRSV	50	(13/26)	27	(3/11)	46
<i>M. hyorhinis</i>	62	(16/26)	18	(2/11)	71
<i>M. hyopneumoniae</i>	23	(6/26)	45	(5/11)	-
<i>S. suis</i>	12	(3/26)	27	(3/11)	-
<i>P. multocida</i>	4	(1/26)	9	(1/11)	-
APP	8	(2/26)	0	(0/11)	100
<i>B. bronchiseptica</i>	0	(0/26)	0	(0/11)	0

H. parasuis	0	(0/26)	0	(0/11)	0
-------------	---	--------	---	--------	---

Кроме того, в единичных случаях образцы легких, полученные из обработанных плацебо животных, оказались позитивными по *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Небольшие различия между количеством образцов легких, позитивных по *Mycoplasma hyorheumoniae*, *Streptococcus suis* или *Pasteurella multocida*, были выявлены во втором исследовании в обеих обрабатываемых группах. Как представлено в таблице 2, либо частота встречаемости этих патогенов является очень незначительной (*Streptococcus suis*, *Pasteurella multocida*), либо они выявляются на очень поздней фазе PCV2-инфекции (*Mycoplasma hyorheumoniae*).

В другом исследовании (опыт B05 BIVI 013) у вакцинированных животных обнаружена сходная устойчивость к сопутствующим патогенам, эти результаты представлены в таблице 2.

Результаты опыта B05 BIVI 013							Таблица 2
	Плацебо		Вакцина		Снижение		
	%	(N)	%	(N)	%		
<i>P. multocida</i>	14	15/109	0	0/32	100		
<i>H. parasuis</i>	3	3/109	0	0/32	100		
<i>Salmonella spp.</i>	5	5/109	0	0/32	100		
APP	4	4/109	0	0/32	100		
<i>S. suis</i>	50	15/30	н.о.	н.о.	н.о.		

В результате вакцинации против PCV-2 частота встречаемости PCV2-инфекций, а также частота встречаемости коинфекций, вызываемых *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Mycoplasma hyrhinis*, *Pasteurella multocida*, PRRSV, *Salmonella spp.*, *Streptococcus suis*, заметно снижалась.

В другом опыте у вакцинированных животных обнаружена также сходная устойчивость к *Mycoplasma hyorheumoniae*.

Список литературы

1. Clark T., Pathology of the Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome of Pigs, 1996, сс.22-25;

2. Brunborg I.M., Moldal T., Jonassen C.M., Quantitation of porcine circovirus type 2 isolated from serum/plasma and tissue samples of healthy pigs and pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome using a TaqMan-based real-time PCR, J Virol Methods, 122(2), 15 декабря 2004 г., сс.171-178;

3. Allan G., McNeilly F., PMWS/PCVD: Diagnosis, Disease and Control: What do we know?, 16 июля 2006 г. - 19 июля 2006 г.;

4. Allan G.M., McNeilly F., Ellis J. и др., PMWS: experimental model and co-infections, Vet Microbiol, 98(2), 4 февраля 2004 г., сс.165-168;

5. Chae C., Postweaning multisystemic wasting syndrome: a review of aetiology, diagnosis and pathology. Vet J, 168(1), июль 2004 г., сс.41-49;

6. Chae C., A review of porcine circovirus 2-associated syndromes and diseases. Vet J, 169(3), май 2005 г., сс.326-336;

7. Segales J., Domingo M., Chianini F. и др., Immunosuppression in postweaning multisystemic wasting syndrome affected pigs. Vet Microbiol, 98(2), 4 февраля 2004 г., сс.151-158;

8. Krakowka S., Ellis J.A., McNeilly F., Ringler S., Rings D.M., Allan G., Activation of the immune system is the pivotal event in the production of wasting disease in pigs infected with

porcine circovirus-2 (PCV-2), *Vet Pathol*, 38(1), январь 2001 г., сс.31-42;

9. Allan G.M., Kennedy S., McNeilly F. и др., Experimental reproduction of severe wasting disease by co-infection of pigs with porcine circovirus and porcine parvovirus, *J Comp Pathol*, 121(1), июль 1999 г., сс.1-11;

10. Allan G.M, McNeilly F., Ellis J. и др., Experimental infection of colostrum deprived piglets with porcine circovirus 2 (PCV2) and porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) potentiates PCV2 replication, *Arch Virol*, 145(11), 2000, сс.2421-2429;

11. Harms P.A., Sorden S.D., Halbur P.G. и др., Experimental reproduction of severe disease in CD/CD pigs concurrently infected with type 2 porcine circovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus, *Vet Pathol*, 38(5), сентябрь 2001 г., сс.528-539;

12. Krakowka S., Ellis J.A., Meehan B., Kennedy S., McNeilly F., Allan G., Viral wasting syndrome of swine: experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic swine by coinfection with porcine circovirus 2 and porcine parvovirus, *Vet Pathol*, 37(3), май 2000 г., сс.254-263;

13. Ostanello F., Caprioli A., Di F.A. и др., Experimental infection of 3-week-old conventional colostrum-fed pigs with porcine circovirus type 2 and porcine parvovirus, *Vet Microbiol*, 108(3-4), 1 июля 2005 г., сс.179-186;

14. Rovira A., Balasch M., Segales J. и др., Experimental inoculation of conventional pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2, *J Virol*, 76(7), 7 апреля 2002 г., сс.3232-2329;

15. Darwich L., Segales J., Mateu E., Pathogenesis of postweaning multisystemic wasting syndrome caused by Porcine circovirus 2: An immune riddle, *Arch Virol*, 149(5), май 2004 г., сс.857-874;

16. Krakowka S., Ellis J.A., McNeilly F. и др., Immunologic features of porcine circovirus type 2 infection, *Viral Immunol*, 15(4), 2002, сс.567-582;

17. Batista L., Postweaning Multisystemic Wasting Syndrom (PMWS) in Quebec, is it an emerging disease?, 4 марта 2006 г. - 7 марта 2006 г.;

18. Blanchard P., Mahe D., Cariolet R. и др., Protection of swine against post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) by porcine circovirus type 2 (PCV2) proteins, *Vaccine*, 21(31), 7 ноября 2003 г., сс.4565-4575;

19. Caron J., Ouardani M., Dea S., Diagnosis and differentiation of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Mycoplasma hyorhinis* infections in pigs by PCR amplification of the p36 and p46 genes, *J Clin Microbiol*, 38(4), 2000, сс.1390-1396;

20. Calsamiglia M., Pijoan C., Trigo A., Application of a nested polymerase chain reaction assay to detect *Mycoplasma hyopneumoniae* from nasal swabs, *J Vet Diagn Invest*, 11(3), май 1999 г., сс.246-251;

21. Wisselink H.J., Joosten J.J., Smith H.E., Multiplex PCR assays for simultaneous detection of six major serotypes and two virulence-associated phenotypes of *Streptococcus suis* in tonsillar specimens from pigs, *J Clin Microbiol*, 40(8), август 2002 г., сс.2922-2929;

22. Townsend K.M., Frost A.J., Lee C.W., Papadimitriou JM, Dawkins HJ. Development of PCR assays for species- and type-specific identification of *Pastewella multocida* isolates, *J Clin Microbiol*, 36(4), апрель 1998 г., сс.1096-1100;

23. Schaller A., Kuhnert P., de la Puente-Redondo V.A., Nicolet J., Frey J., Apx toxins in Pasteurellaceae species from animals, *Vet Microbiol*, 74(4), 12 июня 2000 г., сс.365-376;

24. Hozbor D., Fouque F., Guiso N., Detection of *Bordetella bronchiseptica* by the polymerase chain reaction. *Res Microbiol*, 150(5), июнь 1999 г., сс.333-341;

25. Calsamiglia M., Pijoan C., Solano G., Rapp-Gabrielson V., Development of an oligonucleotide-specific capture plate hybridization assay for detection of *Haemophilus*.

Формула изобретения

- 5 1. Применение протеина ORF-2 PCV2 для приготовления иммуногенной композиции, предназначенной для снижения сопутствующих инфекций, которые вызываются одним или несколькими патогенами, отличными от PCV2, у свиней или в стаде свиней
2. Применение по п.1, отличающееся тем, что сопутствующая инфекция вызывается вирусным, бактериальным и/или грибным патогеном.
- 10 3. Применение по п.2, отличающееся тем, что сопутствующая инфекция вызывается вирусным патогеном.
4. Применение по п.3, отличающееся тем, что сопутствующая инфекция вызывается PRRS.
- 15 5. Применение по п.2, отличающееся тем, что сопутствующая инфекция вызывается бактериальным патогеном.
6. Применение по п.2, отличающееся тем, что сопутствующая инфекция вызывается *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Mycoplasma hyrhinis*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Salmonella spp.*, *Streptococcus suis*.
- 20 7. Применение по п.1, отличающееся тем, что свиньи или стадо свиней заражены PCV2.
8. Применение по п.1, отличающееся тем, что процент сопутствующих инфекций в отношении одной или нескольких инфекций снижают более чем на 10% по сравнению с невакцинированной контрольной группой.
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> БЕРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ ВЕТМЕДИКА ГМБХ

<120> Снижение сопутствующих инфекций у свиней с помощью антигена PCV2

<130> P10-0100

<160> 11

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 8

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> Модифицированная последовательность Козака

<400> 1

ccgccatg 8

<210> 2

<211> 6

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> Рекомбинантная последовательность Eco R1

<400> 2

gaattc 6

<210> 3

<211> 713

<212> ДНК

<213> Цирковирус свиней

<400> 3

cagctatgac gtatccaagg aggcggtacc gcagaagaag acaccgcccc cgcagccatc 60

ttggccagat cctccgccgc cgcacctggc tcgtccaccc ccgccaccgc taccggtgga 120

gaaggaaaaa tggcatcttc aacaccggcc tctcccgac cttcggatat actgtggaga 180

aggaaaaatg gcatcttcaa caccggcctc tcccgcacct tcggatatac tgtgacgact 240

ttgttcccc gggagggggg accaacaanaa tctctatacc ctttgaatac tacagaataa 300

gaaagggttaa gggtgaattc tggccctgct cccccatcac ccaggggtgat aggggagtgg 360

gctccactgc tgttattcta gatgataact ttgtaacaaa ggccacagcc ctaacctatg 420

accatattgt aaactactcc tcccgccata caatccccca acccttctcc taccactccc 480

gttacttcac acccaaacct gttcttgact ccaactattga ttacttccaa ccaaataaca 540

aaaggaatca gctttggctg aggcctacaaa cctctagaaa tgtggaccac gtaggcctcg 600

gcactgcggtt cgaaaacagt aaatacgacc aggactacaa tatccgtgta accatgtatg 660
 tacaattcag agaatttaat cttaaagacc cccacttaa accctaaatg aat 713

<210> 4
 <211> 713
 <212> ДНК
 <213> Цирковирус свиней

<400> 4
 ccgccatgac gtatccaagg aggcggttacc gcagaagaag acaccgcccc cgcagccatc 60
 ttggccagat cctccgccgc cgcccctggc tegtccacc cgcgccaccg taccgttgga 120
 gaaggaaaaa tggcatcttc aacaccgcc tctccgcac ctccggatat actgtcaagg 180
 ctaccacagt cacaaacgccc tcctgggagg tggacatgat gagatttaat attgacgact 240
 ttgttccccccc gggagggggg accaacaata tctctatacc ctttgaatac tacagaataa 300
 gaaagggttaa ggttgaattc tggccctgct cccccatcac ccagggtgat aggggagtgg 360
 gctccactgc tgttattcta gatgataact ttgtaacaaa ggccacagcc ctaacctatg 420
 acccatatgt aaactactcc tcccgcata caatccccca acccttctcc taccactccc 480
 gttacttcac acccaaacct gttcttgact ccactattga ttacttccaa ccaataaaca 540
 aaaggaatca gctttggctg aggctacaaa cctctagaaa tgtggaccac gtaggcctcg 600
 gcactgcggtt cgaaaacagt aaatacgacc aggactacaa tatccgtgta accatgtatg 660
 tacaattcag agaatttaat cttaaagacc cccacttga accctaagaa ttc 713

<210> 5
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> Цирковирус свиней

<400> 5

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Tyr Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg
 1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro
 20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg
 35 40 45

Leu Ser Arg Thr Phe Gly Tyr Thr Val Lys Ala Thr Thr Val Thr Thr
 50 55 60

Pro Ser Trp Ala Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asp Asp Phe Val
 65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Thr Asn Lys Ile Ser Ile Pro Phe Glu Tyr Tyr
 85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr
 100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn
 115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Thr Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr
 130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Pro Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr
 145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Ser Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro
 165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Ser Arg Asn
 180 185 190

Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Lys Tyr Asp
 195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Val Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe
 210 215 220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Lys Pro
 225 230

<210> 6
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> Цирковирус свиней

<400> 6

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Tyr Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg
 1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro
 20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg
 35 40 45

Leu Ser Arg Thr Phe Gly Tyr Thr Val Lys Ala Thr Thr Val Thr Thr
 50 55 60

Pro Ser Trp Ala Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asp Asp Phe Val
 65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Thr Asn Lys Ile Ser Ile Pro Phe Glu Tyr Tyr
 85 90 95

Arg Ile Arg Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr
 100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn
 115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Thr Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr
 130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Pro Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr
 145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Ser Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro
 165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Ser Arg Asn
 180 185 190

Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Lys Tyr Asp
 195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Val Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe
 210 215 220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Glu Pro
 225 230

<210> 7
 <211> 756
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> Последовательность представляет собой выведенную из цирковируса свиней типа 2 открытую рамку считывания 2 с частью вектора pGEM T-easy

<400> 7

gcggccgcgg	gaattcgatc	cgccatgacg	tatccaagga	ggcgttaccg	cagaagaaga	60
caccgcccc	gcagccatct	tggccagatc	ctccgcccgc	gcccctggct	cgccaccccc	120
cgccaccgct	accgttggag	aaggaaaaat	ggcatcttca	acaccgcct	ctcccgacc	180
ttcggatata	ctgtcaaggc	taccacagtc	acaacgcct	cctgggcggt	ggacatgatg	240
agatttaata	ttgacgactt	tgttcccccg	ggagggggga	ccaacaaaat	ctctataccc	300
tttgaatact	acagaataag	aaaggttaag	gttgaattct	ggccctgctc	ccccatcacc	360
cagggtgata	ggggagtggg	ctccactgct	gttattctag	atgataactt	tgtaacaaaag	420
gccacagccc	taacctatga	cccatatgta	aactactcct	cccgcatac	aatcccccaa	480
cccttctcct	accactcccg	ttacttcaca	cccaaacctg	ttcttgactc	cactattgat	540
tacttccaac	caaataacaa	aaggaatcag	ctttggctga	ggctacaaac	ctctagaaat	600
gtggaccacg	taggcctcgg	cactgcggtc	gaaaacagta	aatacgacca	ggactacaat	660
atccgtgtaa	ccatgtatgt	acaattcaga	gaatttaatc	ttaaagacce	cccacttgaa	720
ccctaagaat	tctatcacta	gtgaattcgc	ggccgc		756	

<210> 8

<211> 10387
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>

<223> Последовательность представляет собой выведенную из цирковируса свиней типа 2 конструкцию ОРС-2, которая включает кодирующие последовательности бакуловируса и рGEM T-easy

<400> 8

```

aagctttact cgtaaagcga gttgaaggat catatthtagt tgcgtttatg agataagatt      60
gaaagcacgt gtaaaatggt tcccgcgcggt tggcacaact atttacaatg cggccaagtt      120
ataaaagatt ctaatctgat atgtttttaa acacctttgc ggccccgagtt gtttgcgtag      180
gtgactagcg aagaagatgt gtggaccgca gaacagatag taaaacaaaa ccctagtatt      240
ggagcaataa tcgatttaac caacacgtct aaatattatg atgggtgtgca ttttttgcggtg      300
gcgggcctgt tatacaaaaa aattcaagta cctggccaga ctttgccgcc tgaaagcata      360
gttcaagaat ttattgacac ggtaaaagaa tttacagaaa agtgtcccgg catgttggtg      420
ggcgtgcact gcacacacgg tattaatcgc accggttaca tgggtgtgag atatttaatg      480
cacaccctgg gtattgcgcc gcaggaagcc atagatagat tcgaaaaagc cagaggtcac      540
aaaattgaaa gacaaaatta cgttcaagat ttattaatth aattaatatt atttgcatc      600
tttaacaaat actttatcct attttcaaat tgttgcgctt cttccagcga accaaaacta      660
tgcttcgctt gctccgttta gctttagacc gatcagtggtc gttgttccaa tcgacggtag      720
gattaggccg gatattctcc accacaatgt tggcaacggt gatgttacgt ttatgctttt      780
ggtttccac gtacgtcttt tggccggtaa tagccgtaaa cgtagtgcgg tcgcgcgta      840
cgcacaacac cggatgtttg cgttgcgccg cgggggtattg aaccgcgcga tccgacaaat      900
ccaccacttt ggcaactaaa tcggtgacct gcgctctttt tttctgcatt atttcgtctt      960
tcttttgcat ggtttcctgg aagccggtgt acatgcggtt tagatcagtc atgacgcgcg      1020
tgacctgcaa atctttggcc tcgatctgct tgccttgat ggcaacgatg cgttcaataa      1080
actcttgttt ttaacaagt tctcggttt tttgcgccac caccgcttgc agcgcggttg      1140
tgtgctcggg gaatgtcgca atcagcttag tcaccaactg tttgctctcc tctcccgtt      1200
gtttgatcgc gggatcgtac ttgccggtgc agagcacttg aggaattact tcttctaaaa      1260
gccattcttg taattctatg gcgtaaggca atttggactt cataatcagc tgaatcacgc      1320
cggatttagt aatgagcact gtatgcggct gcaaatacag cgggtcgccc cttttcacga      1380
cgctgttaga ggtagggccc ccattttgga tggctctgctc aaataacgat ttgtattht      1440
tgtctacatg aacacgtata gctttatcac aaactgtata ttttaactg tttagcagct      1500
ccttggccac gaaccggacc tgttggtcgc gctctagcac gtaccgcagg ttgaacgat      1560
cttctocaaa tttaaattct ccaattthaa cgcgagccat tttgatacac gtgtgtcgat      1620
tttgcaaaa ctattgtttt ttaacgcaaa ctaaacttat tgtggtaagc aataatthaa      1680
tatgggggaa catgcgccgc tacaacactc gtcgttatga acgcagacgg cgcgggtctc      1740
ggcgcaagcg gctaaaacgt gttgcgctt caacgcggca aacatcgcaa aagccaatag      1800
tacagthttg atttgcatat taacggcgat tttthaaatt atctthttt ataaatagtt      1860
atgacgccta caactccccg cccgcgttga ctcgctgcac ctcgagcagt tcgthgacgc      1920
cttctccgt gtggccgaac acgtcgagcg ggtggtcgat gaccagcggc gtgcccgcag      1980
cgacgcacaa gtatctgtac accgaatgat cgtcgggcga aggcacgctc gcctccaagt      2040
ggcaatattg gcaaatcoga aaatatatac agttgggttg tttgcgcata tctatcgtgg      2100
cgttgggcat gtacgtccga acgttgattt gcatgcaagc cgaatthaa tcattgcat      2160
tagtgcatg aaaacgttgt acatcctcgc tthtaatcat gccgtcatt aaatcgcgca      2220
atcgagtcaa gtgatcaaag tgtggaataa tgtthctttt gtattccoga gtcaagcgca      2280
gcgctgattt taacaaaacta gccatcttgt aagthtagtt cattthaatgc aactthtacc      2340
aataatata tathgatcgc acgtcaagaa thaaacatgc gccctgtgtc gcatctcaac      2400
acgactatga tagagatcaa ataaagcgcg aathaaatag cttgcgacgc aacgtgcacg      2460
atctgtgcac gcgttccggc acgagcttht attgthaaata gthththacga agcagtgaca      2520
    
```

tgacccccgt	agtgacaacg	atcacgccc	aaagaactgc	cgactacaaa	attaccgagt	2580
atgtcgggta	cgttaaaact	attaagccat	ccaatcgacc	gtagtcgaa	tcaggaccgc	2640
tggtgcgaga	agccgcgaag	tatggcgaat	gcategtata	acgtgtggag	tcgcctcatt	2700
agagcgtcat	gtttagacaa	gaaagctaca	tatttaattg	atccccgatga	ttttattgat	2760
aaattgacce	taactccata	cacggtatcc	tacaatggcg	gggttttggg	caaaatttcc	2820
ggactgcat	tgtacatgct	gtaaacggct	ccgcccacta	ttaatgaaat	taaaaattcc	2880
aattttaaaa	aacgcagcaa	gagaaacatt	tgtatgaaag	aatgcgtaga	aggaaagaaa	2940
aatgctgctg	acatgctgaa	caacaagatt	aatatgcctc	cgtgtataaa	aaaaatattg	3000
aacgatttga	aagaaaacaa	tgtaccgcgc	ggcggtatgt	acaggaagag	gtttatacta	3060
aactgttaca	ttgcaaactg	ggtttcgtgt	gccaaagtgtg	aaaaccgatg	tttaatcaag	3120
gctctgacgc	atttctacaa	ccacgactcc	aagtgtgtgg	gtgaagtcac	gcactcttta	3180
atcaaatccc	aagatgtgta	taaaccacca	aactgccaaa	aaatgaaaac	tgctgacaag	3240
ctctgtccgt	ttgctggcaa	ctgcaagggt	ctcaatccta	tttgtaatta	ttgaataata	3300
aaacaattat	aaatgctaaa	tttgtttttt	attaacgata	caaaccaaa	gcaacaagaa	3360
catttgtagt	attatctata	attgaaaacg	cgtagttata	atcgctgagg	taatatttaa	3420
aatcattttc	aaatgattca	cagttaattt	gcgacaatat	aattttattt	tcacataaac	3480
tagacgcctt	gtcgtcttct	tcttcgtatt	ccttctcttt	ttcatttttc	tcctcataaa	3540
aattaacata	gttattatcg	tatccatata	tgtatctatc	gtatagagta	aattttttgt	3600
tgctataaat	atatatgtct	tttttaatgg	ggtgtatagt	accgctgcgc	atagtttttc	3660
tgtaattttac	aacagtgtca	ttttctggta	gttcttcgga	gtgtgttgct	ttaattatta	3720
aatttatata	atcaatgaat	ttgggatcgt	cggttttgta	caatatgttg	ccggcatagt	3780
acgcagcttc	ttctagttca	attacaccat	tttttagcag	caccggatta	acataacttt	3840
ccaaaatggt	gtacgaaccg	ttaaacaana	acagttcacc	tcctttttct	atactattgt	3900
ctgcgagcag	ttgtttgttg	ttaaaaataa	cagccattgt	aatgagacgc	acaaactaat	3960
atcacaaaact	ggaaatgtct	atcaatatat	agttgctgat	atcatggaga	taattaaaa	4020
gataaccate	tcgcaaataa	ataagtattt	tactgttttc	gtaacagttt	tgtaataaaa	4080
aaacctataa	atattccgga	ttattcatac	cgccccacca	tcgggcgcgg	atcagatctg	4140
cagcggccgc	gggaattcga	tcggccatga	cgtatccaag	gaggcggtac	cgcagaagaa	4200
gacaccgccc	ccgcagccat	cttggccaga	tcctccgcgc	ccgcccctgg	ctcgtccacc	4260
cccgccaccg	ctaccgttgg	agaaggaaaa	atggcatctt	caacaccgcg	ctctcccgcg	4320
ccttcggata	tactgtcaag	gctaccacag	tcacaacgcc	ctcctgggcg	gtggacatga	4380
tgagatttaa	tattgacgac	tttgttcccc	cgggaggggg	gaccaacaaa	atctctatac	4440
cctttgaata	ctacagaata	agaaaggtta	aggttgaatt	ctggccctgc	tcctccatca	4500
cccaggggta	taggggagtg	ggctccactg	ctgttattct	agatgataac	tttgtaacaa	4560
aggccacage	cctaacctat	gacccatatt	taaactacte	ctcccgccat	acaatcccc	4620
aacccttctc	ctaccactcc	cgttacttca	cacccaaacc	tgttcttgac	tcactatttg	4680
attacttcca	accaaataac	aaaaggaatc	agctttggct	gaggctacaa	acctctagaa	4740
atgtggacca	cgtaggcctc	ggcactgctg	tcgaaaacag	taaatacgac	caggactaca	4800
atatccgtgt	aacctatgat	gtacaattca	gagaatttaa	tcttaaagac	ccccacttg	4860
aaccctaaga	attctatcac	tagtgaattc	gcggccgcgc	gccgctccag	aattctagaa	4920
ggtacccggg	atcctttcct	gggaccgggc	aagaaccaa	aactcactct	cttcaaggaa	4980
atccgtaatg	ttaaaccoga	cacgatgaag	cttgtcgttg	gatggaaagg	aaaagagttc	5040
tacagggaaa	cttggaaccg	cttcatggaa	gacagcttcc	ccattgttaa	cgaccaagaa	5100
gtgatggatg	ttttccttgt	tgtcaacatg	cgtcccacta	gacccaaccg	ttgttacaaa	5160
ttcctggccc	aacacgctct	gcgttgcgac	cccgactatg	tacctcatga	cgtgattagg	5220
atcgtcgagc	cttcatgggt	gggcagcaac	aacgagtacc	gcacagcct	ggctaagaag	5280
ggcggcggct	gcccataaat	gaaccttcac	tctgagtaca	ccaactcgtt	cgaaacagttc	5340
atcgatcgtg	tcactctggg	gaacttctac	aagcccatcg	ttacatcgg	taccgactct	5400
gctgaagagg	aggaaattct	ccttgaagtt	tccttggtgt	tcaaagtaaa	ggagtttgca	5460
ccagacgcac	ctctgttcac	tggtccggcg	tattaaaaca	cgatacattg	ttattagtac	5520
atttattaag	cgctagattc	tgtgcgttgt	tgatttacag	acaattgttg	tacgattttt	5580
aataattcat	taaatattata	atctttaggg	tggtatgta	gagcgaana	caaatgattt	5640

tcagcgtctt	tatatctgaa	tttaaatatt	aaatcctcaa	tagatthtga	aaataggtht	5700
cgattagtht	caaacaagg	ttgtthtcc	gaaccgatg	ctggactatc	taatggattht	5760
tcgctcaacg	ccacaaaact	tgccaaatct	tgtagcagca	atctagcttht	gtcgatattc	5820
gthtgtgtht	tgthtthttaa	taaaggtht	acgtcgttca	aaatattatg	cgctthttht	5880
thtctthtcat	cactgtcgtt	agtgtacaat	tgactcgacg	taaacacgtht	aaataaagct	5940
tggacatatt	taacatcggg	cgtgttagct	ttattaggcc	gattatcgtc	gtcgtcccaa	6000
ccctcgtcgt	tagaagthtgc	ttccgaagac	gattthtcca	tagccacacg	acgcctatta	6060
atthtgtcgg	ctaacacgtht	cgcgatcaaa	thtgtagtht	agctthttht	aattatthtct	6120
gattgcgggc	gthtthtgggc	gggthtcaat	ctaactgtgc	ccgatttht	ttcagacaac	6180
acgttagaaa	gcgatgthtgc	aggcggtht	aacattht	acggcaaatc	tactaatggc	6240
ggcggtht	gagctgatga	taaactacc	atcggtht	gcgcaggcgg	ggctggcggc	6300
ggaggcggag	gcggagtht	tggcggtht	gcagacggc	gthttagctc	aaatgtctct	6360
ttaggcaaca	cagtcggcac	ctcaactatt	gtactgtht	cgggcgcgt	thtthtggtht	6420
accgtht	gacgagtht	atthttht	thtctaatag	cttccaaca	thtthtgtct	6480
tcgtctaaag	gtgcagcggg	ttgagtht	gtcggcattg	gtggagcggg	cggcaattca	6540
gacatcgatg	gtgtht	tggtht	gctggaatgt	taggcacggg	agaagtht	6600
ggcggcggtht	ccgccgtht	aattht	gthttagtht	gttcgcgcac	gattgtgggc	6660
accggcgcag	gcgccgtht	ctgcacaacg	gaagtht	tgcttcgag	cagcgttht	6720
ggtgtht	attcaatatt	ataattgga	tacaaactg	aaaaactgc	tataagcatt	6780
gtaattht	tatcgttht	cgtgccgata	thttaaaca	gctcaatgta	agcaatgta	6840
thttaaagag	attgtctcaa	gctcgcgca	cgccgataac	aagccttht	atthttht	6900
cagcattgta	gtggcgagac	acttcgctgt	cgctcgacgta	catgtatgct	thtthttht	6960
aaacgtcgt	ggcaagcttht	aaaatatt	aaagaacatc	tctgttcagc	accactgtgt	7020
tgctgtaaat	gthtthttht	ataattht	cttcgcagtht	atcgacacgt	tcaaaaaatt	7080
gatgcgcac	aatthttht	thtctattat	tgaataaata	agattgtaca	gattcatatc	7140
tacgattcgt	catggccacc	acaaatgcta	cgctgcaaac	gctggtacaa	thtthttht	7200
actgcaaaaa	cgtcaaaaact	cggtataaaa	taatcaacgg	gcgcttht	aaaatatt	7260
thtthttht	caagccact	agcaaattgt	atthtgcagaa	aacaattht	gcgcacaatt	7320
thtaacgtga	cgaaataaaa	gttcaccagtht	taatgagcga	ccacccaaat	thtataaaaa	7380
tctattht	tcacggtht	atcaacaacc	aagtgatcgt	gatggactac	atthttht	7440
ccgatttht	tgaaacacta	caaattaaag	gcgagcttht	gtaccaact	gthttagcaata	7500
thtattagaca	gctgtgtgaa	gcgctcaacg	atthtgcacaa	gcacaattht	atacacaacg	7560
acataaaact	cgaaaatgtht	thtatattht	aagcacttht	tcgctgtat	gthttht	7620
acggattgtg	caaacacgaa	aactcacttht	gcgtht	cggcacgtht	gagthttht	7680
gtccggaaaa	aatthtgcac	acaactatgc	acgtht	tgactggtac	gcggcgtgtht	7740
aacatacaag	thtgcctaacgtht	aatcatgtht	atagctgtht	cctgtgtgaa	atthttht	7800
gctcacaatt	ccacacaaca	tacgagccgg	aagcataaag	tgtaaagcct	gggtht	7860
atgagtht	taactcacat	taattht	gcgctcactg	cccgttht	agtht	7920
cctgtcgtgc	cagctgcatt	aatgaactg	ccaacgcgcg	gggagaggc	gthttht	7980
tgggcgctct	tcgcttht	cgtcactga	ctcgtcgc	tcggtht	ggctgcggc	8040
agcggtht	gctcactcaa	aggcggtht	acgtht	acagaactcag	gggataacgc	8100
aggaaagaac	atgtgagcaa	aaggccagca	aaaggccag	aaccgtaaaa	aggccgcttht	8160
gctggcgttht	thtccataggc	thtcccc	tgacgagcat	cacaaaaact	gacgctcaag	8220
tcagaggtht	cgaaaccgca	caggactata	aagataccag	gcgtht	ctggaagctc	8280
cctcgtgcgc	thtctcgttht	cgacctgtht	gcttacggga	tacctgtcgc	ccttht	8340
thtccgggaagc	gtggcgttht	ctcatagctc	acgctgtag	tatctcagtht	cggtht	8400
cgttcgctcc	aagctgggct	gtgtgcacga	acccccgtht	cagcccgacc	gctgcgcct	8460
atccggtaac	tatcgtcttht	agtccaacc	gthtaagacac	gacttatcgc	cactggcagc	8520
agccactgtht	aacaggatta	gcagagcgcg	gtatgtagc	gthtgcacag	agtht	8580
gtgtht	aactacggct	acactagaag	gacagtht	gthtctgcgc	ctctgctgaa	8640
gccagtht	thtccgaaaa	gagtht	ctctgtht	ggcaaaaa	ccaccgctg	8700
tagcggtht	thtthttht	gcaagcagca	gattacgcgc	agaaaaaag	gatctcaaga	8760

```

agatcctttg atcttttcta cgggggtctga cgctcagtg aacgaaaact cacgtaagg 8820
gatttttggtc atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg 8880
aagttttaaa tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt 8940
aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact 9000
ccccgtcgtg tagataacta cgatacggga gggccttacca tctggcccca gtgctgcaat 9060
gataccgga gacccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg 9120
aagggccgag cgcagaagtg gtccctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg 9180
ttgccgggaa gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat 9240
tgctacaggc atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccgggtc 9300
ccaacgatca aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt 9360
cggctctccg atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc 9420
agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga 9480
gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg tatgcccga ccgagttgct cttgcccggc 9540
gtcaatacgg gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgtca tcattggaaa 9600
acgttcttcg gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta 9660
accactcgt gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg 9720
agcaaaaaaca ggaaggcaaa atgccgcaaa aaaggggaata agggcgacac ggaaatggtg 9780
aatactcata ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcaggggtt attgtctcat 9840
gagcggatac atatttgaat gtatttagaa aaataaacia ataggggttc cgcgcacatt 9900
tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga aaccattatt atcatgacat taacctataa 9960
aaataggcgt atcacgaggc cctttcgtct cgcgcgtttc ggtgatgacg gtgaaaacct 10020
ctgacacatg cagctcccgg agacggtcac agcttgtctg taagcggatg ccgggagcag 10080
acaagcccgt cagggcgcgt cagcgggtgt tggcgggtgt cggggctggc ttaactatgc 10140
ggcatcagag cagattgtac tgagagtgca ccatatgcgg tgtgaaatac cgcacagatg 10200
cgtaaggaga aaataccgca tcaggcgcca ttccgccattc aggctgcgca actggtggga 10260
agggcgatcg gtgcgggect cttecgctatt acgccagctg gcgaaagggg gatgtgctgc 10320
aagggcatta agttgggtaa cgccaggggtt ttcccagtcg cgacgttgta aaacgacggc 10380
cagtgcc

```

10387

<210> 9
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Цирковирус свиней

<400> 9

Ser Tyr Pro Arg Arg Arg Tyr Arg Arg Arg Arg His His Pro Pro Ser
 1 5 10 15

His Leu Gly Gln
 20

<210> 10
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Цирковирус свиней

<400> 10

Pro Arg His His Tyr Arg Pro Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr
 1 5 10 15

Thr Leu Ser

<210> 11

<211> 233

<212> PRT

<213> Искусственная

<220>

<223> Аминокислотная последовательность открытой рамки считывания 2
 цирковируса свиней типа 2

<400> 11

Met Thr Tyr Pro Arg Arg Arg Tyr Arg Arg Arg Arg His Arg Pro Arg
 1 5 10 15

Ser His Leu Gly Gln Ile Leu Arg Arg Arg Pro Trp Leu Val His Pro
 20 25 30

Arg His Arg Tyr Arg Trp Arg Arg Lys Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg
 35 40 45

Leu Ser Arg Thr Phe Gly Tyr Thr Val Lys Ala Thr Thr Val Arg Thr
 50 55 60

Pro Ser Trp Ala Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asp Asp Phe Val
 65 70 75 80

Pro Pro Gly Gly Gly Thr Asn Lys Ile Ser Ile Pro Phe Glu Tyr Tyr
 85 90 95

Arg Ile Lys Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr
 100 105 110

Gln Gly Asp Arg Gly Val Gly Ser Thr Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn
 115 120 125

Phe Val Thr Lys Ala Thr Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr
 130 135 140

Ser Ser Arg His Thr Ile Pro Gln Pro Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr
 145 150 155 160

Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Ser Thr Ile Asp Tyr Phe Gln Pro
 165 170 175

Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr Ser Arg Asn

180

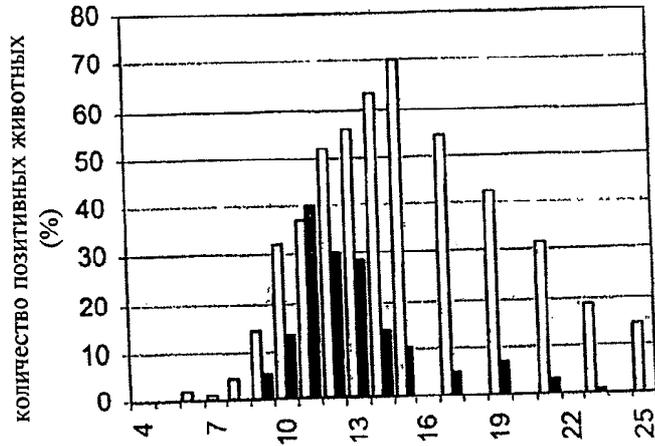
185

190

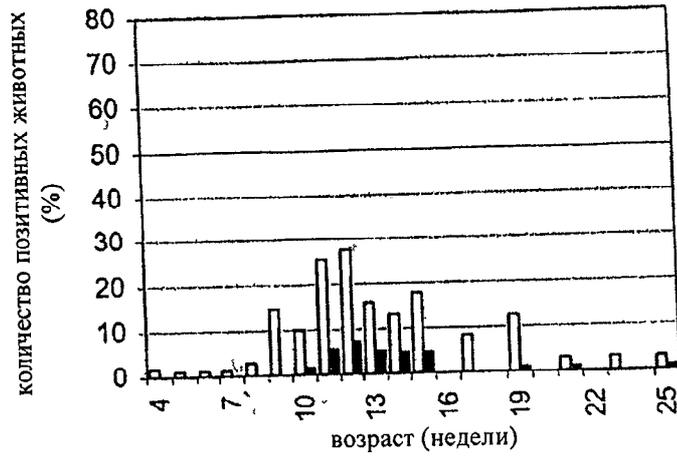
Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser Ile Tyr Asp
 195 200 205

Gln Asp Tyr Asn Ile Arg Val Thr Met Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe
 210 215 220

Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Lys Pro
 225 230



Фиг. 1А



Фиг. 1Б