



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0035727

(51)⁸ A61K 39/02; A61K 39/12

(13) B

(21) 1-2018-03252

(22) 14/12/2016

(86) PCT/US2016/066481 14/12/2016

(87) WO2017/116698 06/07/2017

(30) 62/272,017 28/12/2015 US

(45) 25/05/2023 422

(43) 26/11/2018 368A

(73) MERIAL, INC. (US)

3239 Satellite Blvd., Duluth, GA 30096, United States of America

(72) WILSON Keith (US); LAWRENCE Paulraj (IN).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) VACXIN CHỨA KHÁNG NGUYÊN MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE VÀ
KIT CHỨA VACXIN NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến vacxin để phòng trừ các bệnh nhiễm khuẩn *Mycoplasma hyopneumoniae* (M hyo), virus circo typ 2 ở lợn (PCV2), và hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp của lợn (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus - PRRSV) ở động vật và để làm tăng khả năng tăng cân và/hoặc làm giảm mức thiệt hại do động vật chết, và kit chẩn đoán.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm hoặc vaccin để phòng trừ nhiễm khuẩn *Mycoplasma hyopneumoniae* (M hyo), virus circo typ 2 ở lợn (PCV2), và hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp của lợn (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus - PRRSV) ở động vật và làm tăng khả năng tăng cân hoặc làm giảm mức thiệt hại do lợn chết, phương pháp chủng ngừa để phòng các bệnh nhiễm khuẩn này, và kit để sử dụng với các phương pháp và chế phẩm này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Virus circo, tên gọi chung của họ virus có tên là *Circoviridae* và được tìm thấy ở nhiều loài động vật và thực vật, có đặc trưng là các virion tròn, không có vỏ với đường kính trung bình nằm trong khoảng từ 17 đến 23,5 nm chứa axit deoxyribonucleic vòng, sợi đơn (ssADN). Đã biết bộ gen ssADN của virus circo là các đơn vị sao chép ADN virus nhỏ nhất.

Đã nhận diện được nhiều loại virus circo ở nhiều loài động vật bao gồm PCV. PCV typ II (“PCV2” hoặc “PCV2”), trái với PCV typ I (“PCV1” hoặc “PCV1”), liên quan chặt chẽ đến Hội chứng còi cọc sau cai sữa (*Postweaning multisystemic wasting syndrome* - PMWS) ở lợn đang cai sữa (xem bài báo: Allan và các đồng tác giả, Eur. J. Vet. Diagn. Investig. 1998, 10, 3-10; Ellis và các đồng tác giả, Can. Vet. J. 1998, 39, 44-51 và Morozov và các đồng tác giả, J. Clin. Microbiol. 1998, 36, 2535-2541). PCV2 đã được công nhận là tác nhân gây bệnh chính của PMWS, hiện được gọi là PCVAD (bệnh liên quan đến Virus circo ở lợn) vì tên này được Hiệp hội các bác sĩ thú y của Mỹ (the American Association of Swine Veterinarians - AASV) sửa đổi vào tháng 3 năm 2006. Lợn bị nhiễm khuẩn PCV2 do tự nhiên mắc phải hoặc do thử nghiệm có biểu hiện giảm cân tiến triển, thở nhanh, khó thở và vàng da (Allan và các đồng tác giả 1998; Allan và các đồng tác giả 1999; Ellis và các đồng tác giả 1998; Ellis và các đồng tác giả 1999). Các phát hiện bệnh lý tổng thể liên quan trực tiếp đến kháng nguyên PCV2 bao gồm bệnh viêm hạch, bệnh viêm phổi mô kẽ, bệnh viêm gan và bệnh viêm thận (Allan và các đồng tác giả 1998; Allan và các đồng tác giả 1999; Ellis và các đồng tác giả 1998; Ellis và các đồng tác giả 1999).

Mycoplasma hyopneumoniae, nguyên nhân gây bệnh viêm phổi do vi khuẩn, vẫn là tác nhân gây bệnh quan trọng trong ngành công nghiệp chăn nuôi lợn. Sinh vật nhỏ, phức tạp này xâm chiếm các tế bào lông rung của đường hô hấp, dẫn đến việc làm giảm vùng tiếp xúc của hệ miễn dịch. Các tổn thương ở phổi, thường thấy ở lợn con, đặc trưng ở chỗ có hiện tượng tăng sản các tế bào biểu mô và tăng mức độ tích tụ các tế bào đơn nhân quanh mạch và quanh tiểu phế quản. Sau khi nhiễm khuẩn *M. hyopneumoniae*, đã quan sát được phản ứng miễn dịch và gây ra sự đề kháng ở lợn. (Thacker, Anim Health Res Rev. 2004 tháng 12, 5 (2): 317-20 và Kobisch & Friis, Rev Sci Tech 1996 tháng 12, 15 (4): 1569-605). Các triệu chứng lâm sàng và sự phát triển thương tổn là do khả năng gây bệnh của *M. hyopneumoniae* và các phản ứng phòng vệ ở phổi. Sự liên quan của bệnh viêm phổi về mặt kinh tế bị tác động ở mức độ lớn bởi các bệnh nhiễm khuẩn thứ phát phổ biến tiếp theo nhiễm khuẩn *M. hyopneumoniae* ban đầu. Có sẵn các xét nghiệm khác nhau để chẩn đoán bệnh viêm phổi ở từng lợn riêng rẽ và theo nhóm. Việc điều trị và phòng bệnh là không đơn giản vì bệnh viêm phổi do vi khuẩn gây ra là bệnh đa yếu tố (Maes và các đồng tác giả, Vet Q. 1996, 18 (3): 104-9).

M. hyopneumoniae cũng liên quan đến bệnh hô hấp phức hợp ở lợn (Porcine respiratory disease complex - PRDC), một hội chứng hô hấp đa yếu tố liên quan đến một vài tác nhân gây bệnh hô hấp. Các tác nhân gây bệnh được phân lập phổ biến nhất từ lợn có các dấu hiệu lâm sàng của PRDC hoặc lây nhiễm các tế bào của hệ miễn dịch hoặc gây ra bệnh lý miễn dịch đáng kể. Do đó, virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp (PRRSV) và *M. hyopneumoniae*, hai tác nhân gây bệnh phổ biến nhất liên quan đến PRDC, làm thay đổi khả năng của hệ miễn dịch hô hấp để đáp ứng sự có mặt của chúng và sự có mặt của các tác nhân gây bệnh khác. Bằng cách thay đổi hệ miễn dịch hô hấp, hai tác nhân gây bệnh phổ biến này làm tăng tính nhạy với nhiều tác nhân gây bệnh khác liên quan đến PRDC (Thacker, Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2001, 17(3):551-65).

Phần lớn các vacxin đã biết phòng trừ *M. hyopneumoniae* dựa trên các chế phẩm chứa tế bào hoàn chỉnh đã được làm bất hoạt *M. hyopneumoniae*. Các nguồn thương phẩm bao gồm RESPIFEND (Fort Dodge, American Home Products), HYORESP (Merial Ltd) hoặc SPRINTVAC (MERIAL Ltd), M+PAC (Schering Plough),

PROSYSTEM M (Intervet), INGELVAC M (Boehringer), RESPISURE (Pfizer Inc.), và STELLAMUNE MYCOPLASMA (Pfizer Inc.).

Vi rút gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp của lợn (PRRSV) là loại vi rút gây ra hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp của lợn (PRRS), còn được gọi là bệnh heo tai xanh. Bệnh đại dịch, quan trọng về mặt kinh tế này làm mất khả năng sinh sản trong đàn gia súc giống và gây suy yếu đường hô hấp của lợn con. Các dấu hiệu lâm sàng của PRRS bao gồm sự mất khả năng sinh sản ở lợn nái như sảy thai và sinh ra lợn con bị chết hoặc khô đét, tai và âm hộ tím tái. PRRSV là virus ARN nhỏ, có vỏ. Nó chứa bộ gen ARN hướng dương, sợi đơn, với kích thước khoảng 15 kilobazơ. Bộ gen này chứa mười khung đọc mở (Meulenbergh và các đồng tác giả, *Virology*. 1993, 192 (1): 62-72, Lee and Yoo, *J Gen Virol* 2005, 86 (11): 3091-6; Johnson và các đồng tác giả, *J of Gen Virol*. 2011, 92 (5), trang 1107–1116).

Đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US 20130266603 đề cập đến chế phẩm miễn dịch tam tam trị gồm phần hòa tan chứa chế phẩm tế bào nguyên vẹn *Mycoplasma hyopneumoniae* (M. hyo), kháng nguyên virus circo typ 2 của lợn (porcine circovirus type 2 - PCV2) và kháng nguyên virus PRRS.

Trong vài năm qua, việc lan rộng của một số bệnh nhiễm khuẩn ở lợn đã dẫn đến việc cần phải phát triển vaccin đa trị thích ứng và phác đồ chủng ngừa kèm theo. Các phác đồ này bao gồm việc chủng ngừa lợn trước khi trưởng thành, trong đó có những khó khăn về hậu cần, ví dụ, số lượng lợn cần chủng ngừa cao. Một vấn đề thực tế khác là hiện tượng nhiều khi nhiều vaccin được sử dụng đồng thời cho một lợn để điều trị một vài bệnh nhiễm khuẩn. Trong vaccin và miễn dịch học, đây là hiện tượng đã biết rõ và không thể đoán trước được gọi là “hiện tượng nhiễu hiệu quả.” Trong việc sử dụng đồng thời vaccin (ví dụ, khi hai hoặc nhiều vaccin được sử dụng cùng nhau, hoặc trộn lẫn với nhau trong cùng một chế phẩm hoặc trong việc sử dụng lần lượt như tiêm lần đầu hoặc tiêm nhắc lại theo sáng chế), hai loại vaccin này có thể có hiện tượng nhiễu. Hiện tượng này lần đầu tiên được ghi nhận ở vaccin bại liệt Sabin tam trị nếu số lượng virus kiểu huyết thanh 2 trong vaccin đã được giảm để ngăn không cho nó bị hiện tượng nhiễu với việc “lấy” các virus kiểu huyết thanh 1 và 3 trong vaccin.

Các tác nhân lây nhiễm ở lợn, đặc biệt là virus, không chỉ ảnh hưởng mạnh đến ngành công nghiệp trang trại, mà còn gây ra các rủi ro tiềm ẩn về sức khỏe cộng đồng

cho con người. Do đó, việc phát triển phương pháp phòng ngừa PMWS hoặc PCVAD và chủng ngừa cho PCV là điều cần thiết.

Cũng cần có loại vaccin duy nhất để phòng trừ đa nhiễm khuẩn PCV2, *Mycoplasma hyopneumoniae* (M hyo), và hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp của lợn (PRRSV). Vaccin như vậy sẽ loại bỏ được bước sử dụng đa liều và do đó làm giảm đáng kể chi phí và lao động liên quan đến việc chủng ngừa vaccin cho lợn trên toàn thế giới. Vẫn cần có loại vaccin đa trị hiệu nghiệm và hiệu quả, dễ sử dụng đối với lượng lớn lợn và có hiệu quả về mặt chi phí.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất chế phẩm hoặc vaccin M hyo đa trị chứa: i) kháng nguyên M hyo, và ii) ít nhất một trong số: kháng nguyên PCV2, kháng nguyên PRRSV, hoặc dạng kết hợp của chúng.

Sáng chế cũng đề xuất chế phẩm hoặc vaccin chứa kháng nguyên PRRSV sống đã được cải biến và kháng nguyên PRRSV đã được làm bất hoạt.

Sáng chế đã cho thấy lợi ích bất ngờ của việc chủng ngừa *M. hyopneumoniae* được sử dụng trong vaccin đa trị để bảo vệ lợn phòng trừ nhiều tác nhân gây bệnh, làm tăng khả năng tăng cân và làm giảm mức thiệt hại do lợn chết. Bất ngờ là, sáng chế cũng đã chứng minh được rằng khi kháng nguyên PRRSV sống đã được cải biến và kháng nguyên PRRSV đã được làm bất hoạt được sử dụng cùng nhau thì tỷ lệ chết của lợn được giảm.

Sáng chế đề xuất phương pháp chủng ngừa lợn, hoặc gây ra đáp ứng sinh miễn dịch hoặc bảo vệ ở lợn, bao gồm ít nhất một bước sử dụng chế phẩm hoặc vector theo sáng chế.

Sáng chế cũng đề xuất kit hoặc bộ chủng ngừa, có thể bao gồm một hoặc nhiều lọ vaccin chứa vaccin M hyo, vaccin PCV2, và vaccin PRRS.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Phần mô tả chi tiết sau, được đưa ra để làm ví dụ, và không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế ở các phương án cụ thể được mô tả, có thể được hiểu rõ cùng với các hình vẽ kèm theo, được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn, trong đó:

Fig.1 là biểu đồ thể hiện dữ liệu của qPCR được thực hiện trên huyết thanh được lập vào ngày đầu tiên của nghiên cứu.

Fig.2 là biểu đồ thể hiện nồng độ chuẩn FFN từ huyết thanh được lập vào ngày 0 và 21.

Fig.3 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ tăng cân trung bình giữa các nhóm lợn.

Fig.4 là biểu đồ thể hiện trọng lượng trung bình của các nhóm lợn ở các ngày 0 và 61 của nghiên cứu này.

Fig.5 là biểu đồ thể hiện việc so sánh cân nặng của lợn cuối cùng dựa trên tình trạng chủng ngừa Mycoplasma.

Fig.6 là bảng thể hiện trình tự SEQ ID NO. được chỉ định cho mỗi trình tự ADN và protein.

Fig.7A-7C thể hiện sự sắp xếp trình tự và cây phát sinh loài.

Mô tả chi tiết sáng chế

Cần lưu ý rằng trong bản mô tả này và đặc biệt là trong Yêu cầu bảo hộ, thuật ngữ như “bao gồm”, “được bao gồm”, “chứa” và thuật ngữ tương tự có thể có nghĩa được quy định với nó trong luật sáng chế Mỹ; ví dụ: chúng có thể có nghĩa là “chứa”, “được chứa”, “chứa” và thuật ngữ tương tự; và thuật ngữ như “chứa chủ yếu” và “chủ yếu chứa” có nghĩa được chỉ định cho chúng theo luật sáng chế Mỹ, ví dụ: các quy định này cho phép các yếu tố không cần được nêu một cách rõ ràng, nhưng loại trừ các yếu tố được tìm thấy trong tình trạng kỹ thuật hoặc ảnh hưởng đến dấu hiệu cơ bản hoặc mới của sáng chế.

Thuật ngữ số ít “một” bao gồm cả số nhiều, trừ khi có quy định rõ trong bản mô tả. Tương tự, từ “hoặc” được dự định để bao gồm “và” trừ khi có quy định rõ trong bản mô tả. Từ “hoặc” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ một phần bất kỳ của danh mục cụ thể và cũng bao gồm tổ hợp bất kỳ của các phần trong danh mục này.

Thuật ngữ “động vật” được sử dụng trong bản mô tả này bao gồm tất cả các động vật có vú, chim và cá. Động vật như được sử dụng trong bản mô tả này có thể được chọn từ nhóm bao gồm ngựa (ví dụ, ngựa), chó (ví dụ, chó, chó sói, cáo, chó sói, chó rừng), mèo (ví dụ, sư tử, hổ, mèo nhà, mèo hoang, mèo lớn khác và các giống mèo khác bao gồm báo gêba và mèo rừng), bò (ví dụ, gia súc, trâu), lợn (ví dụ, heo), loài cừu (ví dụ,

cừu), loài dê (ví dụ, dê), lạc đà (ví dụ, lạc đà không bướu), chim (ví dụ, gà, vịt, ngỗng, gà tây, chim cú, gà lôi, vịt, chim sẻ, chim ung, quạ, đà điểu, chim emu và đà điểu đầu mèo), linh trưởng (ví dụ, bộ bán hầu, phủ hầu, khỉ, vượn, khỉ không đuôi), người, và cá. Thuật ngữ “động vật” cũng bao gồm động vật riêng biệt trong tất cả các giai đoạn của sự phát triển, kể cả giai đoạn phôi và bào thai.

Thuật ngữ “lợn” hoặc “lợn con” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ động vật có nguồn gốc từ lợn, trong khi “lợn sữa” được sử dụng để chỉ lợn nái trong độ tuổi sinh sản và có khả năng sinh sản.

Thuật ngữ “polypeptit” và “protein” được sử dụng hoán đổi cho nhau trong bản mô tả này để chỉ polyme của các gốc axit amin liên kết.

Thuật ngữ “axit nucleic”, “nucleotit”, và “polynucleotit” được sử dụng hoán đổi cho nhau và để chỉ ARN, ADN, ADN bổ sung, hoặc cARN và dẫn xuất của chúng, như các trình tự chứa mạch chính đã được cải biến. Cần hiểu rằng sáng chế đề xuất polynucleotit bao gồm trình tự bổ sung với trình tự được mô tả trong bản mô tả này. “Polynucleotit” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ cả sợi thuận chiều (đầu 5’ đến đầu 3’) và sợi bổ sung ngược chiều (đầu 3’ đến đầu 5’). Polynucleotit theo sáng chế có thể được tạo ra bằng các cách khác nhau (ví dụ, bằng cách tổng hợp bằng hóa học, bằng cách tách dòng vô tính gen v.v.) và có thể có các dạng khác nhau (ví dụ, mạch thẳng hoặc mạch nhánh, sợi đơn hoặc sợi kép, hoặc thể lai của chúng, đoạn mồi, đầu dò v.v.).

Thuật ngữ “ADN bộ gen” hoặc “bộ gen” được sử dụng hoán đổi cho nhau và để chỉ thông tin di truyền có thể di truyền được của sinh vật chủ. ADN bộ gen bao gồm ADN của nhân (cũng được gọi là ADN nhiễm sắc thể) nhưng cũng là ADN của thể hạt (ví dụ, lục lạp) và cơ quan tế bào khác (ví dụ, ty thể). ADN bộ gen hoặc bộ gen được dự định trong sáng chế cũng sử dụng để chỉ ARN của virus. ARN có thể là ARN sợi dương tính hoặc sợi âm tính. Thuật ngữ “ADN bộ gen” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ ADN bộ gen chứa trình tự bổ sung với trình tự được mô tả trong bản mô tả này. Thuật ngữ “ADN bộ gen” cũng sử dụng để chỉ ARN thông tin (mARN), ADN bổ sung (cADN), và ARN bổ sung (cARN).

Thuật ngữ “gen” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ đoạn bất kỳ của polynucleotit liên quan đến chức năng sinh học. Do đó, gen hoặc polynucleotit bao gồm intron và exon như trong trình tự bộ gen, hoặc chỉ các trình tự mã hoá như trong cADN,

như khung đọc mở (open reading frame - ORF), đi từ bộ ba mã hóa bắt đầu (bộ ba mã hóa metionin) và kết thúc bằng tín hiệu kết thúc (bộ ba mã hóa kết thúc). Gen và polynucleotit có thể cũng bao gồm các vùng điều hòa sự biểu hiện của chúng, như khởi mào phiên mã, dịch mã và kết thúc phiên mã. Do đó, gen cũng bao gồm đoạn khởi đầu và vùng gắn kết ribosom (nói chung các yếu tố điều hoà này nằm trong khoảng khoảng từ 60 đến 250 nucleotit bộ ba mã hóa bắt đầu phía trước của trình tự hoặc gen mã hoá; vùng kết thúc phiên mã (nói chung vùng kết thúc được định vị ở khoảng 50 nucleotit phía sau của bộ ba mã hóa kết thúc của trình tự hoặc gen mã hoá). Gen hoặc polynucleotit cũng sử dụng để chỉ mảnh axit nucleic biểu hiện ARN thông tin hoặc ARN chức năng, hoặc mã hóa protein cụ thể, và bao gồm trình tự điều hòa.

Thuật ngữ “ADN khác loài” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ ADN có nguồn gốc từ sinh vật khác nhau, như dạng tế bào khác nhau hoặc các loài khác nhau từ thể nhận. Thuật ngữ này cũng sử dụng để chỉ ADN hoặc mảnh của nó trên cùng bộ gen của ADN vật chủ trong đó ADN khác loài được cài xen vào vùng của bộ gen khác với vị trí ban đầu của nó.

Thuật ngữ “kháng nguyên” hoặc “chất sinh miễn dịch” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ chất gây ra đáp ứng miễn dịch cụ thể ở động vật chủ. Kháng nguyên có thể bao gồm toàn bộ sinh vật, sinh vật đã chết, giảm động lực hoặc còn sống; đơn vị nhỏ hoặc một phần của sinh vật; vector tái tổ hợp chứa đoạn cài xen với các đặc tính sinh miễn dịch; đoạn hoặc mảnh ADN có khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch khi trình diện với động vật chủ; polypeptit, kháng nguyên, epitop, hapten, hoặc kết hợp bất kỳ của chúng. Theo cách khác, chất sinh miễn dịch hoặc kháng nguyên có thể bao gồm độc tố hoặc kháng độc tố.

Thuật ngữ “protein hoặc peptit sinh miễn dịch” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ polypeptit có hoạt tính miễn dịch theo nghĩa khi được sử dụng cho vật chủ, nó có thể gây ra đáp ứng miễn dịch của dạng tế bào và/hoặc dạng dịch thể chống lại protein. Tốt hơn là, mảnh protein về cơ bản có cùng hoạt tính miễn dịch như protein tổng. Do đó, mảnh protein theo sáng chế bao gồm hoặc về cơ bản chứa hoặc chứa ít nhất một epitop hoặc phần quyết định tính kháng nguyên. Protein hoặc polypeptit “sinh miễn dịch”, như được sử dụng trong bản mô tả này, bao gồm trình tự của protein có chiều dài đầy đủ, các chất tương tự của chúng, hoặc các mảnh sinh miễn dịch của chúng. “Mảnh sinh miễn

dịch” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ mảnh protein bao gồm một hoặc nhiều epitop và do đó gây ra đáp ứng miễn dịch được mô tả nêu trên. Các mảnh như vậy có thể được nhận diện bằng cách sử dụng một số kỹ thuật lập bản đồ epitop bất kỳ, đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, epitop mạch thẳng có thể được xác định bằng cách, ví dụ, tổng hợp đồng thời số lượng lớn các peptit trên nền rắn, các peptit tương ứng với phần phân tử protein, và cho các peptit này phản ứng với các kháng thể trong khi các peptit vẫn được gắn vào nền này. Tương tự, epitop cấu dạng được nhận diện một cách dễ dàng bằng cách xác định cấu dạng không gian của axit amin như bằng, ví dụ, tinh thể học tia x và cộng hưởng từ hạt nhân 2 chiều.

Thuật ngữ “protein hoặc peptit sinh miễn dịch” còn dự định bao gồm các khuyết đoạn, các thêm đoạn và các thay thế về trình tự, chừng nào các chức năng của polypeptit vẫn tạo ra đáp ứng miễn dịch như được xác định trong bản mô tả này. Thuật ngữ “biến đổi bảo toàn” được sử dụng để chỉ sự thay thế của gốc axit amin bằng các gốc tương tự về mặt sinh học bất kỳ khác, hoặc sự thay thế của nucleotit trong trình tự axit nucleic sao cho các gốc axit amin đã được ghi mã không thay đổi hoặc là các gốc tương tự về mặt sinh học khác. Về mặt này, các thay thế được đặc biệt ưu tiên nói chung sẽ là bảo toàn trong tự nhiên, tức là, các thay thế xảy ra trong họ axit amin. Ví dụ, axit amin thường được chia thành bốn họ: (1) aspartat và glutamat axit; (2) lysin, arginin, histidin bazơ; (3) alanin, valin, leuxin, isoleuxin, prolin, phenylalanin, metionin, tryptophan không phân cực; và (4) glyxin, asparagin, glutamin, xystein, serin, threonin, tyrosin phân cực, không tích điện. Phenylalanin, tryptophan, và tyrosin đôi khi được phân loại thành axit amin thơm. Ví dụ về biến đổi bảo toàn bao gồm sự thay thế của một gốc kỵ nước như isoleuxin, valin, leuxin hoặc metionin bằng gốc kỵ nước khác, hoặc sự thay thế của một gốc phân cực bằng một gốc phân cực khác, như sự thay thế của arginin bằng lysin, axit glutamic bằng axit aspartic, hoặc glutamin bằng asparagin, và các sự thay thế tương tự; hoặc thay thế bảo toàn tương tự của axit amin bằng axit amin có liên quan về mặt cấu trúc mà sẽ không ảnh hưởng lớn đến hoạt tính sinh học. Protein có trình tự axit amin về cơ bản giống như phân tử tham chiếu nhưng có sự thay thế axit amin nhỏ mà không ảnh hưởng đáng kể đến tính sinh miễn dịch của protein, vì vậy, nằm trong xác định về polypeptit tham chiếu. Tất cả các polypeptit được tạo ra bằng các cải biến này nằm trong phạm vi của sáng chế. Thuật ngữ “biến đổi bảo toàn” cũng bao gồm việc sử dụng axit amin đã được thay thế thay cho axit amin bố mẹ chưa được thay thế với điều kiện các

kháng thể đã tạo ra cho polypeptit đã được thay thế cũng phản ứng miễn dịch với polypeptit chưa được thay thế.

“Đáp ứng miễn dịch” đối với chế phẩm hoặc vaccin là sự phát triển ở vật chủ có đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào và/hoặc kháng thể với chế phẩm hoặc vaccin đang quan tâm. Thông thường, “đáp ứng miễn dịch” bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, một hoặc nhiều hiệu ứng sau: tạo ra kháng thể, tế bào B, tế bào T trợ giúp, và/hoặc tế bào T gây độc tế bào, đặc biệt là kháng nguyên hoặc các kháng nguyên chứa trong chế phẩm hoặc vaccin đang quan tâm. Tốt hơn là, vật chủ sẽ có đáp ứng miễn dịch điều trị hoặc bảo vệ sao cho tính kháng với nhiễm khuẩn mới sẽ được tăng cường và/hoặc mức nghiêm trọng của bệnh về mặt lâm sàng được giảm. Sự bảo vệ như vậy sẽ được chứng minh bằng hoặc mức giảm hoặc thiếu các triệu chứng thường được biểu hiện ở vật chủ bị lây nhiễm, thời gian phục hồi nhanh hơn và/hoặc số lượng tác nhân gây bệnh thấp hơn ở vật chủ bị lây nhiễm.

Thuật ngữ “vaccin hoặc chế phẩm đa trị”, “hỗn hợp hoặc nhóm vaccin hoặc chế phẩm” và “vaccin hoặc chế phẩm đa trị” được sử dụng hoán đổi cho nhau để chỉ chế phẩm hoặc vaccin chứa hơn một chế phẩm hoặc vaccin. Vaccin hoặc chế phẩm đa trị có thể chứa hai, ba, bốn hoặc nhiều chế phẩm hoặc vaccin. Vaccin hoặc chế phẩm đa trị có thể bao gồm các vectơ virus tái tổ hợp, virus kiểu đại đang hoạt động hoặc giảm động lực hoặc đã chết, đơn vị nhỏ (protein/kháng nguyên), plasmid ADN, hoặc hỗn hợp của chúng.

Thuật ngữ “vaccin đã được làm bất hoạt” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ chế phẩm vaccin chứa sinh vật hoặc tác nhân gây bệnh dễ lây nhiễm nhưng không còn khả năng sao chép hoặc sinh trưởng. Tác nhân gây bệnh có thể có nguồn gốc từ vi khuẩn, virus, nguyên sinh động vật hoặc nấm. Việc gây bất hoạt có thể được thực hiện bằng nhiều phương pháp khác nhau bao gồm xử lý đông lạnh-giã đông, xử lý hóa học (ví dụ, xử lý bằng thimerosal, formalin, (betapropiolacton) hoặc BEI (binary ethylenimine)), siêu âm, chiếu xạ, nhiệt hoặc phương tiện thông thường khác bất kỳ đủ để ngăn ngừa sự sao chép hoặc sinh trưởng của sinh vật trong khi vẫn duy trì được tính sinh miễn dịch của nó.

Chế phẩm hoặc vaccin PCV2 có thể bao gồm chế phẩm chứa tế bào nguyên vẹn hoặc một phần tế bào và/hoặc dịch nổi trên bề mặt, như virion đã chết hoặc chế phẩm sống đã được cải biến, đơn vị nhỏ vaccin, như đơn vị nhỏ vaccin có thể bao gồm một

hoặc nhiều polypeptit hoặc protein có nguồn gốc từ PCV2. Chế phẩm hoặc vaccin PCV2 có thể bao gồm virus đã được gây bất hoạt.

PCV2 có thể là chủng PCV2 bất kỳ được đề cập trong các patent Mỹ số 6,368,601, 6,391,314, 6,660,272, 7,122,192, 7,144,698, 7,192,594, 7,504,206, 7,741,039, 7,833,783, 7,803,613, 7,803,926, 7,211,379, 6,517,843. PCV2 có thể là các chủng Imp. 1008, Imp.1010, Imp999, Imp.1011-48285, Imp.1011-48121, Imp.1103, Imp.1121 như được đề cập trong US 7,211,379 và US 7,122,192. Chủng PCV2 có thể là chủng Imp.1010 (CIRCOVAC®).

Các polypeptit hoặc protein có nguồn gốc từ PCV2 có thể là các polypeptit hoặc protein của PCV2 ORF2. Thuật ngữ “ORF2” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ các kháng nguyên Virus circo được biểu hiện từ khung đọc-mở ORF2 (như được thiết kế bởi Meehan và các đồng tác giả, (1998) J. Gen. Virol. 78:221-227). Tin rằng ORF2 là polypeptit đóng góp vào vỏ protein của virus. Mười ba khung đọc mở (open reading frame - ORF) đã được nhận diện trong bộ gen PCV2. Mô tả thêm về ORF2 của PCV2 có thể được tìm thấy trong các patent Mỹ số 6,368,601, 6,391,314, 6,660,272, 7,122,192, 7,144,698, 7,192,594, 7,504,206, 7,741,039, 7,833,783, 7,803,613, 7,803,926, 7,211,379, 6,517,843, 6,943,152, 6,217,883, 6,953,581, 6,497,883, 7,109,025.

Chế phẩm hoặc vaccin PCV2 có thể còn bao gồm một kháng nguyên khác nữa có nguồn gốc từ *Mycoplasma hyopneumoniae* (M hyo), hoặc virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp của lợn (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus - PRRSV), hoặc dạng kết hợp của chúng. Kháng nguyên có nguồn gốc từ M hyo hoặc PRRSV có thể là toàn bộ sinh vật, đã chết, giảm động lực hoặc còn sống; đơn vị nhỏ hoặc một phần của sinh vật; vector tái tổ hợp chứa đoạn cài xen ghi mã kháng nguyên với các đặc tính sinh miễn dịch; vector khảm tái tổ hợp; polypeptit, kháng nguyên, hoặc kết hợp bất kỳ của chúng.

Tác nhân gây bệnh hoặc sinh vật đã được làm bất hoạt có thể được cô đặc bằng kỹ thuật cô thông thường, cụ thể là bằng cách siêu lọc, và/hoặc được tinh chế bằng phương tiện tinh chế thông thường, cụ thể là bằng cách sử dụng kỹ thuật sắc ký bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, kỹ thuật lọc gel hoặc bằng kỹ thuật siêu lọc. Thuật ngữ “tính sinh miễn dịch” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ có khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch ở động vật chủ chống lại kháng nguyên hoặc các kháng nguyên. Đáp ứng miễn dịch này tạo

ra cơ sở của tính miễn dịch bảo vệ được tạo ra bởi vacxin phòng trừ sinh vật lây nhiễm cụ thể.

Chế phẩm hoặc vacxin theo sáng chế có thể chứa vacxin đơn vị nhỏ có protein sinh miễn dịch tinh chế của PCV2, *M. hyopneumoniae* hoặc PRRSV, polypeptit, kháng nguyên và các mảnh sinh miễn dịch của các protein và polypeptit như vậy. Các protein và polypeptit như vậy có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, các kháng nguyên hoặc protein có thể được tạo ra ở sinh vật chưa có nhân điển hình hoặc sinh vật có nhân điển hình. Sinh vật chưa có nhân điển hình được dự định trong phạm vi của sáng chế có thể bao gồm *Avibacterium*, *Brucella*, *Escherichia coli*, *Haemophilus* (ví dụ, *Haemophilus suis*), *Salmonella* (ví dụ, *Salmonella enteridis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella infantis*), *Shigella*, *Pasteurella*, và *Rimeirella*. Ở các hệ sinh vật chưa có nhân điển hình, một số vector biểu hiện có thể được chọn. Các vector như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các vector tách dòng vô tính và biểu hiện *E. coli* đa năng như PBLUESCRIPT (Stratagene); vector pET (Novagen); vector piN (Van Heeke & Schuster, *J. Biol. Chem.* 264:5503-5509 (1989)); và các vector tương tự; vector PGEX (Promega, Madison, Wis.); ở các hệ sinh vật có nhân điển hình, các dòng tế bào có thể là nấm (như *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*), tế bào baculovirus (như Sf9, Sf21, Tn5B1-4, và S2), tế bào động vật có vú, tế bào thực vật (như bèo tấm và vi tảo). Các vector biểu hiện của các hệ sinh vật có nhân điển hình bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, vector pVR1020 hoặc pVT1012 (Vical Inc., San Diego, CA), vector PichiaPink (Invitrogen, CA, USA), vector pFasBac TOPO (Invitrogen).

Ngoài ra, các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trong lĩnh vực này có thể được sử dụng để xác định độ tinh khiết hoặc mức đồng nhất protein, như điện di gel polyacrylamit mẫu, tiếp theo là hiển thị hóa một dải polypeptit trên gel nhuộm. Độ phân giải cao có thể được xác định bằng cách sử dụng HPLC hoặc các phương pháp tương tự khác đã biết trong lĩnh vực này. Theo một phương án cụ thể, chế phẩm hoặc vacxin chứa ít nhất một protein của *M. hyopneumoniae* như, nhưng không chỉ giới hạn ở, P46, P65, P97, P102, P70, P50 và P44. Đối với trình tự của bộ gen *M. hyopneumoniae*, tham khảo tài liệu của Minion và các đồng tác giả, *J. Bacteriol.* 2004 Nov;186(21):7123-33. Theo phương án cụ thể khác nữa, chế phẩm hoặc vacxin chứa ít nhất một protein của PRRSV như, nhưng không chỉ giới hạn ở, E, ORF3 và M.

Theo các phương án khác, chế phẩm hoặc vaccin theo sáng chế chứa vaccin vi khuẩn *M. hyopneumoniae* (tế bào đã được gây bất hoạt hoàn toàn hoặc một phần), hoặc protein hoặc polypeptit của *M. hyopneumoniae* sống đã được cải biến, hoặc của *M. hyopneumoniae* hoặc mảnh sinh miễn dịch của chúng. Vaccin vi khuẩn M hyo có thể là vaccin vi khuẩn đã được làm bất hoạt chứa trong MAINSAIL[®] (ProtaTek International, Inc., Saint Paul, MN). Vaccin vi khuẩn M hyo có thể là vaccin vi khuẩn đã được làm bất hoạt chứa trong SPRINTVAC[®].

Chế phẩm hoặc vaccin M hyo có thể còn chứa một kháng nguyên khác nữa có nguồn gốc từ PCV2, hoặc virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp của lợn (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus - PRRSV), hoặc dạng kết hợp của chúng.

Theo các phương án khác, chế phẩm hoặc vaccin theo sáng chế chứa PRRSV (tế bào đã được gây bất hoạt hoàn toàn hoặc một phần), hoặc protein hoặc polypeptit của PRRSV, hoặc của PRRSV sống đã được cải biến, hoặc dạng kết hợp của chúng. Chế phẩm hoặc vaccin theo sáng chế có thể chứa PRRSV sống đã được cải biến và PRRSV đã được làm bất hoạt. PRRSV có thể là PRRSV Bắc Mỹ hoặc PRRSV châu Âu bất kỳ. PRRSV Bắc Mỹ này có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chủng ATCC VR-2332 (Collins và các đồng tác giả, 1992, J Vet Diagn Invest 4:117-126), chủng 807/94 (Canada), chủng MN-1b (Kwang, J. và các đồng tác giả, 1994, J. Vet. Diagn. Invest. 6:293-296), chủng VR 2385 (Meng, X.-J và các đồng tác giả, 1994, J. Gen. Virol. 75:1795-1801), chủng Quebec LAF-exp91 (Mardassi, H. và các đồng tác giả, 1995, Arch. Virol. 140:1405-1418). PRRSV châu Âu này có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chủng Olot (Spain), chủng Lelystad và 110 (The Netherlands), chủng PROGRESSIS[®] (Sản phẩm đã đăng ký của Merial Limited). PRRSV có thể là chủng PRRS sống đã được cải biến chứa trong vaccin INGELVAC PRRS[®] MLV (Boehringer Ingelheim). PRRSV cũng có thể bao gồm các chủng được phân lập tại Châu Á và Nam Mỹ.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm hoặc vaccin PRRS sống, giảm động lực hoặc PRRS đã được làm bất hoạt/đã chết.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm hoặc vaccin PRRSV đã được làm bất hoạt/đã chết mới. Chủng PRRSV là kiểu huyết thanh PRRSV mới được nhận diện tại Mỹ. Việc gây bất hoạt có thể là việc gây bất hoạt bằng hóa học tạo ra các thay đổi

cấu trúc hóa học đếm được, bao gồm ví dụ, tạo thành liên kết hóa học mới bằng liên kết ngang hóa học, sửa đổi hóa học không thuận nghịch của axit nucleic và lớp phủ protein.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất ADN bộ gen và các trình tự gen, và các trình tự protein đã được ghi mã của chủng PRRSV.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất các trình tự cho ORF5 (còn gọi là glycoprotein 5 - GP5) protein hoặc các kháng nguyên của PRRSV. Theo một khía cạnh của phương án này, protein ORF5 của PRRSV có trình tự polypeptit nêu trong SEQ ID NO.2, SEQ ID NO.3, SEQ ID NO.4, SEQ ID NO.5, SEQ ID NO.6, SEQ ID NO.7, SEQ ID NO.8, hoặc SEQ ID NO. 9. Theo một khía cạnh khác, protein ORF5 có độ tương đồng trình tự ít nhất là 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8% hoặc 99,9% với polypeptit có trình tự nêu trong SEQ ID NO.2, SEQ ID NO.3, SEQ ID NO.4, SEQ ID NO.5, SEQ ID NO.6, SEQ ID NO.7, SEQ ID NO.8, hoặc SEQ ID NO. 9. Theo một khía cạnh khác nữa, protein ORF5 được ghi mã bởi các polynucleotit có độ tương đồng trình tự ít nhất là 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8% hoặc 99,9% với polynucleotit có trình tự nêu trong SEQ ID NO.1.

Sáng chế còn đề xuất kháng nguyên PRRSV tái tổ hợp. Các kháng nguyên PRRSV tái tổ hợp có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, vector virut avipox PRRSV tái tổ hợp (WO20030003112), vector plasmit PRRSV (US6,576,243), PRRSV cải biến (WO2006129139), protein thể khảm hoặc tái tổ hợp của PRRSV (EP1882478, EP0952219), PRRSV thể khảm (WO2008153572; US7,666,585; CN101603035; Res Vet Sci. 2013, 95(2):742-51.), và PRRSV đã được cải biến di truyền (US6,841,364).

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra và phân lập con cháu hoặc thế hệ sau của PRRSV. Vì vậy, sáng chế mở rộng đến chủng PRRSV có nguồn gốc từ chủng PRRSV nhờ sự nhân giống hoặc nhân lên dạng giống nhau hoặc khác nhau, cụ thể là thế hệ sau có các đặc tính cơ bản của các chủng đã được lưu giữ. Khi nhân giống liên tục, các chủng có thể có các đột biến mà phần lớn trong số đó sẽ không sửa đổi các đặc tính của các chủng này đáng kể. Con cháu hoặc thế hệ sau có thể bao gồm polynucleotit mã hoá protein ORF5 có độ tương đồng trình tự ít nhất là 91% với trình tự nêu trong SEQ ID NO.2, SEQ ID NO.3, SEQ ID NO.4, SEQ ID NO.5, SEQ ID NO.6,

SEQ ID NO.7, SEQ ID NO.8, hoặc SEQ ID NO. 9, hoặc polynucleotit mã hóa protein ORF5 có trình tự nêu trong SEQ ID NO.1.

Sáng chế còn đề xuất ít nhất một PCV2, *M. hyopneumoniae*, hoặc kháng nguyên PRRSV chứa trong phân tử vector hoặc vector biểu hiện và được liên kết có điều khiển với yếu tố khởi đầu và tùy ý với gen tăng cường.

Thuật ngữ “vector” được sử dụng để chỉ plasmit hoặc virus ADN hoặc ARN tái tổ hợp (vector virus) bao gồm polynucleotit khác loài được phân phối đến tế bào đích, hoặc in vitro hoặc in vivo. Polynucleotit khác loài có thể bao gồm trình tự đang quan tâm nhằm mục đích trị liệu, và có thể tùy ý ở dạng cắt-xét biểu hiện. Như được sử dụng trong bản mô tả này, vector không cần có khả năng sao chép trong tế bào đích hoặc đối tượng cuối cùng. Thuật ngữ này bao gồm vector tách dòng vô tính và vector virus.

Các polynucleotit theo sáng chế có thể bao gồm các trình tự bổ sung, như các trình tự đã được ghi mã bổ sung trong cùng đơn vị phiên mã, các yếu tố kiểm soát như đoạn khởi đầu, vị trí gắn kết ribosom, vị trí polyadenyl hóa, các đơn vị phiên mã bổ sung trong điều kiện kiểm soát gen khởi đầu, trình tự giống nhau hoặc khác nhau cho phép tách dòng vô tính, biểu hiện, tái tổ hợp tương đồng, và biến nạp tế bào vật chủ, và cấu trúc bất kỳ như vậy có thể mong muốn để thực hiện phương án theo sáng chế.

Sáng chế đề xuất vector biểu hiện kháng nguyên hoặc biến thể hoặc dạng tương tự hoặc các mảnh của PCV2, *M. hyopneumoniae*, hoặc PRRSV. Các yếu tố để biểu hiện các kháng nguyên là có lợi nếu có mặt trong vector theo sáng chế. Ở mức tối thiểu, yếu tố này bao gồm, về cơ bản chứa, hoặc chứa bộ ba mã hóa khởi đầu (ATG), bộ ba mã hóa kết thúc và đoạn khởi đầu, và tùy ý cả trình tự polyadenyl hóa đối với các vector nhất định như plasmit và vector virus nhất định, ví dụ, vector virus ngoài poxvirus. Khi polynucleotit ghi mã mảnh polypeptide, ví dụ, kháng nguyên PCV2, hoặc kháng nguyên *M. hyopneumoniae*, hoặc kháng nguyên PRRSV, trong véc-tơ, ATG được đặt ở đầu 5' của khung đọc và bộ ba mã hóa kết thúc được đặt ở 3'. Các yếu tố khác để kiểm soát sự biểu hiện có thể có mặt, như trình tự gen tăng cường, trình tự làm ổn định, như intron và trình tự truyền tín hiệu cho phép tiết protein.

Theo một phương án, sáng chế mô tả việc sử dụng lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị của được phẩm hoặc chế phẩm để phân phối và biểu hiện PCV2, *M. hyopneumoniae*, hoặc kháng nguyên PRRSV ở tế bào đích. Việc xác định lượng hữu hiệu

có tác dụng điều trị là thử nghiệm thông thường đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Chất mang, chất bổ sung, chất dẫn, hoặc tá dược được dụng hoặc sử dụng được trong thú y là đã biết đối với người có hiểu biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, chất mang hoặc chất dẫn hoặc tá dược được dụng hoặc sử dụng được trong thú y có thể là dung dịch NaCl 0,9% (ví dụ, nước muối) hoặc dung dịch đệm phosphat. Các chất mang, chất bổ sung, chất dẫn, hoặc tá dược được dụng hoặc sử dụng được trong thú y khác có thể được sử dụng cho phương pháp theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, poly-(L-glutamat) hoặc polyvinylpyrrolidon. Chất mang, chất bổ sung, chất dẫn, hoặc tá dược được dụng hoặc sử dụng được trong thú y có thể là hợp chất bất kỳ hoặc hỗn hợp của các hợp chất tạo điều kiện thuận lợi việc sử dụng vector (hoặc protein được biểu hiện từ vector theo sáng chế in vitro); chất mang, chất dẫn, chất bổ sung, hoặc tá dược có thể tạo điều kiện thuận lợi cho việc chuyển nhiễm và/hoặc cải thiện sự bảo quản vector (hoặc protein). Liều sử dụng và thể tích liều được đề cập trong bản mô tả này trong phần mô tả chung và có thể cũng được xác định bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực này khi đọc phần mô tả này kết hợp với sự hiểu biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, mà không cần việc thử nghiệm quá mức bất kỳ.

Chế phẩm và vacxin miễn dịch theo sáng chế có thể chứa hoặc về cơ bản chứa một hoặc nhiều chất bổ sung. Chất bổ sung thích hợp để sử dụng trong thực tế của chế là (1) polyme của axit acrylic hoặc metacrylic, polyme của dẫn xuất anhydrit maleic và alkenyl, (2) trình tự kích thích miễn dịch (ISS), như trình tự oligodeoxyribonucleotit có một hoặc nhiều đơn vị CpG không được metyl hóa (Klinman và các đồng tác giả, 1996; WO98/16247), (3) dầu trong dung dịch nước nhũ tương, như nhũ tương SPT được mô tả trong trang 147 của tài liệu "Vaccin Design, The đơn vị nhỏ và chất bổ sung Approach" published by M. Powell, M. Newman, Plenum Press 1995, và nhũ tương MF59 được mô tả trong trang 183 của cùng tài liệu này, (4) lipid cation chứa muối amoni bậc bốn, ví dụ, DDA (5) xytokin, (6) nhôm hydroxit hoặc nhôm phosphat, (7) saponin hoặc (8) các chất bổ sung khác được nêu trong tài liệu bất kỳ được trích dẫn và được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn, hoặc (9) dạng kết hợp bất kỳ hoặc hỗn hợp của chúng.

Dầu trong dung dịch nước nhũ tương (3), có thể dựa trên cơ sở: dầu parafin lỏng nhẹ (loại theo Dược điển châu Âu), dầu isoprenoit như squalan, squalen, dầu thu được từ

quá trình oligome hóa alken, ví dụ, isobuten hoặc đexen, các este của axit hoặc rượu có nhóm alkyl mạch thẳng, như dầu thực vật, etyl oleat, propylen glycol, di(caprylat/caprat), glyxerol tri(caprylat/caprat) và propylen glycol dioleat, hoặc các este của rượu hoặc axit mạch nhánh, béo, đặc biệt là các este của axit isostearic.

Dầu được sử dụng kết hợp với chất nhũ hóa để tạo ra nhũ tương. Chất nhũ hóa có thể là chất hoạt động bề mặt không ion như: một mặt là các este của sorbitan, mannit (ví dụ, anhyđromanitol oleat), glyxerol, polyglyxerol hoặc propylen glycol và mặt khác là axit oleic, isostearic, ricinoleic hoặc hydroxystearic, các este này tùy ý được etoxylat hóa, hoặc copolyme khối polyoxypropylen-polyoxyetylen như Pluronic, ví dụ, L121. Một số nhũ tương như nhũ tương TS6, TS7, TS8 và TS9 được mô tả trong US 7,608,279 và US 7,371,395.

Theo một phương án, chất bổ sung có thể bao gồm LR3 và LR4 (US7,691,368), TSAP (US20110129494), TRIGENT™ (Newport Labs), dsARN tổng hợp (ví dụ, poly-IC, poly-ICLC [HILTONOL®]), và chất bổ sung MONTANIDE™ (W/O, W/O/W, O/W, IMS và Gel; tất cả đều do SEPPIC sản xuất).

Theo một phương án cụ thể, dược phẩm và/hoặc chế phẩm được dụng và/hoặc điều trị theo sáng chế chứa hoặc về cơ bản chứa hoặc bao gồm lượng hữu hiệu để gây ra đáp ứng điều trị một hoặc nhiều kháng nguyên được đề cập trong bản mô tả này; và, lượng hữu hiệu có thể được xác định từ bản mô tả này, bao gồm các tài liệu được đưa vào bản mô tả này, và sự hiểu biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, mà không cần thử nghiệm quá mức.

Liều sử dụng có thể chứa trong khoảng từ 10^2 đến khoảng 10^{20} , khoảng 10^3 đến khoảng 10^{18} , khoảng 10^4 đến khoảng 10^{16} , khoảng 10^5 đến khoảng 10^{12} VLPs (các hạt giống virus). Các hạt virus có thể được tính toán dựa trên cơ sở các phương pháp chuẩn độ virus bất kỳ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, FFA (Focus Forming Assay) hoặc FFU (Focus Forming Unit), TCID₅₀ (Liều gây nhiễm 50% môi trường nuôi cấy mô), đơn vị tạo thành vùng tan tế bào (PFU - Plaque Forming Unit), và FAID₅₀ (Liều gây nhiễm 50% kháng thể phát huỳnh quang). Thể tích liều có thể nằm trong khoảng từ 0,1 đến khoảng 10mL, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,2 đến 5mL.

Trong trường hợp của vaccin vi khuẩn M hyo, chế phẩm hoặc vaccin có thể chứa trong khoảng từ 1×10^6 đến khoảng 5×10^{10} đơn vị tạo thành khuẩn lạc (colony forming

unit - CFU) cho mỗi liều, khoảng 1×10^8 đến khoảng 5×10^{10} CFU/liều, và khoảng 5×10^8 đến khoảng 5×10^{10} CFU/liều sử dụng.

Chế phẩm hoặc vaccin có thể chứa trong khoảng từ $10^{2,0}$ đến khoảng $10^{10,0}$ TCID₅₀ hoặc PFU/liều, trong khoảng từ $10^{2,0}$ đến khoảng $10^{8,0}$ TCID₅₀ hoặc PFU/liều, và trong khoảng từ $10^{2,0}$ đến khoảng $10^{6,5}$ TCID₅₀ hoặc PFU/liều sử dụng. Chế phẩm hoặc vaccin có thể chứa TCID₅₀ hoặc PFU tương đương trong trường hợp của chế phẩm hoặc vaccin đã được làm bất hoạt/đã bị chết.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này cần hiểu rằng phần mô tả trong bản mô tả này được tạo ra bằng ví dụ và sáng chế không bị giới hạn ở đó. Từ phần mô tả theo sáng chế và sự hiểu biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, người có hiểu biết trong lĩnh vực này có thể xác định số lần sử dụng, đường sử dụng, và liều sử dụng được sử dụng cho mỗi lần tiêm, mà không cần thử nghiệm bất kỳ quá mức.

Sáng chế dự định ít nhất một lần sử dụng cho động vật lượng hữu hiệu của dược phẩm điều trị bệnh được bào chế theo sáng chế. Động vật có thể là con đực, con cái, con cái đang mang thai và con non. Việc sử dụng này có thể bằng các đường sử dụng khác nhau bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tiêm bắp (IM), tiêm trong da (ID) hoặc dưới da (SC) hoặc qua đường mũi hoặc sử dụng qua đường miệng. Dược phẩm điều trị bệnh theo sáng chế có thể cũng được sử dụng bằng thiết bị không sử dụng kim tiêm (như, ví dụ, bằng thiết bị Pigjet, Biojector hoặc Vitajet (Bioject, Oreg., USA)).

Theo một phương án theo sáng chế, phác đồ tiêm nhắc lại có thể được sử dụng, bao gồm ít nhất một bước tiêm nhắc lại và ít nhất một bước tiêm bổ sung bằng cách sử dụng ít nhất một polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất sinh miễn dịch thông thường. Chế phẩm hoặc vaccin miễn dịch được sử dụng trong bước tiêm nhắc lại là khác nhau về bản chất với chế phẩm hoặc vaccin miễn dịch được sử dụng trong bước tiêm bổ sung. Tuy nhiên, lưu ý rằng, chế phẩm giống nhau có thể được sử dụng làm chế phẩm tiêm nhắc lại và chế phẩm tiêm bổ sung. Quy trình sử dụng này được gọi là “tiêm nhắc lại”. Việc tiêm nhắc lại có thể bao gồm một hoặc nhiều lần tiêm. Tương tự, việc tiêm bổ sung có thể bao gồm một hoặc nhiều lần tiêm.

Chế phẩm hoặc vaccin được sử dụng cho lợn hoặc lợn đang cai sữa. Việc tiêm bổ sung có thể được thực hiện nếu cần trong vòng 2 đến 8 tuần sau lần tiêm thứ nhất. Theo phương án khác, chế phẩm hoặc vaccin được sử dụng cho lợn hoặc lợn nái để lợn con có

được miễn dịch thụ động chống lại nhiễm khuẩn PCV2, *M. hyopneumoniae*, và/hoặc PRRSV từ việc bú sữa non và sữa. Việc tiêm bổ sung cũng có thể được thực hiện hằng 6 tháng hoặc hằng năm, đặc biệt là đối với lợn hoặc lợn nái.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kit hoặc bộ chủng ngừa, bao gồm ít nhất một lọ vaccin chứa chế phẩm hoặc vaccin M hyo, hoặc chế phẩm hoặc vaccin đa trị M hyo, hoặc chế phẩm hoặc vaccin M hyo/PCV2, hoặc chế phẩm hoặc vaccin PRRS, hoặc dạng kết hợp của chúng, được bố trí có điều khiển để thực hiện việc tiêm vaccin cho động vật của họ lợn.

Kit hoặc bộ chủng ngừa như vậy có thể tạo ra đáp ứng miễn dịch bảo vệ và an toàn đối với nhiễm khuẩn PCV2, *M. hyopneumoniae*, và/hoặc PRRSV.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả tiếp bằng các ví dụ không giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1: Nghiên cứu hiệu quả của vaccin đa trị M hyo và vaccin PRRSV

Hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp của lợn (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virut - PRRSV) và *Mycoplasma hyopneumoniae* là hai trong số các tác nhân gây bệnh đã được phân lập phổ biến nhất của bệnh hô hấp phức hợp ở lợn. Ở lợn có cả hai tác nhân gây bệnh này đều là nhiễm khuẩn *M. hyopneumoniae* theo sáng chế thường dẫn đến việc lợn bị nhiễm khuẩn PRRSV. (1) Trong mô hình *in vitro*, mức tăng xytokin viêm nhiễm do sự đồng nhiễm khuẩn gây ra, có thể kéo liên tục nhiều đại thực bào đến vị trí của nhiễm khuẩn trong phổi và kéo dài nhiễm khuẩn này. (2) Đã quan sát được, nếu nhiễm khuẩn này lây lan ra môi trường, bệnh viêm phổi do sự đồng nhiễm khuẩn gây ra có thể làm kéo dài hơn thời gian viêm phổi do PRRSV gây ra so với khi nhiễm khuẩn này bị chính virut này gây ra. Chủng PRRSV hiện đang lưu hành trong lĩnh vực này có mức không đồng nhất về di truyền cao nên vaccin thương phẩm thường không thể tạo ra sự bảo vệ phòng trừ các chủng virut khác loài. (3) Gần đây, chủng PRRSV mới có kiểu 1-7-4 RFLP đang gia tăng phổ biến ở Mỹ. (4) Các báo cáo sơ bộ trong lĩnh vực kỹ thuật này đã mô tả việc thu được mức bảo vệ không đủ với vaccin thương phẩm phòng trừ chủng virut mới, độc này. Khi *M. hyopneumoniae* có mặt trên trang trại, the outcome of nhiễm khuẩn with this virut có thể là worsened. Tiêu chuẩn chủng ngừa mới là cần thiết để có thể phòng trừ được các bệnh lý kết hợp liên quan đến

hai tác nhân gây bệnh này, đặc biệt là sau khi cai sữa khi lợn trở nên nhạy nhất với nhiễm khuẩn.

Trong nghiên cứu này, việc nghiên cứu thực địa được thực hiện trong đó bốn tiêu chuẩn chủng ngừa khác nhau được thử nghiệm để xác định liệu chúng có thể làm tăng được cân nặng từ thời điểm cai sữa đến 12 tuần tuổi hay không.

Chủng PRRSV được phân lập từ huyết thanh của lợn 28 ngày tuổi từ nhà trẻ đã bị nhiễm khuẩn có các dấu hiệu lâm sàng của PRRS. ARN được chiết và được lập trình tự. Các virus PRRS đã lan truyền được làm bất hoạt bằng phản ứng hóa học sử dụng BEI (etylenimin nhị phân). Formaldehyt hoặc BPL (betapropiolacton) cũng có thể được sử dụng để làm bất hoạt virus PRRS. 160 lợn dương tính với PRRS được tách thành bốn nhóm. Các lợn này bao gồm cả lợn đực và lợn nái. Các lợn này khoảng 21 ngày tuổi và có cân nặng trung bình khoảng 18 pao.

Bảng 1: Nhóm điều trị

Nhóm	Xử lý	n
A	Vaksin PRRSV MLV ¹ thương phẩm, vaccin circovac PCV2 ² , vaccin PRRSV tự sinh đã được làm bất hoạt ³	40
B	Thương phẩm PRRSV MLV và Circovac PCV2 vaccin	40
C	PRRSV MLV thương phẩm, Vaccin circovac PCV2, MAINSAIL [®] <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> vaccin ⁴ , vaccin PRRSV tự sinh đã được làm bất hoạt	40
D	PRRSV MLV thương phẩm, vaccin circovac PCV2, và vaccin MAINSAIL [®] <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	40

Vaksin MLV PRRSV¹ thương phẩm: vaccin INGELVAC PRRS[®] MLV (Boehringer Ingelheim), liều dán nhãn.

Vaksin Circovac PCV2 2: vaccin PCV2 CIRCOVAC[®] (vaccin đã được làm bất hoạt được bán trên thị trường bởi Merial Limited) chứa chủng PCV2 Imp.1010, 2ml/liều sử dụng.

Vaksin PRRSV tự sinh đã được làm bất hoạt³: trong chất bổ sung/nhũ tương TS6 (66,66% TS6 + dịch lỏng nghiên cứu 33,33% PRRSV) (TS6 như được mô tả trong US 7,608,279 và US 7,371,395, và cả trong Bảng 3), liều sử dụng 1cc

Vaksin MAINSAIL[®] *Mycoplasma hyopneumoniae*⁴: đã được làm bất hoạt M hyo vaccin vi khuẩn vaccin (ProtaTek International, Inc., Saint Paul, MN), 1ml/liều sử dụng.

Bảng 2: Phác đồ điều trị

Nhóm	Điều trị	Đường sử dụng	Thể tích	Tần số	Nghi ngờ
------	----------	---------------	----------	--------	----------

A	1 liều vaccin Ingelvac PRRS® MLV vào cổ bên phải của lợn đang cai sữa 1 liều vaccin Circovac vào cổ bên phải của lợn đang cai sữa 1 liều vaccin PRRS đã bị chết vào cổ bên trái. 3 tuần sau liều vaccin PRRS đã bị chết thứ hai vào cổ bên trái	IM	0,5mL MLV PRRS 0,5mL Circovac 1,0mL PRRS đã bị chết	Một liều Ingelvac PRRS Một liều Circovac Hai liều PRRS đã bị chết	Phơi nhiễm tự nhiên
B	1 liều vaccin Ingelvac PRRS® MLV vào cổ bên phải ở lợn đang cai sữa 1 liều vaccin Circovac vào cổ bên phải ở lợn đang cai sữa	IM	0,5mL MLV PRRS 0,5mL Circovac	Một liều Ingelvac PRRS Một liều Circovac	Phơi nhiễm tự nhiên
C	1 liều vaccin Ingelvac PRRS® MLV vào cổ bên phải ở lợn đang cai sữa 1 liều vaccin Circovac vào cổ bên phải ở lợn đang cai sữa 1 liều vaccin PRRS đã bị chết vào cổ bên trái. 3 tuần sau liều vaccin PRRS đã bị chết thứ hai vào cổ bên trái 1 liều vaccin Mainsail vào cổ bên phải ở lợn đang cai sữa	IM	0,5mL MLV PRRS 0,5mL Circovac 1,0mL PRRS đã bị chết 1mL Mainsail	Một liều Ingelvac PRRS Một liều Circovac Hai liều PRRS đã bị chết Một liều Mainsail	Phơi nhiễm tự nhiên
D	1 liều vaccin Ingelvac PRRS® MLV vào cổ bên phải ở lợn đang cai sữa 1 liều vaccin Circovac vào cổ bên phải ở lợn đang cai sữa 1 liều vaccin Mainsail vào cổ bên phải ở lợn đang cai sữa	IM	0,5mL MLV PRRS 0,5mL Circovac 1mL Mainsail	Một liều Ingelvac PRRS Một liều Circovac Một liều Mainsail	Phơi nhiễm tự nhiên

Bảng 3: Nhũ tương TS6 (nhũ tương được mô tả trong US 7,608,279 và US 7,371,395)

Pha dầu (120ml)	
Sorbitan monooleat (SPAN 80®)	1,8% khối lượng/thể tích
Sorbitan trioleat (20 OE) (TWEEN 85®)	10,2% khối lượng/thể tích
Dầu parafin (MARCOL 82®)	88% thể tích/thể tích
Pha nước (120ml)	
20% (khối lượng/thể tích) dung dịch sorbitan monooleat (20 OE) (TWEEN 80®)	11,25% khối lượng/thể tích
Dung dịch đệm đẳng trương phosphat disodic và monopotassic 0,02M (pH7,8)	85,75% thể tích/thể tích
Natri mercurothiolat (Thionersal®) 1% trong nước	1,5% thể tích/thể tích

Các lợn được theo dõi trong 61 ngày và cân vào ngày 0 và 61. Các mẫu huyết thanh cũng được rút ra ở cả hai thời điểm này và được đánh giá về sự có mặt của PRRSV bằng qPCR (Fig.1) và về nồng độ chuẩn kháng thể trung hòa bằng cách sử dụng thử nghiệm trung hòa điểm huỳnh quang (FFN). Nồng độ chuẩn kháng thể trung hòa được đo với cả hai chủng được sử dụng trong điều trị chủng ngựa cũng như chủng khác loài,

NADC20 (Fig.2). Việc tăng cân được đánh giá giữa tất cả các nhóm lợn bằng cách sử dụng ANOVA hai chiều ($\alpha=0,05$) để xác định liệu các yếu tố, cân nặng ban đầu và nhóm điều trị, có tác động đáng kể đến sự thay đổi đầu ra, cân nặng cuối (Fig.3) hay không. Sau đó, các nhóm này được phân loại bằng cách sử dụng thử nghiệm Student's t ($\alpha=0,05$) để hiển thị hóa sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm (Fig.4). Các lợn được đánh giá tương tự, để xác định liệu việc chủng ngừa *M. hyopneumoniae* có tác động đáng kể đến cân nặng cuối mà không phân biệt các yếu tố khác của việc điều trị đã nêu (Fig.5).

Các kết quả của nghiên cứu là phức tạp bởi thực tế là các động vật trong các nhóm điều trị A và B có cân nặng nhẹ hơn đáng kể so với các động vật trong các nhóm C và D ở thời điểm bắt đầu của nghiên cứu. Dựa trên cơ sở qPCR thu được từ huyết thanh được rút ra từ thời điểm bắt đầu nghiên cứu dường như là sự khác biệt này có thể có do có nhiều nhiễm khuẩn PRRSV nghiêm trọng trong các nhóm A và B. Bằng chứng này được khẳng định hơn nữa bằng các kết quả của thử nghiệm FFN theo sáng chế mà đã chứng minh được sự sai khác có ý nghĩa thống kê của nồng độ chuẩn kháng thể trung hòa đối với virus 1-7-4 RFLP cho các lợn trong nhóm A ở thời điểm kết thúc nghiên cứu. Có vẻ như các lợn này đã trải qua nhiều kích thích trầm trọng với virus này trước khi chủng ngừa. Vaccin đã được làm bất hoạt được phân phối vào ngày 0 có thể sử dụng như vaccin chủng ngừa nhắc lại sau kích thích này. Điều đó có thể dẫn đến việc nồng độ chuẩn kháng thể trung hòa gia tăng ở thời điểm kết thúc của nghiên cứu so với các nhóm khác không được tiếp nhận vaccin, hoặc không bị nhiễm khuẩn nặng ở thời điểm bắt đầu của nghiên cứu. Nghiên cứu khác được thực hiện để đánh giá mức độ ảnh hưởng của vaccin PRRSV tự sinh đã được làm bất hoạt khi được sử dụng đồng thời với PRRSV MLV. Các kết quả đã cho thấy mức thiệt hại do lợn chết được giảm 2-5% khi sử dụng PRRS đã bị chết với MLV (Bảng 4).

Bảng 4: Hiệu quả của vaccin PRRS đã được làm bất hoạt

Nhóm	Mức giảm thiệt hại do lợn chết
A: Đối chứng (1 liều vaccin Ingelvac PRRS® MLV)	-
B: 1 liều vaccin Ingelvac PRRS® MLV + 1 liều vaccin PRRSV tự sinh đã được làm bất hoạt	2,5%
C: 1 liều vaccin Ingelvac PRRS® MLV + 1 liều vaccin PRRSV tự sinh đã được làm bất hoạt + 1 liều vaccin MAINSAIL® <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	5,0%

Khi so sánh các điều trị dẫn đến việc làm tăng đáng kể cân nặng vào thời điểm cuối của nghiên cứu, việc chủng ngừa *M. hyopneumoniae* đã khẳng định rõ ràng khả năng tăng cân nặng của lợn được gia tăng. Các lợn tiếp nhận *M. hyopneumoniae* chủng ngừa ở thời điểm kết thúc nghiên cứu ngày có cân nặng tăng trung bình 11 pao so với các lợn không được tiếp nhận việc điều trị này và mức thiệt hại do chết được cải thiện 3,7% ở nhóm đã được chủng ngừa *M. hyopneumoniae*. Do đó, ưu điểm đáng kể về mặt kinh tế có thể được ghi nhận đối với việc chủng ngừa *M. hyopneumoniae*. Các kết quả này chứng minh cho thấy lợi ích tăng cân đáng kể đối với các lợn đã được tiếp nhận việc chủng ngừa *M. hyopneumoniae*.

Dữ liệu này đã chỉ ra lợi ích của việc chủng ngừa *M. hyopneumoniae* hiện đang được đánh giá thấp trong lĩnh vực này. Dữ liệu này cũng chỉ ra lợi ích của việc sử dụng vaccin PRRSV đã được làm bất hoạt với PRRSV MLV đã làm giảm tỷ lệ chết. Ngoài ra, các kết quả này cho thấy không có hiện tượng nhiễu khi vaccin M hyo được trộn với vaccin PCV2 và PRRSV.

Với các phương án được ưu tiên theo sáng chế đã được mô tả chi tiết, cần phải hiểu rằng sáng chế được xác định bởi các đoạn nêu trên không bị giới hạn ở các phần mô tả chi tiết cụ thể nêu trong phần mô tả nêu trên vì nhiều thay đổi hiển nhiên của chúng có thể được thực hiện mà không nằm ngoài phạm vi của sáng chế. Tất cả các tài liệu được trích dẫn hoặc được tham khảo trong bản mô tả này (“các tài liệu được trích dẫn trong bản mô tả này”), và tất cả các tài liệu được trích dẫn hoặc được tham khảo trong các tài liệu được trích dẫn trong bản mô tả này, cùng với các hướng dẫn của nhà sản xuất, phần mô tả, đặc điểm kỹ thuật của sản phẩm, và các tờ rơi sản phẩm cho các sản phẩm bất kỳ được đề cập trong bản mô tả này hoặc trong tài liệu bất kỳ được đưa vào bằng cách viện dẫn, nhờ đó được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn, và có thể được sử dụng trong thực tế sáng chế.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Vacxin chứa: i) kháng nguyên *Mycoplasma hyopneumoniae* (M hyo), ii) kháng nguyên hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp của lợn (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus - PRRSV) đã được làm bất hoạt, và iii) kháng nguyên PRRSV sống đã được cải biến.
2. Vacxin theo điểm 1, trong đó vacxin này chứa kháng nguyên circovirut typ 2 ở lợn (PCV2).
3. Vacxin theo điểm 2, trong đó kháng nguyên PCV2 là kháng nguyên PCV2 đã được làm bất hoạt.
4. Vacxin theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó kháng nguyên M hyo là kháng nguyên M hyo đã được làm bất hoạt.
5. Vacxin theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó kháng nguyên PRRSV đã được làm bất hoạt bao gồm PRRSV đã được làm bất hoạt chứa polynucleotit mã hóa protein ORF5 có độ tương đồng trình tự ít nhất là 91% với trình tự nêu trong SEQ ID NO.2, SEQ ID NO.3, SEQ ID NO.4, SEQ ID NO.5, SEQ ID NO.6, SEQ ID NO.7, SEQ ID NO.8, hoặc SEQ ID NO. 9.
6. Vacxin theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó vacxin này làm tăng khả năng tăng cân hoặc làm giảm mức thiệt hại do lợn chết.
7. Vacxin theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó vacxin này còn chứa một hoặc nhiều chất mang, chất bổ trợ, chất dẫn thuốc, hoặc tá dược được dụng hoặc dùng được trong thú y.
8. Kit chủng ngừa bao gồm một hoặc nhiều lọ vacxin chứa vacxin theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7.

qPCR được thực hiện trên huyết thanh được lấy vào ngày thứ nhất của nghiên cứu

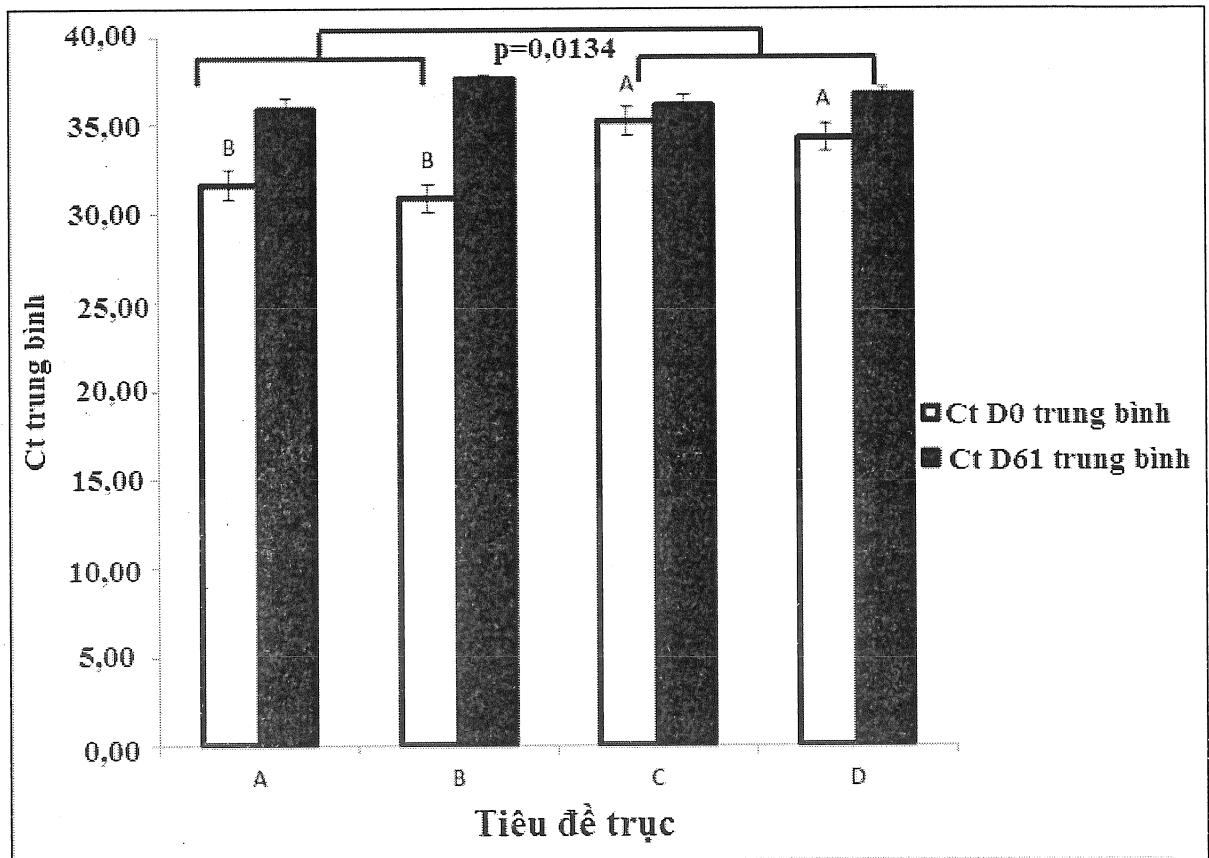
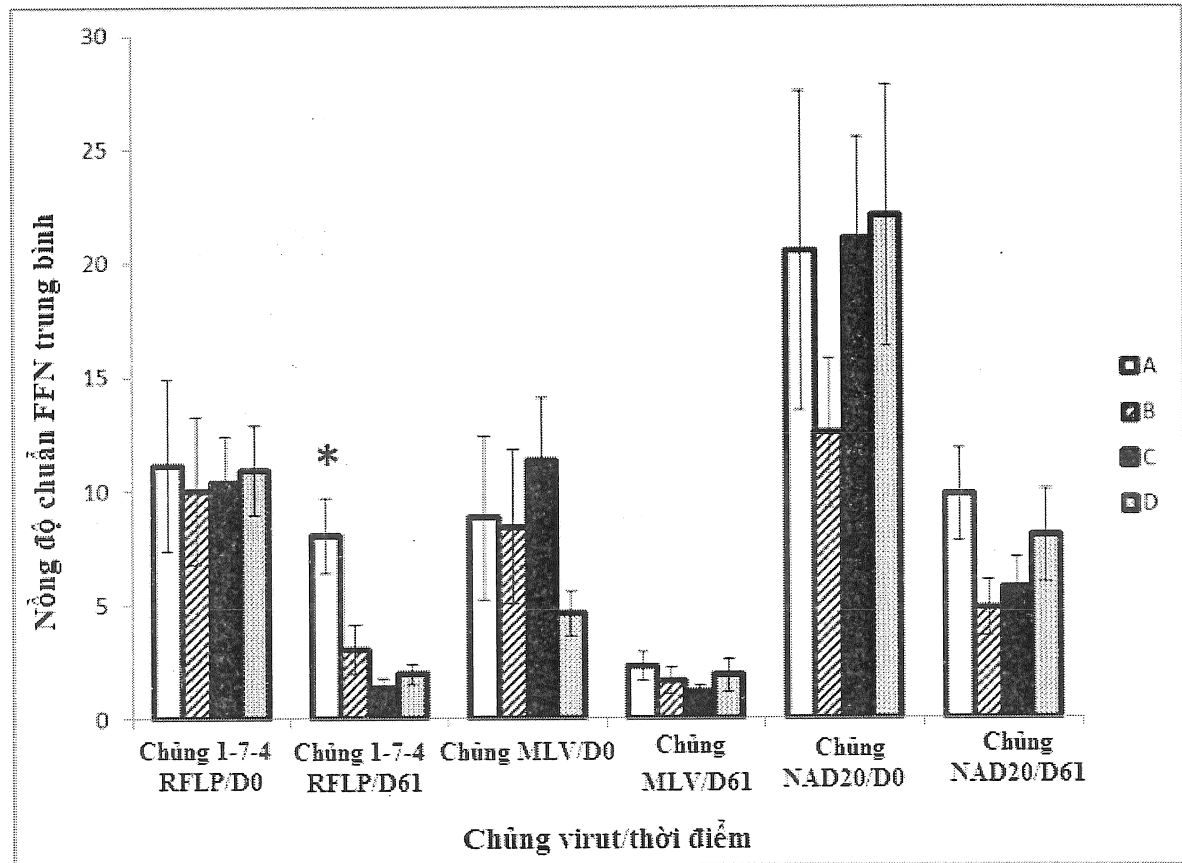


Fig.1

Nồng độ chuẩn FFN từ huyết thanh được lấy ở ngày 0 và ngày 21



(*) thể hiện nhóm có nồng độ chuẩn cao hơn đáng kể dựa trên kết quả của phép kiểm định Student ($\alpha=0,05$)

Fig.2

Tỷ lệ so sánh về mức tăng cân giữa tất cả các nhóm lợn

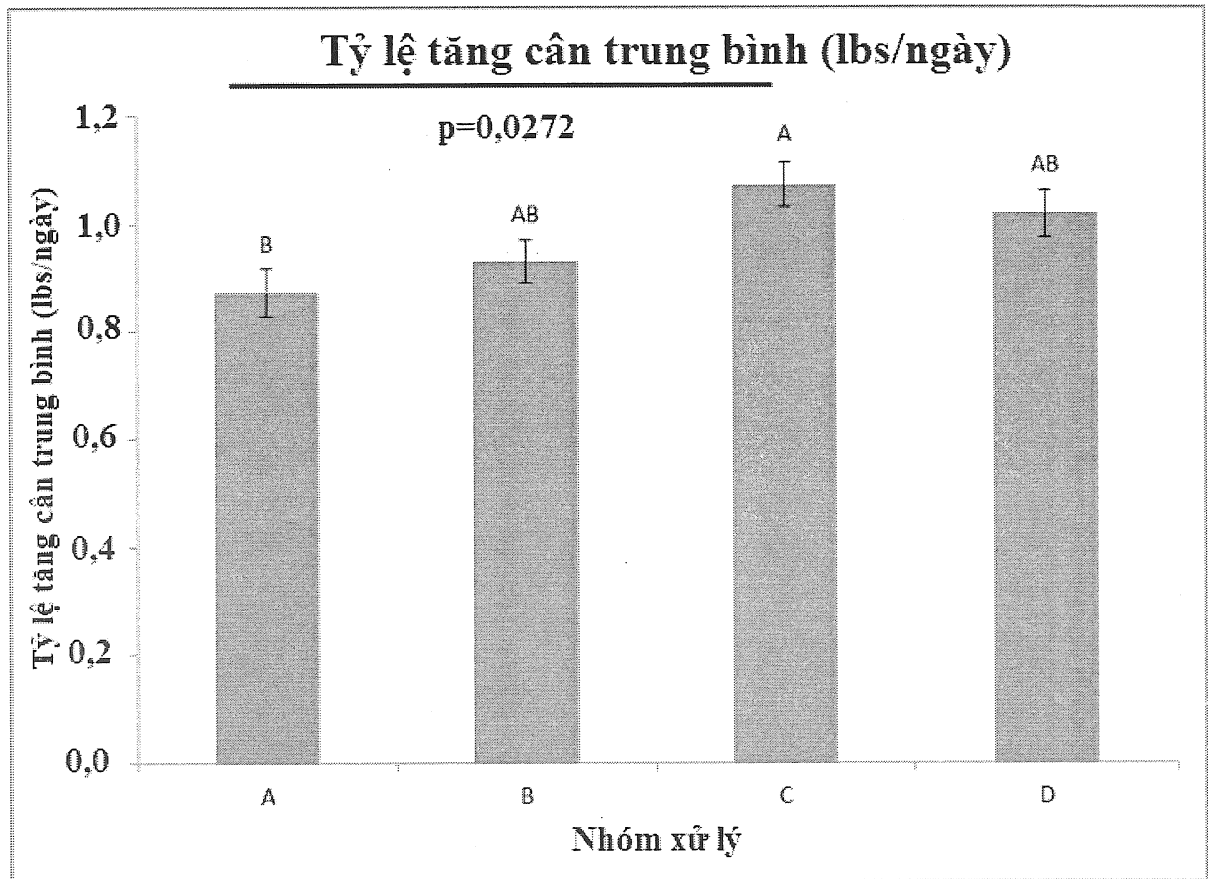
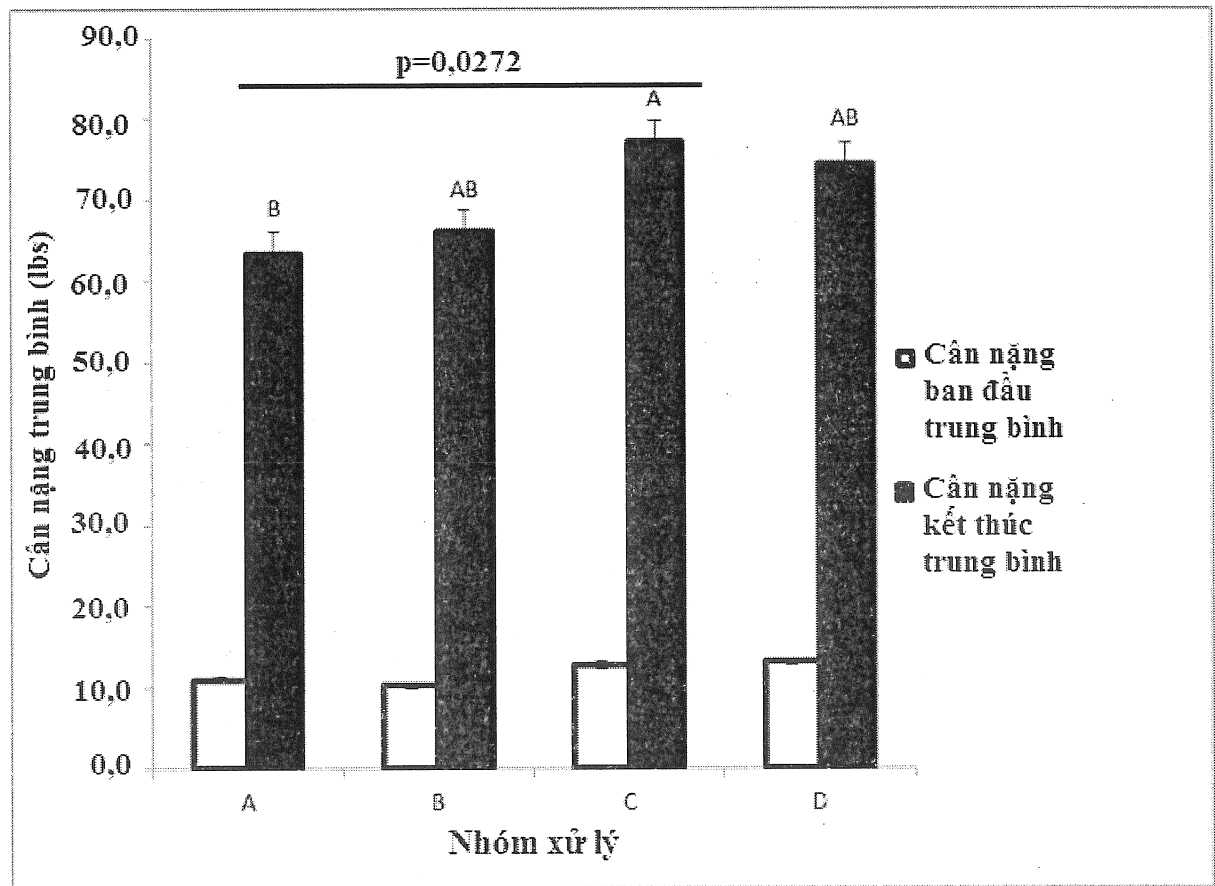


Fig.3

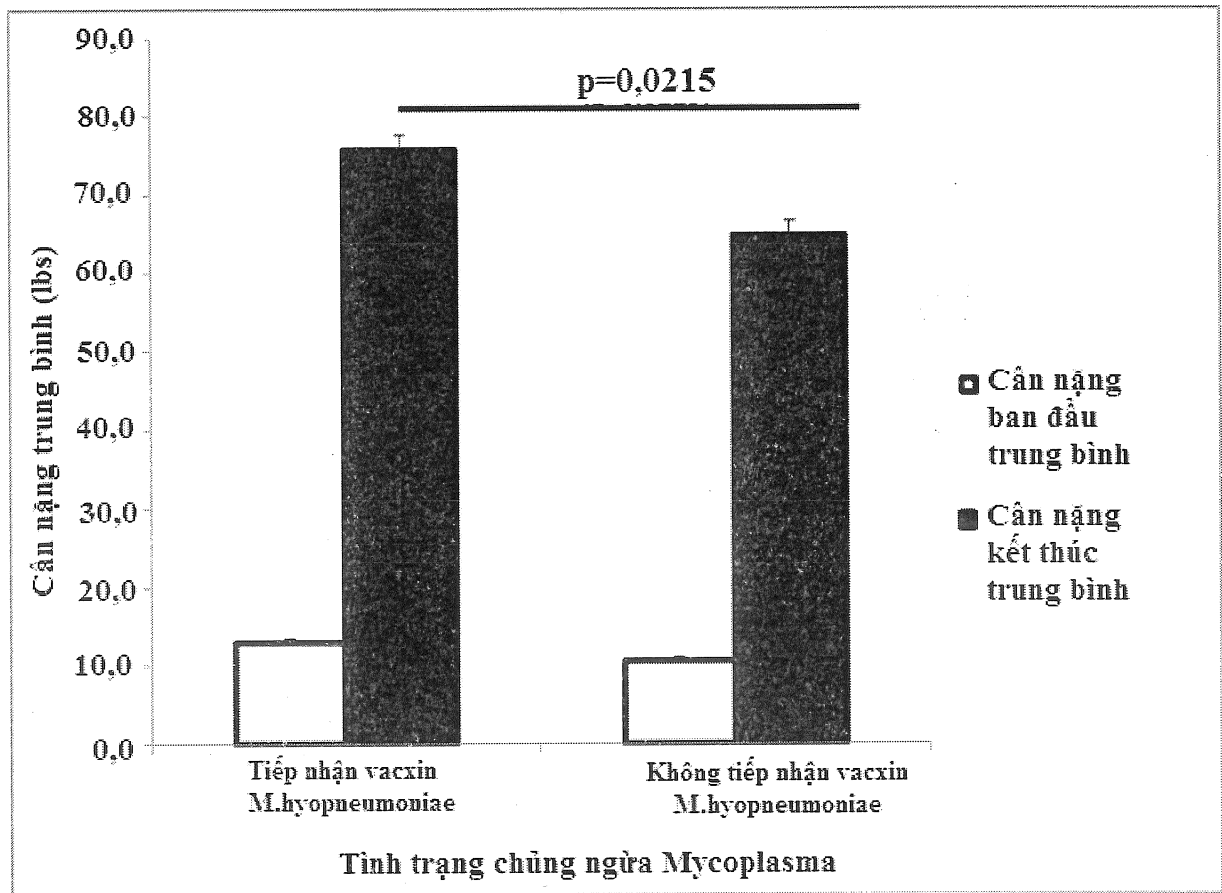
Cân nặng trung bình của các nhóm lợn ở ngày 0 và ngày 61 của nghiên cứu



Chữ cái nổi mô tả kết quả của phép kiểm định Student ($\alpha=0,05$)

Fig.4

So sánh cân nặng kết thúc dựa trên tình trạng chủng ngừa Mycoplasma



Trị số p thể hiện kết quả của phân tích ANOVA hai chiều

Fig.5

SEQ ID NO.	Dạng	Mô tả gen
1	ADN	Trình tự ADN cho ORF5 của chủng PRRSV, thẻ phân lập 14-02227-1
2	Protein	Trình tự protein cho ORF5 của chủng PRRSV, thẻ phân lập 14-02227-1
3	Protein	Trình tự protein cho ORF5 của chủng PRRSV, thẻ phân lập 14-02094-1
4	Protein	Trình tự protein cho ORF5 của chủng PRRSV, thẻ phân lập S11-1118-1
5	Protein	Trình tự protein cho ORF5 của chủng PRRSV, thẻ phân lập tham chiếu
6	Protein	Trình tự protein cho ORF5 của chủng PRRSV, PRRSV Ref. Pfizer Foster
7	Protein	Trình tự protein cho ORF5 của chủng PRRSV, RespRRS-BI Ingelvac MLV
8	Protein	Trình tự protein cho ORF5 của chủng PRRSV, PRRS-BI Ingelvac ATP
9	Protein	Trình tự protein cho ORF5 của chủng PRRSV, chủng *EURO PRRS chủng Lelystad

Fig.6

SEQ ID NO.1 (Trình tự ADN của ORF5 PRRSV 603bp)

ATGTTGGGGAAATGCTTGACCGCGGGCTGCTGCTCGCAATTGCCTTTTTTGTGGTGTATCGTGCCGTTCT
 GTTTTGTGCGCTCGTCAACGCCAACACAGCAGCAGCTCCCATTTACAGTTGATTTATAACCTGACGAT
 ATGTGAGCTGAATGGCACAGATTGGCTAAACAAAAGTTTTGATTGGGCGGTGGAGACCTTTGTTATTTTT
 CCTGTGTTGACTCATATTGTCTCCTATGGCGGCCCTCACCACCAGCCATTTCTTACACAGTCGGCCTGA
 TCACCGTGTCTGCCGCCGATATTACACGGGCGGTATGTCTTGAGTAGCATTATGCCGCTCTGCCGCCOT
 GGCTGCGTTAACTTGCTTCGTATCATCAGGCTAACAAAAAATTGTATGTCTGGCGTTACTCATGCACCAGA
 TATACTAATTTTCTTCTGGACACCAAGGGCAAACCTCTATCGTTGGCGGTCTCCTGTCTATCATAGAGAAAG
 GGGGTAAAATTGAGGTCGAAGGTCACCTGATCGACCTCAAGAGAGTTGTGCTTGACGGTTCCGCGGCAAC
 CCTGTAAACAAAGTTTCAGCGGAACAATGGGGCCGTCCT

SEQ ID NO.2 (ORF5 PRRSV 200aa, thể phân lập 14-02227-1)

MLGKCLTAGCCSQLPFLWCIVPFCFVALVNANSSSSSHLQLIYNLTICELNGTDWLNKSFWDWAVETFVIFP
 PVLTHIVSYGALTTSHFLLDTVGLITVSAAGYYHGRYVLSSIIYAVCALAALTCFVIRLTKNCMSWRYSCTRYT
 YTNFLDITGKLYRWRSFVIEKGGKIEVEGHLIDLKRVVLDGSAATPVTKVSAEQWGRP

SEQ ID NO.3 thể phân lập 14-02094-1

MLGKCLTAGCCSQLPFLWCIVPFCFVALVNANSSSSSHLQLIYNLTICELNGTDWLNKSFWDWAVETFVIFP
 VLTHIVSYGALTTSHFLLDTVGLITVSAAGYYHGRYVLSSIIYAVCALAALTCFVIRLTKNCMSWRYSCTRYT
 NFLDITGKLYRWRSFVIEKGGKIEVEGHLIDLKRVVLDGSAATPVTKVSAEQWGRP

SEQ ID NO.4 thể phân lập S11-1118-1

MLGKCLTAGYCSQLPFLWCIVPFCFAALVNANSSSSSHLQLIYNLTICELNGTDWLNKFDWAVETFVIFP
 VLTHIVSYGALTTSHFLLDTVGLITVSTAGFYHGRYVLSSIIYAVCALAALICFAIRLAKNCMSWRYSCTRYT
 NFLDITGKLYRWRSFVIEKGGKVDVGHLIDLKRVVLDGSAATPVTKISAEQWGRP

SEQ ID NO.5 thể phân lập tham chiếu

MLGKCLTAGCCSQLPFLWCIVPFCFAALVNANSSSSSHLQLIYNLTICELNGTDWLNKFDWAVETFVIFP
 VLTHIVSYGALTTSHFLLDTVGLITVSTAGFYHGRYVLSSIIYAVCALAALTCFVIRLAKNCMSWRYSCTRYT
 NFLDITGKLYRWRSFVIEKGGKVEVEGHLIDLKRVVLDGSAATPVTRVSAEQWGRP

SEQ ID NO.6 PRRSV ref, thể phân lập Foster

MLGKCLTAGCCSRLLSLWCIVPFWFAVLGNANSSSSSHFQLIYNLTICELNGTDWLAEKFDWAVETFVIFP
 VLTHIVSYGALTTSHFLLDTVGLITVSTAGFYHGRYVLSSIIYAVCALAALICFVIRLAKNCMSWRYSCTRYT
 NFLDITGKLYRWRSFVIEKRGKVEVEGHLIDLKRVVLDGSAATPVTRVSAEQWGRP

SEQ ID NO.7 RespPRRS-BI Ingelvac MLV

MLEKCLTAGCCSQLLSLWCIVPFCFAVLANASNDSSSHLQLIYNLTICELNGTDWLANKFDWAVESFVIFP
 VLTHIVSYGALTTSHFLLDTVALVTVSTAGFYHGRYVLSSIIYAVCALAALTCFVIRFAKNCMSWRYSCTRYT
 NFLDITGKLYRWRSFVIEKRGKVEVEGHLIDLKRVVLDGSAATPVTRVSAEQWGRP

SEQ ID NO.8 PRRS-BI Ingelvac ATP

MLGRGVTGGCGSRTL SVWCIVPFCFAALVNANSSSSSHLQLIYNLTICELNGTDWLKNKFDWALETFVIFP
 VLTHIVSYGALTTSHFLLDTVGLITVSTAGFYHGRYVLSSIIYAVCALAALTCFVIRLAKNCMSWRYSCTRYT
 NFLDITGKLYRWRSFVIEKGGKVEVEGHLIDLKRVVLDGSAATPVTRVSAEQWGRP

Fig.7A

SEQ ID NO.9 Chung *EURO PRRS chủng Lelystad

MRC SHKLGRFLTPHSCFWWLFLLCTGLSWSFADGNGDSSTYQYIYNLTICELNGTDWLSSHFGWAVETFVL
 YPVATHILSLGFLTTSHFFDALGLGAVSTAGFVGGRYVLC SVYGACAFAAFCFVIRAAKNCMACRYARTR
 FTNFIVDDRGRVHRWKSPIVVEKLGKAEVDGNLVTIKHVVLG VKAQPLTRTSAEQWE

		1		50
SEQ ID NO.2	(1)	-----MLGKCLTAGCCSQLPFLWCIVPFCFVALVNANSSSSSHLQLIYNL		
SEQ ID NO.3	(1)	-----MLGKCLTAGCCSQLPFLWCIVPFCFVALVNANSSSSSHLQLIYNL		
SEQ ID NO.4	(1)	-----MLGKCLTAGYCSQLPFLWCIVPFCFAALVNANSSSSSHLQLIYNL		
SEQ ID NO.5	(1)	-----MLGKCLTAGCCSQLPFLWCIVPFCFAALVNANSSSSSHLQLIYNL		
SEQ ID NO.8	(1)	-----MLGRGVTTGGCGSRTL SVWCIVPFCFAALVNANSSSSSHLQLIYNL		
SEQ ID NO.6	(1)	-----MLGKCLTAGCCSRLLSLWCIVPFWFAVLGNANSSSSSHFQLIYNL		
SEQ ID NO.7	(1)	-----MLEKCLTAGCCSQLLSLWCIVPFCFAVLANANSSSSSHLQLIYNL		
SEQ ID NO.9	(1)	MRC SHKLGRFLTPHSCFWWLFLLCTGLSWSFADGNG----DSSTYQYIYNL		

		51		100
SEQ ID NO.2	(46)	TI CELNGTDWL NKSF DWAVET FVIFPV LTHIVSYGALTTS SHFLD TVGLIT		
SEQ ID NO.3	(46)	TI CELNGTDWL NKSF DWAVET FVIFPV LTHIVSYGALTTS SHFLD TVGLIT		
SEQ ID NO.4	(46)	TI CELNGTDWL NKSF DWAVET FVIFPV LTHIVSYGALTTS SHFLD TVGLIT		
SEQ ID NO.5	(46)	TI CELNGTDWL NKSF DWAVET FVIFPV LTHIVSYGALTTS SHFLD TVGLIT		
SEQ ID NO.8	(46)	TI CELNGTDWL NKSF DWAVET FVIFPV LTHIVSYGALTTS SHFLD TVGLIT		
SEQ ID NO.6	(46)	TI CELNGTDWL NKSF DWAVET FVIFPV LTHIVSYGALTTS SHFLD TVGLIT		
SEQ ID NO.7	(46)	TI CELNGTDWL NKSF DWAVET FVIFPV LTHIVSYGALTTS SHFLD TVGLIT		
SEQ ID NO.9	(48)	TI CELNGTDWLSSHFGWAVETFVL YPVATHILSLGFLTTSHFFDALGLGA		

		101		150
SEQ ID NO.2	(96)	VSAAGYYHGRYVLSSIIYAVCALAALTCFVIRLTKNCMSWRYSC TRYTNFL		
SEQ ID NO.3	(96)	VSAAGYYHGRYVLSSIIYAVCALAALTCFVIRLTKNCMSWRYSC TRYTNFL		
SEQ ID NO.4	(96)	VSTAGYCHGRYVLSSIIYAVCALAALICFAIRLAKNCMSWRYSC TRYTNFL		
SEQ ID NO.5	(96)	VSTAGFYHGRYVLSSIIYAVCALAALTCFVIRLAKNCMSWRYSC TRYTNFL		
SEQ ID NO.8	(96)	VSTAGFYHGRYVLSSIIYAVCALAALTCFVIRLAKNCMSWRYSC TRYTNFL		
SEQ ID NO.6	(96)	VSTAGFYHGRYVLSSIIYAVCALAALICFVIRLAKNCMSWRYSC TRYTNFL		
SEQ ID NO.7	(96)	VSTAGFYHGRYVLSSIIYAVCALAALTCFVIRLAKNCMSWRYSC TRYTNFL		
SEQ ID NO.9	(98)	VSTAGFVGGRYVLC SVYGACAFAAFCFVIRAAKNCMACRYARTRFTNFI		

		151		200
SEQ ID NO.2	(146)	LDTKGKLYRWRSPVIEKGGKIEVEGHLIDLKRVVLDGSAATPVTKVSAE		
SEQ ID NO.3	(146)	LDTKGKLYRWRSPVIEKGGKIEVEGHLIDLKRVVLDGSAATPVTKVSAE		
SEQ ID NO.4	(146)	LDTKGKLYRWRSPVIEKGGKVDVGGHLIDLKRVVLDGSAATPVTKISAE		
SEQ ID NO.5	(146)	LDTKGRLYRWRSPVIEKGGKVEVEGHLIDLKRVVLDGSAATPVTRVSAE		
SEQ ID NO.8	(146)	LDTKGRLYRWRSPVIEKGGKVEVEGHLIDLKRVVLDGSAATPVTRVSAE		
SEQ ID NO.6	(146)	LDTKGRLYRWRSPVIEKRGKVEVEGHLIDLKRVVLDGSAATPVTRVSAE		
SEQ ID NO.7	(146)	LDTKGGLYRWRSPVIEKRGKVEVEGHLIDLKRVVLDGSAATPVTRVSAE		
SEQ ID NO.9	(148)	VDDRGRVHRWKSPIVVEKLGKAEVDGNLVTIKHVVLG VKAQPLTRTSAE		

Fig.7B

201
 SEQ ID NO.2 (196) QWGRP
 SEQ ID NO.3 (196) QWGRP
 SEQ ID NO.4 (196) QWGRP
 SEQ ID NO.5 (196) QWGRP
 SEQ ID NO.8 (196) QWGRP
 SEQ ID NO.6 (196) QWGRL
 SEQ ID NO.7 (196) QWGRP
 SEQ ID NO.9 (198) QWE--

Tỷ lệ phần trăm độ tương đồng trình tự

SEQ ID NO.	2	3	4	5	6	7	8	9
2	100%	100%	92,0%	94,0%	87,0%	86,5%	86,0%	53,7%
3		100%	92,0%	94,0%	87,0%	86,5%	86,0%	53,7%
4			100%	93,0%	86,5%	85,5%	86,0%	53,2%
5				100%	92,5%	91,0%	92,0%	55,1%
6					100%	90,5%	90,5%	56,1%
7						100%	87,5%	54,1%
8							100%	53,0%
9								100%

Cây phát sinh loài

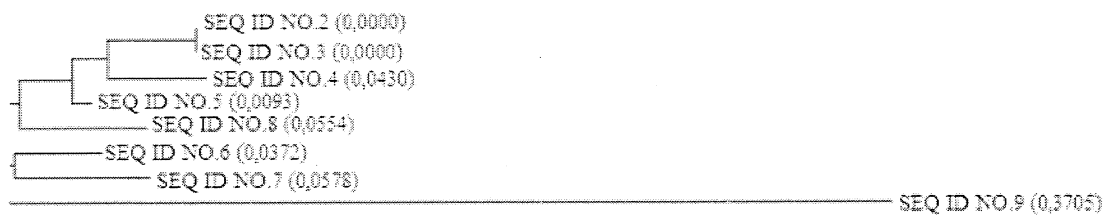


Fig.7C

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Merial, Inc.
 <120> VACCIN CHỨA KHÁNG NGUYÊN MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE VÀ KIT CHỨA VACCIN NÀY
 <130> MER 15-288
 <150> 62/272,017
 <151> 2015-12-28
 <160> 9
 <170> Phiên bản PatentIn 3.5
 <210> 1
 <211> 600
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự ADN của ORF5 PRRSV
 <400> 1
 atgttgggga aatgcttgac cgcgggctgc tgctcgcaat tgcctttttt gtggtgtatc 60
 gtgccgttct gttttgttgc gctcgtcaac gccacaaca gcagcagctc ccatttacag 120
 ttgatttata acctgacgat atgtgagctg aatggcacag attggctaaa caaaagtgtt 180
 gattgggcgg tggagacctt tgttattttt cctgtgttga ctcattattgt ctcctatggc 240
 gccctcacca ccagccattt ccttgacaca gtcggcctga tcaccgtgtc tgccgccgga 300
 tattaccacg gccggtagtg cttgagtagc atttatgccg tctgcgcctt ggctgcgtta 360
 acttgcttcg tcatcaggct aacaaaaaat tgtatgtcct ggcgttactc atgcaccaga 420
 tatactaatt ttcttctgga caccaagggc aaactctatc gttggcggtc tcctgtcatc 480
 atagagaaag ggggtaaaaat tgaggtcgaa ggtcacctga tcgacctcaa gagagtgtg 540
 cttgacggtt ccgcggcaac ccctgtaacc aaagtttcag cggaacaatg gggccgtcct 600
 <210> 2
 <211> 200
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Thẻ phân lập ORF5 PRRSV 14-02227-1
 <400> 2
 Met Leu Gly Lys Cys Leu Thr Ala Gly Cys Cys Ser Gln Leu Pro Phe
 1 5 10 15
 Leu Trp Cys Ile Val Pro Phe Cys Phe Val Ala Leu Val Asn Ala Asn
 20 25 30
 Asn Ser Ser Ser Ser His Leu Gln Leu Ile Tyr Asn Leu Thr Ile Cys
 35 40 45
 Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Asn Lys Ser Phe Asp Trp Ala Val
 50 55 60
 Glu Thr Phe Val Ile Phe Pro Val Leu Thr His Ile Val Ser Tyr Gly
 65 70 75 80
 Ala Leu Thr Thr Ser His Phe Leu Asp Thr Val Gly Leu Ile Thr Val
 85 90 95
 Ser Ala Ala Gly Tyr Tyr His Gly Arg Tyr Val Leu Ser Ser Ile Tyr
 100 105 110
 Ala Val Cys Ala Leu Ala Ala Leu Thr Cys Phe Val Ile Arg Leu Thr
 115 120 125
 Lys Asn Cys Met Ser Trp Arg Tyr Ser Cys Thr Arg Tyr Thr Asn Phe
 130 135 140
 Leu Leu Asp Thr Lys Gly Lys Leu Tyr Arg Trp Arg Ser Pro Val Ile
 145 150 155 160
 Ile Glu Lys Gly Gly Lys Ile Glu Val Glu Gly His Leu Ile Asp Leu
 165 170 175
 Lys Arg Val Val Leu Asp Gly Ser Ala Ala Thr Pro Val Thr Lys Val
 180 185 190
 Ser Ala Glu Gln Trp Gly Arg Pro
 195 200
 <210> 3
 <211> 200
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Thẻ phân lập ORF5 PRRSV 14-02094-1
 <400> 3
 Met Leu Gly Lys Cys Leu Thr Ala Gly Cys Cys Ser Gln Leu Pro Phe
 1 5 10 15
 Leu Trp Cys Ile Val Pro Phe Cys Phe Val Ala Leu Val Asn Ala Asn
 20 25 30
 Asn Ser Ser Ser Ser His Leu Gln Leu Ile Tyr Asn Leu Thr Ile Cys
 35 40 45
 Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Asn Lys Ser Phe Asp Trp Ala Val
 50 55 60
 Glu Thr Phe Val Ile Phe Pro Val Leu Thr His Ile Val Ser Tyr Gly
 65 70 75 80
 Ala Leu Thr Thr Ser His Phe Leu Asp Thr Val Gly Leu Ile Thr Val
 85 90 95

Ser Ala Ala Gly Tyr Tyr His Gly Arg Tyr Val Leu Ser Ser Ile Tyr
 100 105 110
 Ala Val Cys Ala Leu Ala Ala Leu Thr Cys Phe Val Ile Arg Leu Thr
 115 120 125
 Lys Asn Cys Met Ser Trp Arg Tyr Ser Cys Thr Arg Tyr Thr Asn Phe
 130 135 140
 Leu Leu Asp Thr Lys Gly Lys Leu Tyr Arg Trp Arg Ser Pro Val Ile
 145 150 155 160
 Ile Glu Lys Gly Gly Lys Ile Glu Val Glu Gly His Leu Ile Asp Leu
 165 170 175
 Lys Arg Val Val Leu Asp Gly Ser Ala Ala Thr Pro Val Thr Lys Val
 180 185 190
 Ser Ala Glu Gln Trp Gly Arg Pro
 195 200

<210> 4

<211> 200

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Thẻ phân lập ORF5 PRRSV S11-1118-1

<400> 4

Met Leu Gly Lys Cys Leu Thr Ala Gly Tyr Cys Ser Gln Leu Pro Phe
 1 5 10 15
 Leu Trp Cys Ile Val Pro Phe Cys Phe Ala Ala Leu Val Asn Ala Asn
 20 25 30
 Ser Asn Ser Ser Ser His Leu Gln Leu Ile Tyr Asn Leu Thr Ile Cys
 35 40 45
 Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Asn Asn Lys Phe Asp Trp Ala Val
 50 55 60
 Glu Thr Phe Val Ile Phe Pro Val Leu Thr His Ile Val Ser Tyr Gly
 65 70 75 80
 Ala Leu Thr Thr Ser His Leu Leu Asp Thr Val Gly Leu Ile Thr Val
 85 90 95
 Ser Thr Ala Gly Tyr Cys His Gly Arg Tyr Val Leu Ser Ser Ile Tyr
 100 105 110
 Ala Val Cys Ala Leu Ala Ala Leu Ile Cys Phe Ala Ile Arg Leu Ala
 115 120 125
 Lys Asn Cys Met Ser Trp Arg Tyr Ser Cys Thr Arg Tyr Thr Asn Phe
 130 135 140
 Leu Leu Asp Thr Lys Gly Lys Leu Tyr Arg Trp Arg Ser Pro Val Ile
 145 150 155 160
 Ile Glu Lys Gly Gly Lys Val Asp Val Gly Gly His Leu Ile Asp Leu
 165 170 175
 Lys Arg Val Val Leu Asp Gly Ser Ala Ala Thr Pro Val Thr Lys Ile
 180 185 190
 Ser Ala Glu Gln Trp Gly Arg Pro
 195 200

<210> 5

<211> 200

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Thẻ phân lập tham chiếu ORF5 PRRSV

<400> 5

Met Leu Gly Lys Cys Leu Thr Ala Gly Cys Cys Ser Gln Leu Pro Ser
 1 5 10 15
 Leu Trp Cys Ile Val Pro Phe Cys Phe Ala Ala Leu Val Asn Ala Asn
 20 25 30
 Ser Ser Ser Ser Ser His Leu Gln Leu Ile Tyr Asn Leu Thr Leu Cys
 35 40 45
 Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Asn Asn Lys Phe Asp Trp Ala Val
 50 55 60
 Glu Thr Phe Val Ile Phe Pro Val Leu Thr His Ile Val Ser Tyr Gly
 65 70 75 80
 Ala Leu Thr Thr Ser His Phe Leu Asp Thr Val Gly Leu Ile Thr Val
 85 90 95
 Ser Thr Ala Gly Phe Tyr His Gly Arg Tyr Val Leu Ser Ser Ile Tyr
 100 105 110
 Ala Val Cys Ala Leu Ala Ala Leu Thr Cys Phe Val Ile Arg Leu Ala
 115 120 125
 Lys Asn Cys Met Ser Trp Arg Tyr Ser Cys Thr Arg Tyr Thr Asn Phe
 130 135 140
 Leu Leu Asp Thr Lys Gly Arg Leu Tyr Arg Trp Arg Ser Pro Val Ile
 145 150 155 160
 Ile Glu Lys Gly Gly Lys Val Glu Val Glu Gly His Leu Ile Asp Leu
 165 170 175
 Lys Arg Val Val Leu Asp Gly Ser Ala Ala Thr Pro Val Thr Arg Val
 180 185 190
 Ser Ala Glu Gln Trp Gly Arg Pro

```

195                200
<210> 6
<211> 200
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Thử phân lập tham chiếu ORF5 PRRSV FosterA
<400> 6
Met Leu Gly Lys Cys Leu Thr Ala Gly Cys Cys Ser Arg Leu Leu Ser
1      5      10      15
Leu Trp Cys Ile Val Pro Phe Trp Phe Ala Val Leu Gly Asn Ala Asn
20     25     30
Ser Ser Ser Ser Ser His Phe Gln Leu Ile Tyr Asn Leu Thr Leu Cys
35     40     45
Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ala Glu Lys Phe Asp Trp Ala Val
50     55     60
Glu Thr Phe Val Ile Phe Pro Val Leu Thr His Ile Val Ser Tyr Cys
65     70     75     80
Ala Leu Thr Thr Ser His Phe Leu Asp Thr Val Gly Leu Val Thr Val
85     90     95
Ser Thr Ala Gly Phe Tyr His Gly Arg Tyr Val Leu Ser Ser Ile Tyr
100    105    110
Ala Val Cys Ala Leu Ala Ala Leu Ile Cys Phe Val Ile Arg Leu Ala
115    120    125
Lys Asn Cys Met Ser Trp Arg Tyr Ser Cys Thr Arg Tyr Thr Asn Phe
130    135    140
Leu Leu Asp Thr Lys Gly Arg Leu Tyr Arg Trp Arg Ser Pro Val Ile
145    150    155    160
Ile Glu Lys Arg Gly Lys Val Glu Val Glu Gly His Leu Ile Asp Leu
165    170    175
Lys Arg Val Val Leu Asp Gly Ser Val Ala Thr Pro Leu Thr Arg Val
180    185    190
Ser Ala Glu Gln Trp Gly Arg Leu
195    200
<210> 7
<211> 200
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> ORF5 RespRRS-BI Ingelvac MLV
<400> 7
Met Leu Glu Lys Cys Leu Thr Ala Gly Cys Cys Ser Gln Leu Leu Ser
1      5      10      15
Leu Trp Cys Ile Val Pro Phe Cys Phe Ala Val Leu Ala Asn Ala Ser
20     25     30
Asn Asp Ser Ser Ser His Leu Gln Leu Ile Tyr Asn Leu Thr Leu Cys
35     40     45
Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ala Asn Lys Phe Asp Trp Ala Val
50     55     60
Glu Ser Phe Val Ile Phe Pro Val Leu Thr His Ile Val Ser Tyr Gly
65     70     75     80
Ala Leu Thr Thr Ser His Phe Leu Asp Thr Val Ala Leu Val Thr Val
85     90     95
Ser Thr Ala Gly Phe Val His Gly Arg Tyr Val Leu Ser Ser Ile Tyr
100    105    110
Ala Val Cys Ala Leu Ala Ala Leu Thr Cys Phe Val Ile Arg Phe Ala
115    120    125
Lys Asn Cys Met Ser Trp Arg Tyr Ala Cys Thr Arg Tyr Thr Asn Phe
130    135    140
Leu Leu Asp Thr Lys Gly Gly Leu Tyr Arg Trp Arg Ser Pro Val Ile
145    150    155    160
Ile Glu Lys Arg Gly Lys Val Glu Val Glu Gly His Leu Ile Asp Leu
165    170    175
Lys Arg Val Val Leu Asp Gly Ser Val Ala Thr Pro Ile Thr Arg Val
180    185    190
Ser Ala Glu Gln Trp Gly Arg Pro
195    200
<210> 8
<211> 200
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> ORF5 PRRS-BI Ingelvac ATP
<400> 8
Met Leu Gly Arg Gly Val Thr Gly Gly Cys Gly Ser Arg Thr Leu Ser
1      5      10      15
Val Trp Cys Ile Val Pro Phe Cys Phe Ala Ala Leu Val Asn Ala Asn
20     25     30
Ser Asn Ser Ser Ser His Leu Gln Leu Ile Tyr Asn Leu Thr Leu Cys

```

```

      35      40      45
Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Lys Asn Lys Phe Asp Trp Ala Leu
 50      55      60
Glu Thr Phe Val Ile Phe Pro Val Leu Thr His Ile Val Ser Tyr Ser
65      70      75      80
Ala Leu Thr Thr Ser His Phe Leu Asp Thr Val Gly Leu Val Thr Val
      85      90      95
Ser Thr Ala Gly Phe Tyr His Gly Arg Tyr Val Leu Ser Ser Ile Tyr
      100      105      110
Ala Val Cys Ala Leu Ala Ala Leu Thr Cys Phe Val Ile Arg Leu Ala
      115      120      125
Lys Asn Cys Met Ser Trp Arg Tyr Ser Cys Thr Arg Tyr Thr Asn Phe
      130      135      140
Leu Leu Asp Thr Lys Gly Arg Leu Tyr Arg Trp Arg Ser Pro Val Ile
      145      150      155      160
Ile Glu Lys Gly Gly Lys Val Glu Val Glu Gly His Leu Ile Asp Leu
      165      170      175
Lys Arg Val Val Leu Asp Gly Ser Val Ala Thr Pro Leu Thr Arg Val
      180      185      190
Ser Ala Glu Gln Trp Gly Arg Pro
      195      200
<210> 9
<211> 200
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Chủng ORF5 EURO PRRS Lelystad
<400> 9
Met Arg Cys Ser His Lys Leu Gly Arg Phe Leu Thr Pro His Ser Cys
1      5      10      15
Phe Trp Trp Leu Phe Leu Leu Cys Thr Gly Leu Ser Trp Ser Phe Ala
      20      25      30
Asp Gly Asn Gly Asp Ser Ser Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr
      35      40      45
Ile Cys Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ser Ser His Phe Gly Trp
      50      55      60
Ala Val Glu Thr Phe Val Leu Tyr Pro Val Ala Thr His Ile Leu Ser
65      70      75      80
Leu Gly Phe Leu Thr Thr Ser His Phe Phe Asp Ala Leu Gly Leu Gly
      85      90      95
Ala Val Ser Thr Ala Gly Phe Val Gly Gly Arg Tyr Val Leu Cys Ser
      100      105      110
Val Tyr Gly Ala Cys Ala Phe Ala Ala Phe Val Cys Phe Val Ile Arg
      115      120      125
Ala Ala Lys Asn Cys Met Ala Cys Arg Tyr Ala Arg Thr Arg Phe Thr
      130      135      140
Asn Phe Ile Val Asp Asp Arg Gly Arg Val His Arg Trp Lys Ser Pro
      145      150      155      160
Ile Val Val Glu Lys Leu Gly Lys Ala Glu Val Asp Gly Asn Leu Val
      165      170      175
Thr Ile Lys His Val Val Leu Glu Gly Val Lys Ala Gln Pro Leu Thr
      180      185      190
Arg Thr Ser Ala Glu Gln Trp Glu
      195      200

```