



(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)



1-0039527

(51)⁷ A61K 39/23; A61K 39/12; C12N 7/00; (13) B
A61P 31/20; C07K 14/005; A61K 39/00

(21) 1-2019-02541

(22) 02/11/2017

(86) PCT/EP2017/078015 02/11/2017

(87) WO2018/083154 11/05/2018

(30) 16197091.8 03/11/2016 EP

(45) 25/04/2024 433

(43) 26/08/2019 377A

(73) BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA GMBH (DE)

Binger Strasse 173, 55216 INGELHEIM AM RHEIN, Germany

(72) VAUGHN, Eric, Martin (US); BUCKLIN, Scott, Eugene (US); KAISER, Troy, James (US); KROLL, Jeremy (US); UTLEY, Philip (US).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) PROTEIN VIRUT 2 (VP2) CỦA PARVOVIRUT LỢN (PPV), CHẾ PHẨM SINH MIỄN DỊCH CHỨA VP2 PPV VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT VP2 PPV

(57) Sáng chế đề cập đến, trong số các đối tượng khác, protein virus 2 (VP2) của parvovirus lợn (PPV) có gốc axit glutamic hoặc gốc glutamat ở vị trí axit amin 228, và/hoặc gốc serin ở vị trí axit amin 414, và/hoặc gốc glutamin ở vị trí axit amin 419, và/hoặc gốc threonin ở vị trí axit amin 436. Hơn nữa, sáng chế còn đề cập đến chế phẩm sinh miễn dịch chứa protein virus 2 (VP2) của PPV và phương pháp sản xuất protein virus 2 (VP2) của PPV.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến protein virus 2 (VP2) của parvovirus lợn (PPV) có gốc axit glutamic hoặc gốc glutamat ở vị trí axit amin 228, và/hoặc gốc serin ở vị trí axit amin 414, và/hoặc gốc glutamin ở vị trí axit amin 419, và/hoặc gốc threonin ở vị trí axit amin 436. Hơn nữa, sáng chế còn đề cập đến các chế phẩm sinh miễn dịch chứa protein virus 2 (VP2) của PPV và phương pháp sản xuất protein virus 2 (VP2) của PPV.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Parvovirus lợn là virus tự sao chép thuộc phân họ *Parvovirinae* của chi *Protoparvovirus* trong họ *Parvoviridae* chứa phân tử ADN sợi đơn khoảng 5100 nucleotit (Cotmore et al., 2014: Arch Virol.: 159(5): 1239–1247; Molitor et al., 1984: Virology: 137(2):241-54.). Chỉ có sợi âm của ADN được đóng gói vào các virion. Hệ gen của virus mã hóa ba protein capsit (VP1, VP2, VP3) và một protein phi cấu trúc (non-structural protein - NS1). Capsit của parvovirus có đường kính khoảng 22 đến 25 nano mét và gồm các phần tử dưới đơn vị VP1 và VP2. Các protein này thu được từ các phiên bản được ghép nối theo cách khác của cùng một phân tử ARN và do đó có sự chồng chập về trình tự. Hơn nữa, parvovirus lợn thể hiện mức độ tương đồng về trình tự cao so với virus panleukopenia mèo, parvovirus chó và parvovirus loài gặm nhấm (Ranz et al., 1989: J. gen. Virol: 70:2541-2553).

Mặc dù có sự khác nhau giữa các dòng parvovirus lợn, một số chủng có khả năng gây bệnh rất cao và một số chủng khác lại có khả năng gây bệnh ít hơn hoặc hoàn toàn không gây bệnh, nhưng khi virus được thiết lập hoặc là đặc hữu ở một nước, các dòng gây bệnh thể hiện là lưu hành trong cộng đồng.

Bệnh nhiễm parvovirus lợn (PPV) là nguyên nhân thông thường gây ra chứng suy giảm khả năng sinh sản ở lợn sinh sản trên toàn thế giới. Các nghiên cứu huyết thanh thể hiện rằng parvovirus lợn là phổ biến ở tất cả các vùng nuôi lợn trên thế giới với lên tới 80% số con vật thể hiện sự chuyển dạng huyết thanh.

Parvovirut lợn (PPV) gây ra suy giảm khả năng sinh sản ở lợn, dẫn đến sự tử vong và hoại tử khô đối với bào thai, chết non và các suy giảm khả năng sinh sản khác ở lợn nái mang thai. (Joo & Johnson. 1976. Veterinary Bulletin 46, 653-660; Mengeling. 1978. J. Am. Vet. Med. Assoc. 172, 1291-1294).

PPV gây ra chứng suy giảm khả năng sinh sản khi lợn nái tơ và lợn nái (không miễn dịch) dễ mắc bệnh bị nhiễm trong quá trình mang thai. Đây là lần duy nhất virus gây ra bệnh. Sự nhiễm ở lợn xảy ra sau khi nuốt hoặc hít phải virus. Sau đó PPV tuần hoàn trong máu, và ở lợn mang thai, nó đi qua nhau thai và gây nhiễm cho phôi thai và bào thai đang phát triển. Sau khi nhiễm tự nhiên, sự miễn dịch hoạt tính phát triển mà có thể kéo dài suốt đời con lợn. Nếu tính miễn dịch hoạt tính diễn ra trước khi mang thai thì lợn con phát triển không bị ảnh hưởng. Khi sinh, lợn con nhận tính miễn dịch từ mẹ trong sữa non của lợn nái và tính miễn dịch từ mẹ này kéo dài cho đến 20 tuần tuổi. Độ miễn dịch hoạt tính ở lợn nái càng lớn thì độ miễn dịch từ mẹ mà nó truyền cho con càng nhiều. Sau đó, sự nhiễm PPV tự nhiên có thể diễn ra.

Bệnh gây ra bởi PPV ở lợn thường được gọi là SMEDI (chữ viết tắt của chết non (stillbirth), hoại tử khô (mummification), chết phôi (embryonic death), và vô sinh (infertility)). Nếu sự nhiễm xảy ra ở ngày 0 đến 30 của thai kỳ, sự tử vong của phôi có thể diễn ra dẫn đến kích cỡ lứa đẻ giảm. Dấu hiệu rõ ràng nhất sau khi nhiễm ở 30-70 ngày thai kỳ là sự sinh các con lợn con bị hoại tử khô. Hoại tử khô là quy trình tiêu hóa vô trùng các mô của lợn con mà chết trong tử cung sau khi khung xương đã bắt đầu hóa rắn. Sự nhiễm PPV cũng kết hợp với sự chết non và các con lợn con được sinh ra yếu ớt nếu sự nhiễm diễn ra ở giai đoạn sau của quá trình mang thai. Sự sảy thai cũng có thể là kết quả của bệnh nhiễm PPV, nhưng không phải là dấu hiệu lâm sàng chung của bệnh này. Nói chung, sự nhiễm PPV làm giảm số lượng lợn con sinh ra bởi lợn nái mỗi năm.

Các vacxin PPV hiện có được sản xuất bằng cách nuôi virus tự nhiên trên các tế bào sơ cấp có nguồn gốc từ lợn hoặc trong các dòng tế bào được thiết lập. Sau đó, virus lây nhiễm được phân lập và bất hoạt bằng tác nhân hóa học để thu được vacxin virus nguyên vẹn chết toàn bộ tế bào. Tuy nhiên, các quy trình nuôi virus lây nhiễm tự nhiên như vậy có vấn đề về tính đảm bảo sinh học và độ an toàn. Do đó, có nhu cầu về vacxin PPV tái tổ hợp.

Vacxin dưới đơn vị trên cơ sở các protein tái tổ hợp có thể có tính sinh miễn dịch kém do sự gấp nếp không chính xác của protein đích hoặc có sự trình diện kém đối với hệ miễn dịch. Hơn nữa, vacxin chết toàn bộ tế bào trình diện tất cả các kháng nguyên của virus tự nhiên, trong khi đó ở vacxin dưới đơn vị, có sự giới hạn ở trình tự axit amin đặc hiệu.

Vacxin PPV tái tổ hợp đã được mô tả trong lĩnh vực này, tuy nhiên, cho đến nay chỉ có các vacxin chết toàn bộ tế bào là có bán trên thị trường. Do đó, dường như là cho đến nay các vacxin dưới đơn vị PPV tái tổ hợp thích hợp không được phát triển và chúng không được thể hiện là hiệu quả và an toàn. Các vacxin dưới đơn vị PPV tái tổ hợp được mô tả cho đến nay đã không được thử nghiệm trong các thử nghiệm thử thách ở phòng thí nghiệm, có đối chứng. Các vacxin dưới đơn vị PPV tái tổ hợp mà đã được đánh giá không hoạt động tốt như là các vacxin PPV chết toàn bộ tế bào hoặc các vacxin dưới đơn vị PPV tái tổ hợp này không an toàn (thể hiện các phản ứng ngược). Do đó, vẫn cần có các vacxin dưới đơn vị PPV tái tổ hợp mà có hiệu quả cao và an toàn.

Các thể phân lập thực địa của parvovirus lợn (PPV) đã được nhận diện là khác về mặt di truyền và về mặt kháng nguyên so với các chủng vacxin. Virus PPV kiểu gen 2, PPV-27a, có độc lực cao đối với các con lợn nái tơ mang thai sau khi gây nhiễm thử nghiệm, như được chứng minh bằng tỷ lệ tử vong cao trong số các bào thai của các con lợn nái bị nhiễm PPV-27a (85%) so với các con lợn nái bị nhiễm các chủng khác của PPV, ví dụ, PPV-NADL-2. Tuy nhiên, các vacxin hiện có bán trên thị trường kháng PPV được dựa trên cơ sở các chế phẩm virus toàn bộ bất hoạt của chủng PPV kiểu gen 1 được phân lập từ khoảng 30 năm trước (Jozwik et al 2009; Journal of General Virology; 90; 2437–2441). Do đó, có nhu cầu về các vacxin mới bảo vệ kháng lại các chủng PPV gây bệnh độc lực cao mới mà thích hợp hơn với PPV trên thực địa.

Tình trạng kỹ thuật bổ sung của sáng chế này là như sau:

EP 0 551 449 A1 bộc lộ phương pháp sản xuất vacxin dưới đơn vị VP2 kháng parvovirus lợn.

Cadar D et al. (Infection, Genetics and Evolution 2012, 12: 1163-1171) mô tả sự phát sinh chủng loại và sự tiến hóa di truyền của parvovirus lợn ở lợn hoang.

Streck AF et al. (Journal of General Virology 2011, 92: 2628-2636) mô tả tốc độ tiến hóa virus cao ở protein capsit của parvovirus lợn.

WO 88/02026 đề cập đến vaccin capsit virus trống.

Martinez C et al. (Vaccine 1992, 10(10): 684-690), bộc lộ sự sản xuất capsit trống của parvovirus lợn với hoạt tính gây miễn dịch cao.

Xu F et al. (Applied and Environmental Microbiology 2007, 73(21): 7041-7047) mô tả sự cảm ứng đáp ứng miễn dịch ở chuột nhắt sau khi dùng trong dạ dày *Lactobacillus casei* sản xuất protein VP2 của parvovirus lợn.

Hơn nữa, có nhu cầu đối với các vaccin mới và tốt hơn kháng lại các chủng PPV có khả năng gây bệnh rất cao tạo ra phổ bảo vệ rộng hơn kháng lại các chủng PPV khác nhau (khác loại) (bảo vệ chéo).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất protein virus 2 (VP2) của parvovirus lợn (PPV) có:

- gốc axit glutamic hoặc gốc glutamat ở vị trí axit amin 228, và/hoặc
- gốc serin ở vị trí axit amin 414, và/hoặc
- gốc glutamin ở vị trí axit amin 419, và/hoặc
- gốc threonin ở vị trí axit amin 436,

trong đó việc đánh số vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của VP2 PPV kiểu đại.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm sinh miễn dịch chứa VP2 PPV.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất polynucleotit chứa trình tự mã hóa VP2 PPV.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất vector chứa polynucleotit, trong đó vector này là baculovirus.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất tế bào chứa polynucleotit hoặc vector.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất hạt giống virus chứa VP2 PPV.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất VP2 PPV, bao gồm việc chuyển nhiễm vector nêu trên vào tế bào.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trước khi các khía cạnh của sáng chế được mô tả, cần lưu ý rằng như được sử dụng trong bản mô tả và trong yêu cầu bảo hộ kèm theo, các dạng số ít "một", và dạng xác định bao gồm cả dạng số nhiều trừ khi ngữ cảnh chỉ rõ theo cách khác. Vì vậy, ví dụ, khi viện dẫn đến "kháng nguyên" bao gồm cả nhiều kháng nguyên, khi viện dẫn đến "virus" là viện dẫn đến một hoặc nhiều virus và các dạng tương đương của nó mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật đã biết, v.v. Trừ khi có quy định khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả có cùng nghĩa như thường được hiểu bởi người có kỹ năng trung bình về lĩnh vực của sáng chế này. Mặc dù các phương pháp và vật liệu tương tự hoặc tương đương với các phương pháp và vật liệu được mô tả trong bản mô tả có thể được dùng để thực hành hoặc thử nghiệm sáng chế, các phương pháp, thiết bị và vật liệu được ưu tiên sẽ được mô tả. Tất cả các công bố đã nêu trong bản mô tả này được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn nhằm mục đích mô tả và bộc lộ các dòng tế bào, vector, và các hệ phương pháp như được báo cáo trong các công bố có thể được sử dụng cùng với sáng chế. Không có phần nào ở đây được hiểu như là thừa nhận rằng sáng chế không được hưởng quyền đề ngày trước bộc lộ như vậy bởi sáng chế trước đó.

Sáng chế này giải quyết được các vấn đề vốn có trước đây và tạo ra sự cải tiến rõ rệt trong lĩnh vực. Nói chung, sáng chế đề xuất protein virus 2 (VP2) của parvovirus lợn (PPV) có:

- gốc axit glutamic hoặc gốc glutamat ở vị trí axit amin 228, và/hoặc
- gốc serin ở vị trí axit amin 414, và/hoặc

- gốc glutamin ở vị trí axit amin 419, và/hoặc
- gốc threonin ở vị trí axit amin 436,

trong đó việc đánh số vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của VP2 PPV kiểu đại.

Thuận lợi là, dữ liệu thử nghiệm được đề xuất theo sáng chế bộc lộ rằng vaccin dưới đơn vị VP2 PPV theo sáng chế là an toàn và hiệu quả trong việc phòng ngừa virus huyết và bệnh nhiễm PPV ở bào thai. Hơn nữa, dữ liệu thử nghiệm được cung cấp bởi sáng chế bộc lộ rằng vaccin theo sáng chế có phổ bảo vệ rộng vì vaccin bảo vệ kháng lại các chủng thử thách PPV khác loại ở Bắc Mỹ cũng như ở châu Âu.

Thuận lợi là, dữ liệu thử nghiệm được đề xuất theo sáng chế bộc lộ rằng vaccin dưới đơn vị VP2 PPV theo sáng chế là hiệu quả như virus chết toàn bộ đây là hiệu quả đáng ngạc nhiên. Tuy nhiên, các quy trình bất hoạt mở rộng (mà cần thiết để bất hoạt PPV tự nhiên khi tạo ra các vaccin virus chết toàn bộ) có thể được tránh bằng việc sử dụng vaccin dưới đơn vị tái tổ hợp chứa VP2 PPV.

Thuật ngữ “parvovirus lợn” hoặc “PPV” đã được biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Tuy nhiên, “parvovirus lợn” là virus tự sao chép của chi parvovirus trong họ Parvoviridae chứa phân tử ADN chuỗi đơn. Hệ gen của virus mã hóa ba protein capsit (VP1, VP2, VP3) và một protein phi cấu trúc (non-structural protein - NS1). Bệnh gây ra bởi PPV ở lợn thường được gọi là SMEDI (chữ viết tắt của chết non (stillbirth), hoại tử khô (mummification), chết phôi (embryonic death), và vô sinh (infertility)). Thuật ngữ “parvovirus lợn” bao hàm tất cả các chủng, các kiểu gen, kiểu hình và kiểu huyết thanh khả dĩ của parvovirus lợn.

Thuật ngữ “protein virus 2” hay “VP2” đề cập đến protein capsit VP2 của parvovirus lợn. Thuật ngữ “protein virus 2” hay “VP2” cũng được biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Thuật ngữ “protein”, “axit amin” và “polypeptit” được sử dụng có thể thay thế cho nhau. Thuật ngữ “protein” dùng để chỉ trình tự của các axit amin gồm có các axit amin có trong tự nhiên cũng như các dẫn xuất của nó. Các axit amin có trong tự nhiên là đã biết rõ trong lĩnh vực và được mô tả trong các sách hóa sinh tiêu chuẩn. Trong

trình tự axit amin, các gốc axit amin được nối bởi liên kết peptit. Hơn nữa, hai đầu của trình tự axit amin này được đề cập đến như là các đầu tận cùng carboxyl (đầu tận cùng C) và đầu tận cùng amino (đầu tận cùng N). Ngoài ra, thuật ngữ “protein” chủ yếu là bao hàm các protein tinh khiết hoặc các chế phẩm protein chứa các protein. Hơn nữa, thuật ngữ này còn đề cập đến các mảnh protein. Hơn nữa, nó còn bao gồm các protein được biến đổi về mặt hóa học. Các biến đổi này có thể là các biến đổi nhân tạo hoặc các biến đổi diễn ra trong tự nhiên như phosphoryl hóa, glycosyl hóa, myristyl hóa và các dạng tương tự.

Cụm từ “trong đó việc đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của VP2 PPV kiểu đại” đề cập đến việc đánh số các vị trí axit amin liên quan đến trình tự axit amin của protein VP2 PPV kiểu đại có chiều dài đầy đủ. Tốt hơn là, việc đánh số các vị trí axit amin như được đề cập ở đây là có liên quan đến trình tự protein VP2 PPV kiểu đại có 579 gốc axit amin, bao gồm gốc methionin ở vị trí axit amin 1 (đầu tận cùng N). Cụm từ “trong đó việc đánh số vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của VP2 PPV kiểu đại” bao hàm VP2 PPV kiểu đại như được lấy làm ví dụ trong SEQ ID NO:1 (VP2 PPV 27a).

Theo một khía cạnh của sáng chế, VP2 PPV còn có

- gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 25, và/hoặc
- gốc serin ở vị trí axit amin 36, và/hoặc
- gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 37.

Do đó, sáng chế đề xuất protein virus 2 (VP2) của parvovirus lợn (PPV) có

- gốc axit glutamic hoặc gốc glutamat ở vị trí axit amin 228, và/hoặc
- gốc serin ở vị trí axit amin 414, và/hoặc
- gốc glutamin ở vị trí axit amin 419, và/hoặc
- gốc threonin ở vị trí axit amin 436,

trong đó việc đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của VP2 PPV kiểu đại, và

trong đó VP2 PPV còn có

- gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 25, và/hoặc
- gốc serin ở vị trí axit amin 36, và/hoặc
- gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 37.

Theo một khía cạnh của sáng chế, việc đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin như được thể hiện trong SEQ ID NO:1. Do đó, sáng chế đề xuất protein virus 2 (VP2) của parvovirus lợn (PPV) có

- gốc axit glutamic hoặc gốc glutamat ở vị trí axit amin 228, và/hoặc
- gốc serin ở vị trí axit amin 414, và/hoặc
- gốc glutamin ở vị trí axit amin 419, và/hoặc
- gốc threonin ở vị trí axit amin 436,

trong đó việc đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của VP2 PPV kiểu đại, và trong đó việc đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin như được thể hiện trong SEQ ID NO:1.

Do đó, sáng chế đề xuất protein virus 2 (VP2) của parvovirus lợn (PPV) có

- gốc axit glutamic hoặc gốc glutamat ở vị trí axit amin 228, và/hoặc
- gốc serin ở vị trí axit amin 414, và/hoặc
- gốc glutamin ở vị trí axit amin 419, và/hoặc
- gốc threonin ở vị trí axit amin 436,

trong đó việc đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin như được thể hiện trong SEQ ID NO:1.

Theo một khía cạnh của sáng chế, VP2 PPV là VP2 PPV tái tổ hợp.

Thuật ngữ “tái tổ hợp”, như được sử dụng ở đây, cụ thể đề cập đến phân tử protein được biểu hiện từ phân tử ADN tái tổ hợp, như polypeptit được sản xuất bằng công nghệ ADN tái tổ hợp. Một ví dụ về công nghệ như vậy bao gồm trường hợp khi ADN mã hóa protein được biểu hiện (VP2 PPV) được chèn vào vector biểu hiện thích hợp, tốt hơn là vector biểu hiện baculovirus, vector này được sử dụng để chuyển nhiễm, hoặc trong trường hợp vector biểu hiện baculovirus để gây nhiễm, tế bào chủ để sản

sinh protein hoặc polypeptit được mã hóa bởi ADN này. Thuật ngữ “VP2 PPV tái tổ hợp”, như được sử dụng ở đây, cụ thể là đề cập đến phân tử protein được biểu hiện từ phân tử ADN tái tổ hợp.

Theo một khía cạnh của sáng chế, VP2 PPV là VP2 PPV được biểu hiện bằng baculovirut tái tổ hợp.

Thuật ngữ “baculovirut” hoặc “hệ baculovirut” được biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Hơn nữa, thuật ngữ “baculovirut” được quy định thêm như dưới đây.

Theo một khía cạnh của sáng chế, VP2 PPV nêu trên chứa hoặc bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất về trình tự ít nhất là 90% so với trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16.

Theo một khía cạnh của sáng chế, VP2 PPV này gồm hoặc chỉ gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất về trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 91%, ít nhất là 92%, ít nhất là 93%, ít nhất là 94%, ít nhất là 95%, ít nhất là 96%, ít nhất là 97%, ít nhất là 98%, ít nhất là 99%, ít nhất là 99,1%, ít nhất là 99,2%, ít nhất là 99,3%, ít nhất là 99,4%, ít nhất là 99,5%, ít nhất là 99,6%, ít nhất là 99,7%, ít nhất là 99,8%, hoặc ít nhất là 99,9% so với trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16. Do đó, sáng chế đề xuất protein virut 2 (VP2) của parvovirut lợn (PPV) có

- gốc axit glutamic hoặc gốc glutamat ở vị trí axit amin 228, và/hoặc
- gốc serin ở vị trí axit amin 414, và/hoặc
- gốc glutamin ở vị trí axit amin 419, và/hoặc
- gốc threonin ở vị trí axit amin 436,

trong đó việc đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của VP2 PPV kiểu đại, và

trong đó VP2 PPV nêu trên gồm hoặc chỉ gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất về trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 91%, ít nhất là 92%, ít nhất là 93%, ít nhất là 94%, ít nhất là 95%, ít nhất là 96%, ít nhất là 97%, ít nhất là 98%, ít nhất là 99%, ít nhất là

99,1%, ít nhất là 99,2%, ít nhất là 99,3%, ít nhất là 99,4%, ít nhất là 99,5%, ít nhất là 99,6%, ít nhất là 99,7%, ít nhất là 99,8%, hoặc ít nhất là 99,9% so với trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16.

Theo một khía cạnh của sáng chế, VP2 PPV nêu trên gồm hoặc chỉ gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:1, hoặc SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16 hoặc gồm hoặc chỉ gồm mảnh bất kỳ có ít nhất là 210, ít nhất là 250 hoặc ít nhất là 300 gốc axit amin liên tiếp từ SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16. Do đó, sáng chế đề xuất protein virus 2 (VP2) của parvovirus lợn (PPV) có

- gốc axit glutamic hoặc gốc glutamat ở vị trí axit amin 228, và/hoặc
- gốc serin ở vị trí axit amin 414, và/hoặc
- gốc glutamin ở vị trí axit amin 419, và/hoặc
- gốc threonin ở vị trí axit amin 436,

trong đó việc đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của VP2 PPV kiểu đại, và

trong đó VP2 PPV nêu trên gồm hoặc chỉ gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:1, hoặc SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16 hoặc gồm hoặc chỉ gồm mảnh bất kỳ có ít nhất là 210, ít nhất là 250 hoặc ít nhất là 300 gốc axit amin liên tiếp từ SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16.

Theo một khía cạnh của sáng chế, VP2 PPV nêu trên gồm hoặc chỉ gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16. Do đó, sáng chế đề xuất protein virus 2 (VP2) của parvovirus lợn (PPV) có

- gốc axit glutamic hoặc gốc glutamat ở vị trí axit amin 228, và/hoặc
- gốc serin ở vị trí axit amin 414, và/hoặc
- gốc glutamin ở vị trí axit amin 419, và/hoặc
- gốc threonin ở vị trí axit amin 436,

trong đó việc đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của VP2 PPV kiểu đại, và

trong đó VP2 PPV nêu trên gồm hoặc chỉ gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:1, hoặc SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16.

Theo một khía cạnh của sáng chế, VP2 PPV nêu trên được mã hóa bằng trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin có độ đồng nhất về trình tự ít nhất là 90% với trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16.

Theo một khía cạnh của sáng chế, VP2 PPV nêu trên được mã hóa bằng trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin có độ đồng nhất về trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 91%, ít nhất là 92%, ít nhất là 93%, ít nhất là 94%, ít nhất là 95%, ít nhất là 96%, ít nhất là 97%, ít nhất là 98%, ít nhất là 99%, ít nhất là 99,1%, ít nhất là 99,2%, ít nhất là 99,3%, ít nhất là 99,4%, ít nhất là 99,5%, ít nhất là 99,6%, ít nhất là 99,7%, ít nhất là 99,8%, hoặc ít nhất là 99,9% so với trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16. Do đó, sáng chế đề xuất protein virus 2 (VP2) của parvovirus lợn (PPV) có

- gốc axit glutamic hoặc gốc glutamat ở vị trí axit amin 228, và/hoặc
- gốc serin ở vị trí axit amin 414, và/hoặc
- gốc glutamin ở vị trí axit amin 419, và/hoặc
- gốc threonin ở vị trí axit amin 436,

trong đó việc đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của VP2 PPV kiểu đại, và

trong đó VP2 PPV nêu trên được mã hóa bằng trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin có độ đồng nhất về trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 91%, ít nhất là 92%, ít nhất là 93%, ít nhất là 94%, ít nhất là 95%, ít nhất là 96%, ít nhất là 97%, ít nhất là 98%, ít nhất là 99%, ít nhất là 99,1%, ít nhất là 99,2%, ít nhất là 99,3%, ít nhất là 99,4%, ít nhất là 99,5%, ít nhất là 99,6%, ít nhất là 99,7%, ít nhất là 99,8%, hoặc ít nhất là 99,9% so với trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16.

Theo một khía cạnh của sáng chế, VP2 PPV nêu trên được mã hóa bằng trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16. Do đó, sáng chế đề xuất protein virus 2 (VP2) của parvovirus lợn (PPV) có

- gốc axit glutamic hoặc gốc glutamat ở vị trí axit amin 228, và/hoặc
- gốc serin ở vị trí axit amin 414, và/hoặc
- gốc glutamin ở vị trí axit amin 419, và/hoặc
- gốc threonin ở vị trí axit amin 436,

trong đó việc đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của VP2 PPV kiểu đại, và

trong đó VP2 PPV nêu trên được mã hóa bằng trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16.

SEQ ID NO:4 là trình tự nucleotit VP2 PPV 27a được tối ưu hóa về mặt codon mà được biến đổi tiếp để có hai vị trí enzym giới hạn ClaI (vị trí axit amin 25 là gốc isoleuxin, vị trí axit amin 36 là gốc serin, vị trí axit amin 37 là gốc isoleuxin) để chặn vùng mã hóa VP2 gồm các đoạn lặp Glyxin. Tuy nhiên, các vị trí enzym giới hạn ClaI được đưa vào theo cách sao cho không phá vỡ vùng mã hóa VP2. SEQ ID NO:2 là trình tự protein tương ứng với SEQ ID NO:4. SEQ ID NO:3 là trình tự nucleotit VP2 PPV 27a được tối ưu hóa về mặt codon (không có các vị trí enzym giới hạn ClaI). SEQ ID NO:1 là trình tự protein tương ứng với SEQ ID NO:3. SEQ ID NO: 5 đến 16 còn bộc lộ các trình tự protein VP2 PPV cùng với (SEQ ID NO: 5 đến 10) hoặc không cùng với (SEQ ID NO: 11 đến 16) các vị trí enzym giới hạn ClaI.

Các thuật ngữ “axit nucleic” hoặc “trình tự axit nucleic” hoặc “trình tự nucleotit” hoặc “polynucleotit” được sử dụng thay thế nhau ở đây và đề cập đến các polynucleotit gồm các phân tử ADN, các phân tử ARN, các phân tử cADN hoặc các dẫn xuất. Thuật ngữ này bao hàm các polynucleotit sợi đơn cũng như sợi kép. Axit nucleic theo sáng chế bao hàm polynucleotit được phân lập (nghĩa là được phân lập từ các nguồn có trong tự nhiên của nó) và các dạng được cải biến di truyền. Hơn nữa, các polynucleotit được cải biến hóa học bao gồm các polynucleotit được cải biến có

trong tự nhiên như polynucleotit được glycosyl hóa hoặc metyl hóa hoặc các polynucleotit được cải biến nhân tạo như polynucleotit được biotinyl hóa. Ngoài ra, thuật ngữ "axit nucleic" và "polynucleotit" có thể thay thế cho nhau và dùng để chỉ axit nucleic bất kỳ. Thuật ngữ "axit nucleic" và "polynucleotit" cụ thể cũng bao gồm các axit nucleic bao gồm các bazơ khác ngoài năm bazơ xuất hiện trong sinh học (adenin, guanin, thymin, xytosin và uraxil).

Thuật ngữ “độ đồng nhất” hoặc “độ đồng nhất về trình tự” được biết trong lĩnh vực này và đề cập đến mối quan hệ giữa hai hoặc nhiều trình tự polypeptit hoặc hai hoặc nhiều trình tự polynucleotit, cụ thể là trình tự tham chiếu và trình tự đã định để so sánh với trình tự tham chiếu. Mức đồng nhất trình tự được xác định bằng cách so sánh trình tự định sẵn với trình tự tham chiếu sau khi các trình tự này đã được sắp thẳng hàng một cách tối ưu để tạo ra mức độ tương tự cao nhất về mặt trình tự, như được xác định bởi sự khớp giữa các chuỗi trình tự này. Bằng cách sắp thẳng hàng như vậy, độ đồng nhất về mặt trình tự được xác định ở mỗi vị trí, chẳng hạn, các trình tự là “đồng nhất” ở một vị trí cụ thể nếu ở vị trí đó, các nucleotit hoặc gốc axit amin là giống nhau. Tiếp theo, tổng số mức đồng nhất vị trí như vậy được chia cho tổng số nucleotit hoặc tổng số gốc trong trình tự tham chiếu để thu được mức đồng nhất trình tự tính theo %. Mức đồng nhất trình tự có thể được tính toán một cách dễ dàng bằng các phương pháp đã biết, bao gồm nhưng không giới hạn ở, các phương pháp được mô tả trong tài liệu: Computational Molecular Biology, Lesk, A. N., ed., Oxford University Press, New York (1988), Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York (1993); Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey (1994); Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinge, G., Academic Press (1987); Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M. Stockton Press, New York (1991); và Carillo, H., and Lipman, D., SIAM J. Applied Math., 48: 1073 (1988), toàn bộ nội dung của các tài liệu này được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn. Các phương pháp được ưu tiên để xác định mức đồng nhất trình tự được thiết kế sao cho thu được mức độ khớp lớn nhất giữa các trình tự được kiểm tra. Các phương pháp để xác định mức đồng nhất trình tự được mã hóa trong các chương trình máy tính sẵn có công khai, các chương trình này xác định mức đồng nhất trình tự giữa các trình tự định sẵn. Các ví dụ về các chương trình như vậy bao

gồm, nhưng không giới hạn ở, gói chương trình GCG (Devereux, J., et al., *Nucleic Acids Research*, 12(1): 387 (1984)), BLASTP, BLASTN and FASTA (Altschul, S. F. et al., *J. Molec. Biol.*, 215:403-410 (1990)). Chương trình BLASTX sẵn có công khai từ NCBI và các nguồn khác (BLAST Manual, Altschul, S. et al., NCVI NLM NIH Bethesda, MD 20894, Altschul, S. F. et al., *J. Molec. Biol.*, 215:403-410 (1990), toàn bộ nội dung của các tài liệu này được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn). Các chương trình này sắp thẳng hàng các trình tự theo cách tối ưu bằng cách sử dụng trọng số khoảng trống mặc định để tạo ra mức độ đồng nhất cao nhất về mặt trình tự giữa trình tự tham chiếu và trình tự định sẵn. Theo một ví dụ minh họa, do polynucleotit có trình tự nucleotit có “mức đồng nhất về mặt trình tự” ít nhất là, chẳng hạn, 85%, tốt hơn là 90%, thậm chí tốt hơn nữa là 95% với trình tự nucleotit tham chiếu, dự định rằng trình tự nucleotit của polynucleotit đã nêu là giống với trình tự tham chiếu chỉ khác là trình tự polynucleotit đã nêu có thể bao gồm lên tới 15, tốt hơn là lên tới 10, thậm chí tốt hơn nữa là lên tới 5 đột biến điểm trên mỗi 100 nucleotit của trình tự nucleotit tham chiếu. Nói cách khác, trong một polynucleotit có trình tự nucleotit có mức đồng nhất trình tự ít nhất là là 85%, tốt hơn là 90%, thậm chí tốt hơn nữa là 95% so với trình tự nucleotit tham chiếu, thì có tới 15%, tốt hơn là 10%, thậm chí tốt hơn nữa là 5% số nucleotit trong trình tự tham chiếu có thể được loại bỏ hoặc thay thế bằng nucleotit khác hoặc một số lượng nucleotit lên tới 15%, tốt hơn là 10%, thậm chí tốt hơn nữa là 5% tổng số nucleotit trong trình tự tham chiếu có thể được gắn chèn vào trình tự tham chiếu. Các đột biến này của trình tự tham chiếu có thể diễn ra ở các vị trí đầu tận cùng 5' hoặc 3' của trình tự nucleotit tham chiếu hoặc ở bất kỳ đâu giữa các vị trí đầu tận cùng đó, được đặt rải rác một cách riêng rẽ giữa các nucleotit trong trình tự tham chiếu hoặc trong một hoặc nhiều nhóm liên tiếp trong trình tự tham chiếu. Tương tự, do polypeptit có trình tự axit amin xác định có mức đồng nhất trình tự ít nhất là, ví dụ 85%, tốt hơn là 90%, thậm chí tốt hơn nữa là 95% so với trình tự axit amin tham chiếu, dự định rằng trình tự axit amin xác định của polypeptit là giống với trình tự tham chiếu, chỉ khác ở chỗ, trình tự polypeptit xác định có thể bao gồm lên tới 15, tốt hơn là lên tới 10, thậm chí tốt hơn nữa là lên tới 5 thay đổi axit amin trên mỗi 100 axit amin của trình tự axit amin tham chiếu. Nói cách khác, để thu được trình tự polypeptit xác định có mức đồng nhất trình tự ít nhất là là 85%, tốt hơn là 90%, thậm chí tốt hơn nữa là 95% so với trình tự axit amin tham chiếu, thì lên tới

15%, tốt hơn là lên tới 10%, thậm chí tốt hơn nữa là lên tới 5% số gốc axit amin trong trình tự tham chiếu có thể được loại bỏ hoặc được thay thế bằng axit amin khác, hoặc số lượng axit amin lên tới 15%, tốt hơn là lên tới 10%, thậm chí tốt hơn nữa là lên tới 5% tổng số gốc axit amin trong trình tự tham chiếu có thể được gắn chèn vào trình tự tham chiếu. Những thay đổi như vậy đối với trình tự tham chiếu có thể xảy ra ở các vị trí đầu tận cùng amino hoặc carboxy của trình tự axit amin tham chiếu hoặc ở bất kỳ nơi nào giữa các vị trí đầu tận cùng này, được nằm rải rác riêng rẽ trong số các gốc trong trình tự tham chiếu hoặc trong một hoặc nhiều nhóm liên kề thuộc trình tự tham chiếu này. Tốt hơn là, các vị trí gốc mà không giống nhau sẽ khác nhau bởi các thay thế axit amin có bảo tồn. Tuy nhiên, các thay thế có bảo tồn không được tính là khớp khi xác định độ đồng nhất về mặt trình tự.

Các thuật ngữ “độ đồng nhất”, “độ đồng nhất về mặt trình tự” và “phần trăm đồng nhất” được sử dụng thay thế nhau ở đây. Nhằm mục đích của sáng chế này, ở đây định nghĩa rằng, để xác định tỷ lệ % đồng nhất của hai trình tự axit amin hoặc hai trình tự axit nucleic, các trình tự được sắp thẳng hàng nhằm mục đích so sánh tối ưu (ví dụ, các khoảng trống có thể được đưa vào trong trình tự của axit amin hoặc axit nucleic thứ nhất để sắp xếp thẳng hàng tối ưu với trình tự axit amin hoặc axit nucleic thứ hai). Tiếp theo, các gốc axit amin hoặc nucleotit tại các vị trí axit amin hoặc nucleotit tương ứng được so sánh. Nếu một vị trí trong trình tự thứ nhất được chiếm chỗ bởi gốc axit amin hoặc nucleotit giống như vậy làm vị trí tương ứng trong trình tự thứ hai, thì các phân tử là giống nhau tại vị trí đó. Phần trăm đồng nhất giữa hai trình tự là hàm số của số lượng các vị trí giống nhau chia cho trình tự [tức là, % đồng nhất = số vị trí giống nhau/tổng số các vị trí (tức là các vị trí chồng chập) x 100]. Tốt hơn, hai trình tự có chiều dài như nhau.

Việc so sánh trình tự có thể được thực hiện trên toàn bộ chiều dài của hai trình tự đang được so sánh hoặc trên đoạn của hai trình tự. Thông thường, việc so sánh sẽ được thực hiện trên toàn bộ chiều dài của hai trình tự đang được so sánh. Tuy nhiên, độ đồng nhất trình tự có thể được thực hiện trên một vùng gồm, ví dụ, 20, 15, 100 hoặc nhiều hơn 100 gốc axit amin liên kề nhau.

Người có kỹ năng sẽ hiểu rõ thực tế là có một số chương trình vi tính khác nhau để xác định mức độ đồng nhất giữa hai trình tự. Ví dụ, việc so sánh các trình tự và

xác định tỷ lệ % đồng nhất giữa hai trình tự có thể được hoàn thành nhờ sử dụng thuật toán toán học. Theo phương án ưu tiên, tỷ lệ % đồng nhất giữa hai trình tự axit amin hoặc axit nucleic được xác định nhờ sử dụng thuật toán của tác giả Needleman and Wunsch [J. Mol. Biol. (48): 444-453 (1970)], thuật toán này được kết hợp vào trong chương trình GAP trong gói phần mềm Accelrys GCG (có sẵn tại địa chỉ <http://www.accelrys.com/products/gcg/>), sử dụng ma trận Blosum 62 hoặc ma trận PAM250 và trọng số khoảng trống là 16, 14, 12, 10, 8, 6, hoặc 4 và trọng số chiều dài là 1, 2, 3, 4, 5, hoặc 6. Người có kỹ năng sẽ hiểu rằng, tất cả những thông số khác nhau này sẽ dẫn đến những kết quả khác nhau chút ít nhưng tổng tỷ lệ % đồng nhất của hai trình tự không thay đổi đáng kể khi sử dụng các thuật toán khác nhau.

Các trình tự protein hoặc các trình tự axit nucleic theo sáng chế còn có thể được sử dụng làm "trình tự truy vấn" để thực hiện tra cứu đối với các cơ sở dữ liệu công khai, ví dụ, để nhận diện các thành viên của họ khác hoặc các trình tự liên quan. Các tra cứu như vậy có thể được thực hiện nhờ sử dụng các chương trình BLASTN và BLASTP (version 2.0) của tác giả Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10. Tra cứu protein BLAST có thể được thực hiện bằng chương trình BLASTP, điểm ghi = 50, độ dài từ = 3 để thu được các trình tự axit amin đồng nhất với các phân tử protein theo sáng chế. Để thu được sự sắp xếp thẳng hàng có khoảng trống cho các mục đích so sánh, chương trình Gapped BLAST có thể được sử dụng như được mô tả trong tài liệu của tác giả Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25(17): 3389-3402. Khi sử dụng các chương trình BLAST và Gapped BLAST, thông số mặc định của các chương trình tương ứng (ví dụ, BLASTP và BLASTN) có thể được sử dụng. Xem trong trang chủ của Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia tại trang web <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến chế phẩm sinh miễn dịch chứa VP2 PPV như được mô tả ở đây. Do đó, sáng chế đề xuất chế phẩm sinh miễn dịch chứa protein virus 2 (VP2) của parvovirus lợn (PPV) có

- gốc axit glutamic hoặc gốc glutamat ở vị trí axit amin 228, và/hoặc
- gốc serin ở vị trí axit amin 414, và/hoặc
- gốc glutamin ở vị trí axit amin 419, và/hoặc

- gốc threonin ở vị trí axit amin 436,

trong đó việc đánh số vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của VP2 PPV kiểu đại.

Thuật ngữ "chế phẩm sinh miễn dịch" dùng để chỉ chế phẩm chứa ít nhất là một kháng nguyên, mà gây ra đáp ứng miễn dịch ở vật chủ mà dùng chế phẩm sinh miễn dịch này. Đáp ứng miễn dịch như vậy có thể là đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào và/hoặc kháng thể đối với chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế. Tốt hơn là, chế phẩm sinh miễn dịch gây ra đáp ứng miễn dịch và, tốt hơn nữa là, tạo ra miễn dịch bảo vệ chống lại một hoặc nhiều dấu hiệu lâm sàng của bệnh nhiễm PPV. Vật chủ còn được mô tả là "đối tượng". Tốt hơn là, bất kỳ vật chủ hoặc đối tượng nào được mô tả hoặc đề cập đến ở đây đều là lợn.

Thông thường, "đáp ứng miễn dịch" bao gồm nhưng không giới hạn ở một hoặc nhiều tác động sau đây: sự sản sinh hoặc hoạt hóa kháng thể, tế bào B, tế bào T hỗ trợ, tế bào T ức chế, và/hoặc tế bào T gây độc tế bào và/hoặc tế bào T gama-delta, hướng cụ thể đến một kháng nguyên hoặc các kháng nguyên được chứa trong chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế. Tốt hơn là, vật chủ sẽ thể hiện đáp ứng miễn dịch bảo vệ hoặc đáp ứng trị liệu.

"Đáp ứng miễn dịch bảo vệ" hoặc "miễn dịch bảo vệ" sẽ được biểu hiện bởi sự giảm hoặc sự không có dấu hiệu lâm sàng thường được biểu lộ bởi vật chủ bị nhiễm, thời gian hồi phục nhanh hơn và/hoặc khoảng thời gian lây nhiễm giảm hoặc chuẩn độ mầm bệnh giảm trong các mô hoặc dịch thể hoặc chất bài tiết của vật chủ bị nhiễm.

Trong trường hợp mà vật chủ biểu hiện đáp ứng miễn dịch bảo vệ tới mức gia tăng tính kháng đối với sự nhiễm mới và/hoặc giảm mức độ nghiêm trọng về mặt lâm sàng của bệnh, chế phẩm sinh miễn dịch được mô tả như là "vacxin".

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch được bào chế để dùng liều đơn.

Thể tích liều đơn đã được xác định ở đây.

Tốt hơn là, chế phẩm sinh miễn dịch được dùng tại chỗ hoặc toàn thân. Đường dùng thích hợp thường được sử dụng là dùng qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa, như dùng trong mũi, trong tĩnh mạch, trong cơ, trong màng bụng, dưới da, cũng như là xông hít. Tuy nhiên, tùy thuộc vào bản chất và phương thức tác động của hợp chất, chế phẩm sinh miễn dịch cũng có thể được sử dụng qua các đường dùng khác. Tuy nhiên, tốt nhất là chế phẩm sinh miễn dịch được dùng trong cơ.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch được dùng trong cơ.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch là an toàn đối với lợn nái tơ và/hoặc lợn nái trong thời kỳ có thai và cho con bú.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch là an toàn đối với lợn nái tơ và/hoặc lợn nái mang thai từ 30 ngày, tốt hơn là mang thai từ 40 ngày.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch còn chứa chất mang được dùng.

Thuật ngữ "chất mang được dùng" bao gồm bất kỳ và tất cả các dung môi, môi trường phân tán, chất bao, chất làm ổn định, chất pha loãng, chất bảo quản, chất kháng khuẩn và chất kháng nấm, chất đẳng trương, chất làm chậm quá trình hấp phụ, tá dược, chất kích thích miễn dịch, và tổ hợp của chúng.

Chất pha loãng có thể bao gồm nước, nước muối, dextroza, etanol, glyxerol và chất tương tự. Chất đẳng trương có thể bao gồm natri clorua, dextroza, manitol, sorbitol và lactoza, ngoài các chất khác. Chất làm ổn định bao gồm albumin và các muối kiềm của axit etylendiamintetraxetic, ngoài các chất khác.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chất mang được dùng là carbome.

Tốt hơn là, chế phẩm sinh miễn dịch này có thể còn bao gồm một hoặc nhiều chất điều biến miễn dịch khác như, chẳng hạn interleukin, interferon, hoặc các xytokin khác. Lượng và nồng độ của tá dược và các chất bổ trợ trong ngữ cảnh của sáng chế có thể dễ dàng được xác định bởi chuyên gia trong lĩnh vực.

Theo một số khía cạnh, chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế chứa tá dược. “Tá dược” theo sử dụng ở đây, có thể bao gồm nhôm hydroxit và nhôm phosphat, saponin, ví dụ Quil A, QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge MA), GPI-0100 (Galenica Pharmaceuticals, Inc., Birmingham, AL), nhũ tương nước trong dầu, nhũ tương dầu trong nước, nhũ tương nước trong dầu trong nước. Cụ thể, nhũ tương có thể dựa trên cơ sở dầu parafin lỏng nhẹ (loại trong Dược điển châu Âu); dầu isoprenoit như squalan hoặc squalen; dầu thu được từ quá trình oligome hóa các alken, cụ thể là isobuten hoặc dexten; các este của axit hoặc rượu chứa nhóm alkyl mạch thẳng, cụ thể hơn là dầu thực vật, etyl oleat, propylen glycol di-(caprylat/caprat), glyxeryl tri-(caprylat/caprat) hoặc propylen glycol dioleat; các este của axit béo hoặc rượu béo phân nhánh, cụ thể là este của axit isostearic. Dầu được sử dụng kết hợp với chất nhũ hóa để tạo thành nhũ tương. Chất nhũ hóa tốt hơn là chất hoạt động bề mặt không ion, cụ thể là este của sorbitan, este của manit (ví dụ, anhydromanitol oleat), este của glycol, este của polyglyxerol, este của propylen glycol và este của axit oleic, isostearic, rixinoleic hoặc hydroxystearic, tùy ý được etoxyl hóa, và các copolyme khối polyoxypropylen-polyoxyetylen, cụ thể là các sản phẩm Pluronic, đặc biệt là L121. Xem Hunter *et al.*, The Theory and Practical Application of Adjuvants (Ed. Stewart-Tull, D. E. S.), John Wiley and Sons, NY, pp51-94 (1995) và Todd *et al.*, Vaccine 15:564-570 (1997). Tá dược được nêu làm ví dụ là nhũ tương SPT được mô tả ở trang 147 trong tài liệu “Vaccine Design, The Subunit and Adjuvant Approach” được biên tập bởi tác giả M. Powell và M. Newman, Plenum Press, 1995, và nhũ tương MF59 được mô tả ở trang 183 của cùng tài liệu này.

Một ví dụ khác nữa về tá dược là hợp chất được chọn từ các polyme của axit acrylic hoặc metacrylic và các copolyme của maleic anhydrit và dẫn xuất alkenyl. Hợp chất phụ gia có lợi đó là các polyme của axit acrylic hoặc metacrylic mà được liên kết ngang, đặc biệt là với các polyalkenyl ete của đường hoặc rượu đa chức. Các hợp chất này được biết đến bằng thuật ngữ carbome (Pharmeuropa Vol. 8, No. 2, June 1996). Chuyên gia trong lĩnh vực cũng có thể đề cập đến Patent Mỹ số 2,909,462 mô tả các polyme acrylic như vậy được liên kết ngang với hợp chất được polyhydroxyl hóa có ít nhất là 3 nhóm hydroxyl, tốt hơn là không nhiều hơn 8, nguyên tử hydro của ít nhất là ba nhóm hydroxyl được thay bằng các gốc béo chưa bão hòa có ít nhất là 2 nguyên tử cacbon. Các gốc được ưu tiên là gốc chứa từ 2 đến 4 nguyên tử cacbon, ví

dụ vinyl, alyl và các nhóm chưa bão hòa về liên kết etylen khác. Bản thân các gốc chưa bão hòa có thể chứa các phần tử thể khác, ví dụ như metyl. Các sản phẩm được bán dưới tên Carbopol; (BF Goodrich, Ohio, USA) là đặc biệt thích hợp. Chúng được liên kết ngang với alyl sucroza hoặc với alyl pentaerythritol. Trong số chúng, đáng lưu ý là Carbopol 974P, 934P và 971P. Tốt nhất là sử dụng Carbopol 971P. Trong số các copolyme của các dẫn xuất maleic anhydrit và alkenyl có các copolyme EMA (Monsanto) mà chúng là copolyme của anhydrit maleic và etylen. Việc hòa tan các polyme này trong nước dẫn tới dung dịch axit mà dung dịch này sẽ được trung hòa, tốt hơn tới độ pH sinh lý, để tạo ra dung dịch chất phụ gia mà chính các chế phẩm sinh miễn dịch, chế phẩm miễn dịch hoặc chế phẩm vacxin sẽ được kết hợp vào trong đó.

Các tá dược thích hợp khác bao gồm, nhưng không giới hạn ở, hệ tá dược RIBI (Ribi Inc.), co-polyme khối (CytRx, Atlanta GA), SAF-M (Chiron, Emeryville CA), monophosphoryl lipit A, tá dược Avridine lipit-amin, độc tố đường ruột từ E. coli dễ bị phân hủy bởi nhiệt (dạng tái tổ hợp hoặc dạng khác), độc tố gây bệnh tả, IMS 1314, hoặc muramyl dipeptit, hoặc các xytokin có trong tự nhiên hoặc tái tổ hợp hoặc các chất tương tự của nó hoặc chất kích thích giải phóng xytokin nội sinh, trong số nhiều tá dược khác.

Tá dược được kỳ vọng là có thể được bổ sung với lượng nằm trong khoảng từ 100µg đến 10mg mỗi liều, tốt hơn với lượng nằm trong khoảng từ 100µg đến 10mg mỗi liều, tốt hơn nữa với lượng nằm trong khoảng từ 500µg đến 5mg mỗi liều, thậm chí tốt hơn nữa với lượng nằm trong khoảng từ 750 µg đến 2,5mg mỗi liều và tốt nhất với lượng khoảng 1mg mỗi liều. Theo cách khác, tá dược có thể có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01% đến 50%, tốt hơn ở nồng độ nằm trong khoảng từ 2% đến 30%, tốt hơn nữa ở nồng độ nằm trong khoảng từ 5% đến 25%, thậm chí tốt hơn nữa ở nồng độ nằm trong khoảng từ 7% đến 22% và tốt nhất ở nồng độ nằm trong khoảng từ 10% đến 20% tính theo thể tích của sản phẩm cuối cùng.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch chứa từ khoảng 0,1 µg đến 50 µg kháng nguyên VP2 PPV. Tốt hơn là, chế phẩm sinh miễn dịch chứa kháng nguyên VP2 PPV với lượng nằm trong khoảng từ 0,2 µg đến 40 µg, tốt hơn nữa là với lượng nằm trong khoảng từ 0,3 µg đến 30 µg, tốt hơn nữa là với lượng nằm

trong khoảng từ 0,4 µg đến 20 µg và thậm chí tốt hơn nữa là với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 µg đến 10 µg với lượng được ưu tiên nhất là 0,5 µg, 0,75 µg, 1 µg, 1,25 µg, 1,5 µg, 2 µl, 2,5 µg, 3 µg, 3,5 µg, 4 µg, 4,5 µg, 5 µg, 5,5 µg, 6 µg, 6,5 µg, 7 µg, 7,5 µg, 8 µg, 8,5 µg, 9 µg, 9,5 µg hoặc 10 µg.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch là vaccin.

Thuật ngữ “vaccin” đã được mô tả trên đây. Tuy nhiên, trong trường hợp mà vật chủ biểu hiện đáp ứng miễn dịch bảo vệ tới mức gia tăng tính kháng đối với sự nhiễm mới và/hoặc giảm mức độ nghiêm trọng về mặt lâm sàng của bệnh, chế phẩm sinh miễn dịch được mô tả như là “vaccin”.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch bảo vệ kháng lại thử thách cùng loại và/hoặc thử thách khác loại. Thuận lợi là, dữ liệu thử nghiệm được cung cấp bởi sáng chế bộc lộ rằng vaccin theo sáng chế có phổ bảo vệ rộng vì vaccin bảo vệ kháng lại các chủng thử thách loại ở Bắc Mỹ cũng như ở châu Âu.

Thuật ngữ “bảo vệ” và “phòng ngừa” và “ngăn ngừa” được sử dụng thay thế nhau trong đơn sáng chế này. Các thuật ngữ này đã được xác định trong bản mô tả.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch bảo vệ kháng lại thử thách bằng các thể phân lập Bắc Mỹ và/hoặc châu Âu.

Thuật ngữ “các thể phân lập Bắc Mỹ và châu Âu” đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rõ. Thuật ngữ “các thể phân lập Bắc Mỹ và/hoặc châu Âu” bao hàm tất cả các thể phân lập mà đã được hoặc sẽ được phân lập ở Bắc Mỹ và châu Âu.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch được bảo vệ chéo kháng lại các thể phân lập Bắc Mỹ và/hoặc châu Âu.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch hữu hiệu trong điều trị và/hoặc phòng ngừa dấu hiệu lâm sàng gây ra bởi sự nhiễm PPV ở đối tượng cần điều trị và/hoặc phòng ngừa. Thuật ngữ “điều trị và/hoặc phòng ngừa”, “dấu hiệu lâm sàng” và “cần” đã được xác định.

Hơn nữa, sáng chế còn đề xuất polynucleotit chứa trình tự nucleotit mà mã hóa VP2 PPV như được mô tả ở đây.

Hơn nữa, sáng chế còn đề xuất polynucleotit chứa trình tự nucleotit có độ đồng nhất về trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 91%, ít nhất là 92%, ít nhất là 93%, ít nhất là 94%, ít nhất là 95%, ít nhất là 96%, ít nhất là 97%, ít nhất là 98%, ít nhất là 99%, ít nhất là 99,1%, ít nhất là 99,2%, ít nhất là 99,3%, ít nhất là 99,4%, ít nhất là 99,5%, ít nhất là 99,6%, ít nhất là 99,7%, ít nhất là 99,8%, hoặc ít nhất là 99,9% so với trình tự nucleotit SEQ ID NO:3 hoặc SEQ ID NO:4.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất polynucleotit gồm hoặc chỉ gồm trình tự nucleotit SEQ ID NO:3 hoặc SEQ ID NO:4.

Hơn nữa, sáng chế còn đề xuất vector chứa polynucleotit như được mô tả ở đây.

Theo một khía cạnh của sáng chế, vector là vector biểu hiện.

Theo một khía cạnh của sáng chế, vector là baculovirus.

Thuật ngữ "vector" đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực biết rõ. Thuật ngữ "vector" như nó được biết trong lĩnh vực này đề cập đến cấu trúc polynucleotit, thường là plasmit hoặc virus, được sử dụng để truyền vật liệu di truyền sang tế bào chủ. Vector có thể là, ví dụ, các virus, các plasmit, các cosmit, hoặc thực khuẩn thể. Vector như được sử dụng ở đây có thể gồm ADN hoặc ARN. Theo một số phương án, vector bao gồm ADN. "Vector biểu hiện" là vector có khả năng dẫn hướng sự biểu hiện của protein được mã hóa bởi một hoặc nhiều gen được mang bởi vector khi nó có mặt trong môi trường thích hợp. Tốt hơn là các vector có khả năng tự sao chép. Điển hình là, vector biểu hiện chứa đoạn khởi đầu phiên mã, gen, và đoạn kết thúc phiên mã. Sự biểu hiện gen thường được đặt dưới sự kiểm soát của đoạn khởi đầu, và gen được nêu là "được liên kết một cách hoạt động được với" đoạn khởi đầu.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "liên kết một cách hoạt động được" được dùng để mô tả việc kết nối giữa yếu tố điều hòa và gen hoặc vùng mã hóa của nó. Thông thường, sự biểu hiện gen được đặt dưới sự kiểm soát của một hoặc nhiều yếu tố điều hòa, ví dụ, không giới hạn, trình tự khởi đầu mặc định hoặc cảm

ứng, yếu tố điều hòa đặc hiệu mô, và yếu tố tăng cường. Gen hoặc vùng mã hóa được gọi là "được liên kết một cách hoạt động được với" hoặc "liên kết theo kiểu hoạt động với" hoặc "được kết hợp một cách hoạt động được với" các yếu tố điều hòa, có nghĩa là gen hoặc vùng mã hóa được kiểm soát hoặc được tác động bởi yếu tố điều hòa. Ví dụ, trình tự khởi đầu được liên kết theo kiểu hoạt động được với trình tự mã hóa nếu trình tự khởi đầu này tác động đến sự phiên mã hoặc sự biểu hiện của trình tự mã hóa.

Vector và phương pháp để tạo ra và/hoặc sử dụng vector (hoặc thể tái tổ hợp) để biểu hiện có thể là hoặc tương tự như các phương pháp được bộc lộ trong: Patent Mỹ số 4,603,112, 4,769,330, 5,174,993, 5,505,941, 5,338,683, 5,494,807, 4,722,848, 5,942,235, 5,364,773, 5,762,938, 5,770,212, 5,942,235, 382,425, các đơn công bố PCT số WO 94/16716, WO 96/39491, WO 95/30018; Paoletti, "Applications of pox virus vector to vaccination: An update," PNAS USA 93: 11349-11353, October 1996; Moss, "Genetically engineered poxviruses for recombinant gene expression, vaccination, and safety," PNAS USA 93: 11341-11348, October 1996; Smith et al., patent Mỹ số 4,745,051 (baculovirus tái tổ hợp); Richardson, C. D. (Editor), Methods in Molecular Biology 39, "Baculovirus Expression Protocols" (1995 Humana Press Inc.); Smith et al., "Production of Human Beta Interferon in Insect Cells Infected with a Baculovirus Expression Vector", Molecular and Cellular Biology, December, 1983, Vol. 3, No. 12, p. 2156-2165; Pennock et al., "Strong and Regulated Expression of Escherichia coli B-Galactosidase in Infect Cells with Baculovirus vector," Molecular and Cellular Biology March 1984, Vol. 4, No. 3, p. 406; EPA0 370 573; đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 920,197, nộp 16 tháng 10 năm 1986; công bố đơn châu Âu số 0 265 785; patent Mỹ số 4,769,331 (herpesvirus tái tổ hợp); Roizman, "The function of herpes simplex virus genes: A primer for genetic engineering of novel vectors," PNAS USA 93:11307-11312, October 1996; Andreansky et al., "The application of genetically engineered herpes simplex viruses to the treatment of experimental brain tumors," PNAS USA 93: 11313-11318, October 1996; Robertson et al., "Epstein-Barr virus vectors for gene delivery to B lymphocytes", PNAS USA 93: 11334-11340, October 1996; Frolov et al., "Alphavirus-based expression vectors: Strategies and applications," PNAS USA 93: 11371-11377, October 1996; Kitson et al., J. Virol. 65, 3068-3075, 1991; patent Mỹ số 5,591,439, 5,552,143; WO 98/00166; loạt đơn Mỹ số 08/675,556, và 08/675,566 cả hai nộp ngày 03 tháng 07 năm 1996 (adenovirus

tái tổ hợp); Grunhaus et al., 1992, "Adenovirus as cloning vector," *Seminars in Virology* (Vol. 3) p. 237-52, 1993; Ballay et al. *EMBO Journal*, vol. 4, p. 3861-65, Graham, *Tibtech* 8, 85-87, April, 1990; Prevec et al., *J. Gen Virol.* 70, 42434; PCT WO 91/11525; Felgner et al. (1994), *J. Biol. Chem.* 269, 2550-2561, *Science*, 259: 1745-49, 1993; và McClements et al., "Immunization with DNA vaccines encoding glycoprotein D or glycoprotein B, alone or in combination, induces protective immunity in animal models of herpes simplex virus-2 disease", *PNAS USA* 93: 11414-11420, October 1996; và patent Mỹ số 5,591,639, 5,589,466, và 5,580,859, cũng như công bố quốc tế số WO 90/11092, WO 93/19183, WO 94/21797, WO 95/11307, WO 95/20660; Tang et al., *Nature*, và Furth et al., *Analytical Biochemistry*, liên quan đến các vector biểu hiện ADN, và các tài liệu khác. Cũng xem trong tài liệu WO 98/33510; Ju et al., *Diabetologia*, 41: 736-739, 1998 (hệ biểu hiện virut chậm); Sanford et al., patent Mỹ số 4,945,050; Fischbach et al. (Intracel); WO 90/01543; Robinson et al., *Seminars in Immunology* vol. 9, pp. 271-283 (1997), (hệ vector ADN); Szoka et al., patent Mỹ số 4,394,448 (phương pháp cài xen ADN vào các tế bào sống); McCormick et al., patent Mỹ số 5,677,178 (sử dụng các virut gây bệnh tế bào); và patent Mỹ số 5,928,913 (các vector để phân bố gen); cũng như các tài liệu khác viện dẫn ở đây.

Các thuật ngữ "yếu tố điều hòa" và "yếu tố kiểm soát sự biểu hiện" được sử dụng thay thế cho nhau và để chỉ các phân tử axit nucleic mà có thể ảnh hưởng đến sự biểu hiện của trình tự mã hóa được liên kết một cách hoạt động được trong sinh vật chủ cụ thể. Các thuật ngữ này được sử dụng rộng và bao hàm tất cả các yếu tố thúc đẩy hoặc điều hòa quá trình phiên mã, bao gồm trình tự khởi đầu, yếu tố lõi cần cho sự tương tác cơ bản của polymeraza ARN và yếu tố phiên mã, yếu tố ngược dòng, yếu tố tăng cường, và yếu tố đáp ứng. Các yếu tố điều hòa làm ví dụ ở sinh vật nhân sơ bao gồm trình tự khởi đầu, trình tự chỉ huy và vị trí gắn kết ribosom. Các yếu tố điều hòa được sử dụng trong tế bào nhân chuẩn có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, trình tự kiểm soát phiên mã và dịch mã, như trình tự khởi đầu, yếu tố tăng cường, tín hiệu ghép nối, tín hiệu polyadenyl hóa, yếu tố kết thúc, tín hiệu phân giải protein, các vị trí nội nhập ribosom bên trong (internal ribosom-entry sites - IRES), trình tự 2A, và các yếu tố tương tự, mà tạo ra và/hoặc điều hòa sự biểu hiện của trình tự mã hóa và/hoặc sự sản xuất polypeptit được mã hóa trong tế bào chủ.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "trình tự khởi đầu" ("promoter") là trình tự nucleotit cho phép sự gắn kết của ARN polymeraza và dẫn hướng sự phiên mã của gen. Thông thường, trình tự khởi đầu được nằm trong vùng - không mã hóa 5' của gen, gần với vị trí khởi đầu phiên mã của gen. Các trình tự thành phần trong trình tự khởi đầu mà có chức năng khởi đầu phiên mã thường được mô tả đặc điểm bằng trình tự nucleotit liên ứng. Ví dụ về các trình tự khởi đầu bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các trình tự khởi đầu từ vi khuẩn, nấm men, thực vật, virus, và động vật có vú (bao gồm người). Trình tự khởi đầu có thể cảm ứng, kiểm chế và/hoặc mặc định. Trình tự khởi đầu cảm ứng khởi đầu sự tăng mức độ phiên mã từ ADN dưới sự kiểm soát của chúng để đáp ứng với một số thay đổi trong điều kiện nuôi cấy, như thay đổi nhiệt độ.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "yếu tố tăng cường" đề cập đến loại yếu tố điều hòa mà có thể gia tăng hiệu suất phiên mã, bất kể khoảng cách hay sự định hướng của yếu tố tăng cường so với vị trí bắt đầu phiên mã.

Việc tạo ra vectơ virus có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các kỹ thuật công nghệ di truyền thích hợp bất kỳ đã biết rõ trong lĩnh vực này, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các kỹ thuật chuẩn về phân giải endonucleaza giới hạn, nối, biến nạp, tinh chế plasmit và giải trình tự ADN, ví dụ như được mô tả trong Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y. (1989)).

Thuật ngữ "baculovirus" đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực biết rõ. Tuy nhiên, như được sử dụng ở đây "baculovirus" cụ thể nghĩa là hệ để sản xuất protein mong muốn trong tế bào côn trùng bằng cách sử dụng vectơ baculovirus tái tổ hợp được thiết kế để biểu hiện protein này. Hệ biểu hiện baculovirus thường gồm tất cả các phần tử cần thiết để biểu hiện được protein tái tổ hợp trong các tế bào côn trùng, và thường gồm việc thiết kế vectơ baculovirus để biểu hiện protein mong muốn, đưa vectơ baculovirus đã thiết kế vào tế bào côn trùng, nuôi cấy tế bào côn trùng chứa vectơ baculovirus đã thiết kế trong môi trường sinh trưởng thích hợp sao cho protein mong muốn được biểu hiện, và thu hồi protein. Thông thường, việc thiết kế vectơ baculovirus bao gồm tạo cấu trúc và tách các baculovirus tái tổ hợp trong đó trình tự mã hóa đối với gen đã chọn được chèn vào sau đoạn khởi đầu dùng cho gen

virut không thiết yếu, trong đó hầu hết các hệ biểu hiện baculovirut hiện dùng dựa trên trình tự của virut đa diện nhân *Autographa californica* (AcMNPV) ((Virology 202 (2), 586-605 (1994), NCBI Accession No.: NC_001623). Các hệ biểu hiện baculovirut đã được biết rõ trong lĩnh vực này và đã được mô tả, ví dụ, trong tài liệu “Baculovirut Expression Vectors: A Laboratory Manual” của David R. O'Reilly, Lois Miller, Verne Luckow, pub. by Oxford Univ. Press (1994), “The Baculovirut Expression System: A Laboratory Guide” của Linda A. King, R. D. Possee, nhà xuất bản Chapman & Hall (1992). Một ví dụ minh họa không hạn chế về hệ baculovirut để sản xuất protein tái tổ hợp được mô tả chẳng hạn trong WO 2006/072065 A2.

Các vectơ baculovirut ưu tiên bao gồm baculovirut như BaculoGold (BD Biosciences Pharmingen, San Diego, Calif.) hoặc DiamondBac (Sigma Aldrich), cụ thể với điều kiện các tế bào sản xuất là các tế bào côn trùng. Mặc dù hệ biểu hiện baculovirut là được ưu tiên, song người có kỹ năng trong lĩnh vực có thể hiểu rằng, các hệ biểu hiện khác cũng được sử dụng cho các mục đích của sáng chế.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất tế bào chứa polynucleotit hoặc vectơ như được mô tả ở đây. Tốt hơn là, vectơ là baculovirut.

Thuật ngữ “tế bào” đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực biết rõ. Thuật ngữ “tế bào” bao hàm tế bào nhân chuẩn như tế bào động vật, tế bào sinh vật nguyên sinh, tế bào thực vật, hoặc tế bào nấm. Tốt hơn là, tế bào nhân chuẩn là tế bào động vật có vú như CHO, BHK hoặc COS, hoặc tế bào nấm như *Saccharomyces cerevisiae*, hoặc tế bào côn trùng như Sf9.

Theo một khía cạnh của sáng chế, tế bào là tế bào côn trùng.

“Tế bào côn trùng” như được sử dụng ở đây nghĩa là tế bào hoặc giống nuôi cấy tế bào thu được từ loài côn trùng. Theo sáng chế các tế bào côn trùng thu được từ loài *Spodoptera frugiperda* và *Trichoplusia ni* đặc biệt được quan tâm.

Tốt hơn nếu tế bào côn trùng, như được đề cập trong bản mô tả, là tế bào *Spodoptera frugiperda* (Sf) hoặc tế bào từ dòng tế bào thu được từ *Spodoptera frugiperda*, và tốt hơn nữa là được chọn từ nhóm gồm tế bào Sf9 và tế bào Sf+. Các tế bào tế bào côn trùng, như được đề cập trong bản mô tả, lần lượt tốt hơn là tế bào

Spodoptera frugiperda (Sf) hoặc tế bào từ dòng tế bào thu được từ *Spodoptera frugiperda*, và tốt hơn nữa là được chọn từ nhóm gồm tế bào Sf9 và tế bào Sf+.

Theo một khía cạnh của sáng chế, tế bào côn trùng được chọn từ nhóm bao gồm các tế bào Sf9 và các tế bào Sf+.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất hạt giống virus chứa VP2 PPV như được mô tả ở đây.

Thuật ngữ “hạt giống virus” (virus like particle - VLP) bao hàm vỏ virus trống, không sao chép từ virus. Các VLP thường bao gồm một hoặc nhiều protein virus, như, nhưng không chỉ giới hạn ở các protein được đề cập là protein capsit, protein màng bao, protein vỏ, protein bề mặt và/hoặc protein bao bọc, hoặc các polypeptit tạo thành hạt thu được từ các protein này. Các VLP có thể tự hình thành khi biểu hiện tái tổ hợp protein trong hệ biểu hiện thích hợp. Sự có mặt của VLP sau khi biểu hiện tái tổ hợp các protein virus có thể được phát hiện bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường đã biết trong lĩnh vực này, như bằng kính hiển vi điện tử, tinh thể học tia X, và các kỹ thuật tương tự. Xem, ví dụ, Baker et al. , *Biophys. J.* (1991) 60 :1445-1456; Hagensee et al. , *J. Virol.* (1994) 68:4503-4505. Ví dụ, kỹ thuật kính hiển vi điện tử đông lạnh có thể được thực hiện trên các mẫu nước thủy tinh hóa của chế phẩm VLP cần kiểm tra, và hình ảnh được ghi lại trong điều kiện phơi sáng thích hợp.

Thuật ngữ “hạt giống virus” (VLP) còn bao hàm các VLP mà bao gồm nhiều VP2 PPV.

Theo một khía cạnh của sáng chế, hạt giống virus bao gồm nhiều VP2 PPV như được mô tả ở đây.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất VP2 PPV như được mô tả ở đây, bao gồm việc chuyển nhiễm tế bào bằng vectơ như được mô tả ở đây.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất VP2 PPV như được mô tả ở đây, bao gồm bước gây nhiễm tế bào, tốt hơn là tế bào côn trùng, bằng baculovirus như được mô tả ở đây.

Các chế phẩm có thể, nếu muốn, được trình bày trong gói hoặc thiết bị phân phối mà có thể chứa một hoặc nhiều dạng liều đơn vị chứa thành phần hoạt tính. Gói này có thể ví dụ bao gồm màng kim loại hoặc chất dẻo, như ví phồng. Gói hoặc thiết bị phân phối có thể kèm theo hướng dẫn sử dụng tốt hơn là để dùng cho động vật, đặc biệt là lợn. Đi kèm với (các) vật chứa đó có thể là một thông báo theo mẫu do cơ quan chính phủ quy định về việc sản xuất, sử dụng hoặc bán dược phẩm hoặc sản phẩm sinh học, thông báo này phản ánh sự phê chuẩn của cơ quan này về việc sản xuất, sử dụng hoặc bán để dùng cho người.

Do đó, sáng chế đề xuất kit chứa VP2 PPV hoặc chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây.

Theo một khía cạnh của sáng chế, kit này còn bao gồm tờ hướng dẫn điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh của lợn.

Theo một khía cạnh của sáng chế, kit này còn bao gồm tờ hướng dẫn điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh nhiễm PPV.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, virus PPV theo sáng chế đã được làm bất hoạt dẫn đến virus được bất hoạt toàn bộ với protein virus 2 (VP2) như được mô tả ở đây.

Do đó, sáng chế còn đề cập đến parvovirus lợn (PPV) bất hoạt có protein virus 2 (VP2) có

- gốc axit glutamic hoặc gốc glutamat ở vị trí axit amin 228, và/hoặc
- gốc serin ở vị trí axit amin 414, và/hoặc
- gốc glutamin ở vị trí axit amin 419, và/hoặc
- gốc threonin ở vị trí axit amin 436,

trong đó việc đánh số vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của VP2 PPV kiểu đại.

Hơn nữa, sáng chế còn đề cập đến parvovirus lợn (PPV) bất hoạt có protein virus 2 (VP2) gồm hoặc chỉ gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất về trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 91%, ít nhất là 92%, ít nhất là 93%, ít nhất là 94%, ít nhất là 95%,

ít nhất là 96%, ít nhất là 97%, ít nhất là 98%, ít nhất là 99%, ít nhất là 99,1%, ít nhất là 99,2%, ít nhất là 99,3%, ít nhất là 99,4%, ít nhất là 99,5%, ít nhất là 99,6%, ít nhất là 99,7%, ít nhất là 99,8%, hoặc ít nhất là 99,9% so với trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16.

Hơn nữa, sáng chế cũng đề cập đến chế phẩm sinh miễn dịch chứa parvovirus lợn (PPV) bất hoạt có protein virus 2 (VP2) như được mô tả ở đây.

Do đó, sáng chế còn đề cập đến chế phẩm sinh miễn dịch chứa parvovirus lợn (PPV) bất hoạt có protein virus 2 (VP2) có

- gốc axit glutamic hoặc gốc glutamat ở vị trí axit amin 228, và/hoặc
- gốc serin ở vị trí axit amin 414, và/hoặc
- gốc glutamin ở vị trí axit amin 419, và/hoặc
- gốc threonin ở vị trí axit amin 436,

trong đó việc đánh số vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của VP2 PPV kiểu đại.

Do đó, sáng chế còn đề cập đến chế phẩm sinh miễn dịch chứa parvovirus lợn (PPV) bất hoạt có protein virus 2 (VP2) gồm hoặc chỉ gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất về trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 91%, ít nhất là 92%, ít nhất là 93%, ít nhất là 94%, ít nhất là 95%, ít nhất là 96%, ít nhất là 97%, ít nhất là 98%, ít nhất là 99%, ít nhất là 99,1%, ít nhất là 99,2%, ít nhất là 99,3%, ít nhất là 99,4%, ít nhất là 99,5%, ít nhất là 99,6%, ít nhất là 99,7%, ít nhất là 99,8%, hoặc ít nhất là 99,9% so với trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16.

Phương pháp bất hoạt thông thường bất kỳ có thể được sử dụng cho mục đích theo sáng chế. Vì vậy, có thể thực hiện bất hoạt bằng phương pháp xử lý hóa học và/hoặc xử lý vật lý mà chuyên gia trong lĩnh vực này đã biết rõ. Phương pháp làm bất hoạt được ưu tiên bao gồm bổ sung etylenimin hai hợp phần được đóng vòng (BEI) bao gồm bổ sung dung dịch gồm 2-bromoetylenamin hydrobromua (BEA), mà đã được đóng vòng thành etylenimin hai hợp phần (BEI). Các tác nhân bất hoạt hóa học được ưu tiên khác bao gồm, nhưng không giới hạn ở, Triton X-100, Natri deoxycholat, xetyltrimetylamonium bromua, β -Propiolacton, Thimerosal, Phenol và

Formaldehyt (Formalin). Tuy nhiên, quá trình bất hoạt cũng có thể bao gồm bước trung hòa. Các tác nhân trung hòa được ưu tiên bao gồm, nhưng không giới hạn ở, natri thiosulfat, natri bisulfite và các chất tương tự.

Điều kiện bất hoạt bằng formalin bao gồm nồng độ formalin nằm trong khoảng từ 0,02% (thể tích/thể tích) đến 2,0% (thể tích/thể tích), tốt hơn nữa là từ khoảng 0,1% (thể tích/thể tích) đến 1,0% (thể tích/thể tích), cũng tốt hơn nữa là từ khoảng 0,15% (thể tích/thể tích) đến 0,8% (thể tích/thể tích), thậm chí tốt hơn nữa là từ khoảng 0,16% (thể tích/thể tích) đến 0,6% (thể tích/thể tích), và tốt nhất là khoảng 0,2% (thể tích/thể tích) đến 0,4% (thể tích/thể tích). Thời gian ủ tùy thuộc vào sự kháng của PPV. Nhìn chung, quá trình bất hoạt được thực hiện cho đến khi không phát hiện thấy sự phát triển của PPV trong hệ thống nuôi cấy thích hợp.

Tốt hơn là, PPV bất hoạt theo sáng chế là được bất hoạt bằng formalin, tốt hơn là bằng cách sử dụng các nồng độ như đã mô tả trên đây.

PPV bất hoạt theo sáng chế có thể được kết hợp vào liposom bằng cách sử dụng kỹ thuật đã biết như kỹ thuật được mô tả trong Nature, 1974, 252, 252-254 hoặc Journal of Immunology, 1978, 120, 1109-13. Theo một phương án khác của sáng chế, PPV bất hoạt theo sáng chế có thể được liên hợp với các hợp chất sinh học thích hợp như polysaccharit, peptit, protein, hoặc các hợp chất tương tự, hoặc tổ hợp của chúng.

Sáng chế còn đề cập đến việc sử dụng:

- VP2 PPV như được mô tả ở đây,
- chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây,
- polynucleotit như được mô tả ở đây,
- vectơ như được mô tả ở đây,
- tế bào như được mô tả ở đây,
- baculovirus như được mô tả ở đây, và/hoặc
- hạt giống virus như được mô tả ở đây

để bào chế thuốc, tốt hơn là vaccin.

Sáng chế còn đề cập đến việc sử dụng VP2 PPV như được mô tả ở đây hoặc chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây để bào chế thuốc để điều trị và/hoặc

ngăn ngừa nhiễm PPV, giảm, ngăn ngừa và/hoặc điều trị các dấu hiệu lâm sàng gây ra bởi sự nhiễm PPV và/hoặc để điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh gây ra bởi sự nhiễm PPV.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất phương pháp gây miễn dịch ở đối tượng bao gồm việc cho đối tượng này dùng chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây.

Thuật ngữ "gây miễn dịch" đề cập đến việc gây miễn dịch chủ động bằng cách đưa chế phẩm sinh miễn dịch vào đối tượng cần được gây miễn dịch, bằng cách đó gây ra đáp ứng miễn dịch chống lại kháng nguyên có chứa trong chế phẩm sinh miễn dịch này.

Tốt hơn là, việc gây miễn dịch dẫn đến làm giảm tỷ lệ mắc phải sự nhiễm PPV đặc thù trong đàn và/hoặc dẫn đến làm giảm mức độ nghiêm trọng của các dấu hiệu lâm sàng gây ra bởi hoặc có liên quan đến nhiễm PPV đặc thù.

Ngoài ra, việc gây miễn dịch cho đối tượng có nhu cầu bằng chế phẩm sinh miễn dịch đề cập ở đây, dẫn đến việc ngăn ngừa sự nhiễm PPV ở đối tượng. Thậm chí tốt hơn nữa là, việc gây miễn dịch dẫn đến đáp ứng miễn dịch hiệu quả, kéo dài, chống lại sự nhiễm PPV. Quãng thời gian nêu trên được hiểu rằng sẽ kéo dài trên 1 tháng, tốt hơn là trên 2 tháng, tốt hơn nữa là trên 3 tháng, tốt hơn nữa là trên 4 tháng, tốt hơn nữa là trên 5 tháng, tốt hơn nữa là trên 6 tháng. Cần hiểu rằng, việc gây miễn dịch có thể không hữu hiệu trên tất cả các đối tượng được gây miễn dịch. Tuy nhiên, thuật ngữ này đòi hỏi rằng một phần đáng kể đối tượng của đàn được gây miễn dịch một cách hữu hiệu.

Tốt hơn là, một đàn gồm các đối tượng dự định trong sáng chế này, tức là không được gây miễn dịch, sẽ phát triển các dấu hiệu lâm sàng được gây ra bởi hoặc có liên quan đến nhiễm PPV. Nhóm đối tượng có được gây miễn dịch một cách hiệu quả hay không có thể được xác định không cần làm gì thêm bởi người có kỹ năng trong lĩnh vực. Tốt hơn, việc gây miễn dịch sẽ có hiệu quả nếu như các dấu hiệu lâm sàng ở ít nhất 33%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 80%, ít nhất 90%, thậm chí tốt hơn nữa ở ít nhất 95% và tốt nhất ở 100% đối tượng của đàn đã nêu được giảm về tỷ lệ mắc phải hoặc mức độ nghiêm trọng ít nhất là 10%, tốt hơn nữa ít nhất là 20%, thậm chí tốt hơn nữa ít nhất là 30%, thậm chí tốt hơn nữa ít nhất là 40%, thậm

chỉ tốt hơn nữa ít nhất là 50%, thậm chí tốt hơn nữa ít nhất là 60%, thậm chí tốt hơn nữa ít nhất là 70%, thậm chí tốt hơn nữa ít nhất là 80%, thậm chí tốt hơn nữa ít nhất là 90%, thậm chí tốt hơn nữa ít nhất là 95% và tốt nhất là 100% so với các đối tượng mà không được gây miễn dịch hoặc được gây miễn dịch bằng chế phẩm sinh miễn dịch đã có sẵn trước sáng chế nhưng sau đó bị nhiễm PPV đặc thù.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị và/hoặc ngăn ngừa các dấu hiệu lâm sàng gây ra bởi sự nhiễm PPV ở đối tượng có nhu cầu, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu trong điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây.

Thuận lợi là, như được thể hiện trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế ở đây, chế phẩm sinh miễn dịch như được đề xuất ở đây đã được chứng minh là có hiệu quả trong điều trị và/hoặc ngăn ngừa các dấu hiệu lâm sàng gây ra bởi sự nhiễm PPV ở đối tượng có nhu cầu.

Thuật ngữ “điều trị và/hoặc phòng ngừa” dùng để chỉ sự giảm tỷ lệ mắc phải sự nhiễm PPV đặc thù trong đàn và/hoặc sự giảm mức độ nghiêm trọng của dấu hiệu lâm sàng gây ra bởi hoặc có liên quan đến nhiễm PPV đặc thù. Vì vậy, thuật ngữ “điều trị và/hoặc phòng ngừa” cũng dùng để chỉ sự giảm số lượng động vật trong đàn bị nhiễm PPV đặc thù (= sự giảm tỷ lệ mắc phải sự nhiễm PPV đặc thù) và/hoặc để chỉ sự giảm mức độ nghiêm trọng của dấu hiệu lâm sàng thường có liên quan đến hoặc gây ra bởi sự nhiễm PPV ở một nhóm gồm các động vật mà các động vật này nhận một lượng hữu hiệu chế phẩm sinh miễn dịch như được đề xuất trong bản mô tả này so với nhóm gồm các động vật mà các động vật này không nhận chế phẩm sinh miễn dịch này.

“Điều trị và/hoặc phòng ngừa” thường bao gồm sử dụng lượng hữu hiệu chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế cho đối tượng hoặc đàn gồm các đối tượng cần điều trị và/hoặc phòng ngừa hoặc đối tượng mà có thể có lợi từ việc điều trị/phòng ngừa này. Thuật ngữ “điều trị” dùng để chỉ việc sử dụng lượng hữu hiệu chế phẩm sinh miễn dịch khi đối tượng hoặc ít nhất một số động vật thuộc đàn đã bị nhiễm PPV này và trong đó các động vật đã thể hiện một số dấu hiệu lâm sàng gây ra bởi hoặc có liên quan đến sự nhiễm PPV này. Thuật ngữ “phòng ngừa” dùng để chỉ việc dùng

cho một đối tượng trước khi đối tượng này bị nhiễm PPV hoặc ít nhất trong đó động vật này hoặc không động vật nào trong số các động vật trong nhóm gồm các động vật không thể hiện dấu hiệu lâm sàng bất kỳ được gây ra bởi hoặc có liên quan đến sự nhiễm PPV này. Thuật ngữ “phòng ngừa” và “ngăn ngừa” được sử dụng thay thế cho nhau trong đơn sáng chế này.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu" như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là, nhưng không giới hạn ở, lượng kháng nguyên mà nó gây ra hoặc có khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch ở đối tượng. Lượng hữu hiệu như vậy có khả năng làm giảm tỷ lệ mắc phải bệnh nhiễm PPV đặc thù trong đàn và/hoặc làm giảm mức độ nghiêm trọng của dấu hiệu lâm sàng của bệnh nhiễm PPV đặc thù.

Tốt hơn là, dấu hiệu lâm sàng được giảm về tỷ lệ mắc phải hoặc mức độ nghiêm trọng ít nhất 10%, tốt hơn nữa là giảm ít nhất 20%, cũng tốt hơn nữa là giảm ít nhất 30%, thậm chí tốt hơn nữa là giảm ít nhất 40%, cũng tốt hơn nữa là ít nhất 50%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 60%, cũng tốt hơn nữa là ít nhất 70%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 80%, cũng tốt hơn nữa là ít nhất 90%, cũng tốt hơn nữa là ít nhất 95% và tốt nhất là giảm 100% so với đối tượng không được điều trị hoặc được điều trị bằng chế phẩm sinh miễn dịch mà có sẵn trước sáng chế nhưng sau đó bị nhiễm bởi PPV đặc thù.

Thuật ngữ “dấu hiệu lâm sàng” như được sử dụng ở đây dùng để chỉ triệu chứng nhiễm PPV của đối tượng. Dấu hiệu lâm sàng của sự nhiễm tùy thuộc vào tác nhân gây bệnh được lựa chọn. Ví dụ về các dấu hiệu lâm sàng như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chứng giảm bạch cầu tạm thời và chứng suy giảm khả năng sinh sản được đặc trưng bằng sự nhiễm và chết ở phôi và/hoặc thai, hoặc kết hợp các triệu chứng này. Ví dụ về các dấu hiệu lâm sàng mà trực tiếp có thể quan sát được bao gồm giảm cỡ lứa đẻ, tăng hoại tử khô đối với phôi hoặc thai trên một lứa đẻ, tự phân hủy phôi hoặc thai, giảm số lượng phôi hoặc thai, giảm trọng lượng phôi hoặc thai và các triệu chứng tương tự hoặc các kết hợp của chúng. Các ví dụ khác về các dấu hiệu lâm sàng như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tăng virus huyết, tăng tải lượng virus trong mô đích và máu, tăng sự lan truyền PPV đến các con vật cùng đàn và các triệu chứng tương tự hoặc các kết hợp của các triệu chứng này.

Tốt hơn là, dấu hiệu lâm sàng được giảm về tỷ lệ mắc phải hoặc mức độ nghiêm trọng ở đối tượng được điều trị so với đối tượng không được điều trị hoặc được điều trị bằng chế phẩm sinh miễn dịch mà có sẵn trước sáng chế nhưng sau đó bị nhiễm bởi PPV đặc thù dùng để chỉ chứng giảm bạch cầu tạm thời và chứng suy giảm khả năng sinh sản được đặc trưng bằng sự nhiễm và chết ở phôi và/hoặc thai, hoặc kết hợp các triệu chứng này.

Thuật ngữ “cần” hoặc “có nhu cầu”, như được sử dụng ở đây có nghĩa là việc sử dụng/điều trị có liên quan đến việc tăng cường hoặc cải thiện sức khỏe hoặc dấu hiệu lâm sàng hoặc ảnh hưởng chữa bệnh tích cực khác lên sức khỏe của động vật (gồm cả phôi hoặc thai của nó) mà nhận chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế.

Thuật ngữ “giảm” hoặc “được làm giảm” hoặc “sự làm giảm” được sử dụng thay thế nhau trong bản mô tả này. Thuật ngữ “làm giảm” có nghĩa là dấu hiệu lâm sàng được giảm đi ít nhất 10%, tốt hơn nữa là giảm ít nhất 20%, cũng tốt hơn nữa là ít nhất 30%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 40%, cũng tốt hơn nữa là ít nhất 50%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 60%, cũng tốt hơn nữa là ít nhất 70%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 80%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 90%, cũng tốt hơn nữa là ít nhất 95%, tốt nhất là giảm 100% so với đối tượng không được điều trị (không được gây miễn dịch) nhưng sau đó bị nhiễm PPV đặc thù.

Hơn nữa, sáng chế còn đề xuất phương pháp giảm chứng suy giảm khả năng sinh sản ở đối tượng, so với đối tượng thuộc nhóm đối chứng không được gây miễn dịch thuộc cùng loài, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu trong điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây.

Thuận lợi là, như được thể hiện trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế ở đây, chế phẩm sinh miễn dịch như được đề xuất ở đây đã được chứng minh là có hiệu quả trong việc giảm chứng suy giảm khả năng sinh sản.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất phương pháp giảm sự chết phôi và thai ở đối tượng, so với đối tượng thuộc nhóm đối chứng không được gây miễn dịch thuộc cùng loài, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu trong điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây.

Thuận lợi là, như được thể hiện trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế ở đây, chế phẩm sinh miễn dịch như được đề xuất ở đây đã được chứng minh là có hiệu quả trong việc làm giảm sự chết phôi và thai.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất phương pháp để gây miễn dịch hoạt tính cho lợn sinh sản (lợn nái và lợn nái tơ) để bảo vệ phôi và thai kháng lại bệnh nhiễm parvovirut lợn, phương pháp này bao gồm việc cho các con lợn này (lợn nái và lợn nái tơ) dùng lượng hữu hiệu trong điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch như được mô tả ở đây.

Theo một khía cạnh của sáng chế, đối tượng đã nêu được chọn từ nhóm gồm lợn, trâu bò, mèo và chó.

Tốt hơn là, đối tượng này là lợn. Lợn được hiểu rằng gồm các con đực và con cái. Tinh dịch có thể chứa PPV và, vì lý do này, các con vật sinh sản đực và cái được bao hàm bằng từ “lợn”. Do đó, từ “lợn” bao gồm các con đực như lợn đực cũng như các con cái như lợn nái tơ và lợn nái.

Thuật ngữ “lợn nái tơ”, như được sử dụng ở đây, đề cập đến lợn, tốt hơn là lợn, trước và trong lần mang thai/thai kỳ thứ nhất. Ngược lại, thuật ngữ “lợn nái”, như được sử dụng ở đây, đề cập đến lợn, tốt hơn là lợn, sau lần đẻ thứ nhất, – khi kết quả của lần mang thai/thai kỳ thứ nhất của nó là tích cực.

Theo một khía cạnh của sáng chế, đối tượng này là lợn, tốt hơn là lợn nái tơ và/hoặc lợn nái.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch được dùng một lần.

Cần hiểu rằng liều đơn là được dùng chỉ một lần.

Thể tích liều trên mỗi đối tượng tùy thuộc vào đường chủng ngừa và độ tuổi của đối tượng. Tốt hơn là, liều đơn có tổng thể tích nằm trong khoảng từ 0,2 ml đến 2,5 ml, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,2 ml đến 2,0 ml, thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,2 ml đến 1,75 ml, cũng tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,2 ml đến 1,5 ml, thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,4 ml đến 1,25 ml, thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,4 ml đến 1,0 ml với liều đơn 0,5 ml

hoặc liều đơn 1,0 ml được ưu tiên nhất. Liều đơn được ưu tiên nhất có tổng thể tích là 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml hoặc 2 ml.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch được dùng ở hai hoặc nhiều hơn hai liều.

Như được thể hiện trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch như được đề xuất ở đây đã được chứng minh là có hiệu quả sau khi dùng hai liều cho đối tượng có nhu cầu.

Tuy nhiên, chế phẩm sinh miễn dịch có thể được dùng ở hai hoặc nhiều hơn hai liều, với liều thứ nhất được dùng trước khi dùng liều thứ hai (liều tăng cường). Tốt hơn là, liều thứ hai được dùng ít nhất là 15 ngày sau liều thứ nhất. Tốt hơn nữa là, liều thứ hai được dùng trong khoảng từ ngày 15 ngày đến 40 ngày sau liều thứ nhất. Thậm chí tốt hơn nữa là, liều thứ hai được dùng ít nhất là 17 ngày sau liều thứ nhất. Thậm chí tốt hơn nữa là, liều thứ hai được dùng trong khoảng 17 ngày đến 30 ngày sau liều thứ nhất. Thậm chí tốt hơn nữa là, liều thứ hai được dùng ít nhất là 19 ngày sau liều thứ nhất. Thậm chí tốt hơn nữa là, liều thứ hai được dùng trong khoảng 19 ngày đến 25 ngày sau liều thứ nhất. Tốt nhất là liều thứ hai được dùng ít nhất là 21 ngày sau liều thứ nhất. Thậm chí tốt hơn nữa là, liều thứ hai được dùng ở khoảng 21 ngày sau liều thứ nhất hoặc ở 21 ngày sau liều thứ nhất. Theo một khía cạnh được ưu tiên của phác đồ dùng hai lần, cả hai liều thứ nhất và thứ hai của chế phẩm sinh miễn dịch được dùng cùng một lượng. Tốt hơn là, mỗi liều với lượng được ưu tiên như đã chỉ ra ở trên, với liều 1 ml hoặc 2 ml cho liều thứ nhất và liều thứ hai là được ưu tiên nhất. Ngoài phác đồ liều thứ nhất và liều thứ hai, phương án thay thế bao gồm các liều tiếp theo nữa. Ví dụ, liều thứ ba, thứ tư hoặc thứ năm có thể được dùng theo các khía cạnh này. Tốt hơn là, phác đồ các liều thứ ba, thứ tư và thứ năm tiếp theo được dùng với cùng lượng như liều thứ nhất, với khoảng thời gian giữa các liều phù hợp với thời gian giữa liều thứ nhất và liều thứ hai nêu trên.

Thể tích liều trên mỗi đối tượng tùy thuộc vào đường chủng ngừa và độ tuổi của đối tượng. Tốt hơn là, tổng thể tích là nằm trong khoảng từ 0,2 ml đến 5 ml, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,5 ml đến 3,0 ml, thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong

khoảng từ 1,0 ml đến 2,5 ml, thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 1,0 ml đến 2,0 ml. Được ưu tiên nhất là thể tích mỗi liều là 1 ml, 1,5 ml, 2 ml hoặc 2,5 ml.

Tốt hơn là, chế phẩm sinh miễn dịch được dùng tại chỗ hoặc toàn thân. Đường dùng thích hợp thường được sử dụng là dùng qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa, như dùng trong mũi, trong tĩnh mạch, trong da, qua da, trong cơ, trong màng bụng, dưới da, cũng như là xông hít. Tuy nhiên, tùy thuộc vào bản chất và phương thức tác động của hợp chất, chế phẩm sinh miễn dịch cũng có thể được sử dụng qua các đường dùng khác. Ví dụ, các đường khác như vậy bao gồm đường trong da, đường tĩnh mạch, trong mạch máu, trong động mạch, trong phúc mạc, trong màng não tủy, trong khí quản, đường trong da, trong tim, trong thùy, trong tủy sống, trong phổi, trong trực tràng và trong âm đạo. Tuy nhiên, tốt hơn là chế phẩm sinh miễn dịch được dùng dưới da hoặc trong cơ. Tốt nhất là chế phẩm sinh miễn dịch được dùng trong cơ.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch này được dùng trong cơ.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch này được dùng cho lợn nái tơ và/hoặc lợn nái.

Tốt hơn là, chế phẩm sinh miễn dịch được dùng cho lợn nái tơ và/hoặc lợn nái ít nhất là 3 tháng tuổi, tốt hơn là ít nhất là 4 tháng tuổi, tốt nhất là ít nhất là 5 tháng tuổi.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch này được dùng cho lợn nái tơ và/hoặc lợn nái ít nhất là 3 tháng tuổi.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch này được dùng cho lợn nái tơ và/hoặc lợn nái trước khi mang thai.

Theo phác đồ dùng 2 lần, liều thứ hai của chế phẩm sinh miễn dịch nêu trên tốt hơn là được dùng cho lợn nái tơ và/hoặc lợn nái 2, 3, 4 hoặc 5 tuần trước khi giao phối/thụ tinh, tốt nhất là khoảng 3 tuần trước khi giao phối/thụ tinh. Tốt hơn là, liều thứ nhất của chế phẩm sinh miễn dịch này được dùng cho lợn nái tơ và/hoặc lợn nái 2, 3, 4, 5 hoặc 6 tuần trước khi dùng liều thứ hai, tốt nhất là khoảng 3 tuần trước khi

dùng liều thứ hai. Tuy nhiên, sau khi phác đồ dùng 2 lần được áp dụng, tốt hơn là, lợn nái tơ và/hoặc lợn nái được chủng ngừa lại mỗi 3, 4, 5, 6, 7 hoặc 8 tháng, tốt nhất là khoảng mỗi 6 tháng.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch này được dùng cho lợn nái tơ và/hoặc lợn nái trong thời kỳ có thai và cho con bú.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch là an toàn đối với lợn nái tơ và/hoặc lợn nái trong thời kỳ có thai và cho con bú.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch là an toàn đối với lợn nái tơ và/hoặc lợn nái mang thai từ 30 ngày, tốt hơn là mang thai từ 40 ngày.

Tốt hơn là, chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế chứa kháng nguyên VP2 PPV với lượng từ 0,1 μg đến 50 μg , tốt hơn là từ 0,25 μg đến 25 μg , tốt hơn nữa là từ 0,5 μg đến 12,5 μg , thậm chí tốt hơn nữa là từ 0,5 μg đến 5 μg , tốt nhất là từ 0,5 μg đến 2 μg . Tốt hơn nữa là, chế phẩm sinh miễn dịch theo sáng chế chứa kháng nguyên VP2 PPV theo sáng chế với lượng khoảng 0,25 μg , 0,5 μg , 0,75 μg , 1 μg , 1,25 μg , 1,5 μg , 1,75 μg , 2 μg , 2,25 μg , 2,5 μg , 2,75 μg , 3 μg , 3,5 μg , 4 μg , 4,5 μg hoặc 5 μg .

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch chứa kháng nguyên VP2 PPV với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 μg đến 50 μg , tốt hơn là với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 μg đến 10 μg .

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch bảo vệ kháng lại thử thách cùng loại và/hoặc thử thách khác loại.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch bảo vệ kháng lại thử thách bằng các thể phân lập Bắc Mỹ và/hoặc châu Âu.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chế phẩm sinh miễn dịch được bảo vệ chéo kháng lại các thể phân lập Bắc Mỹ và/hoặc châu Âu.

Theo một khía cạnh của sáng chế, phương pháp đã nêu dẫn đến sự cải thiện về thông số hiệu lực được chọn từ nhóm gồm: chứng giảm bạch cầu tạm thời giảm và chứng suy giảm khả năng sinh sản được đặc trưng bằng sự nhiễm và chết ở phôi

và/hoặc thai, hoặc các kết hợp của các chứng này, so với đối tượng thuộc nhóm đối chứng không được gây miễn dịch thuộc cùng loài.

Theo một khía cạnh của sáng chế, phương pháp này dẫn đến sự cải thiện về các thông số hiệu lực được chọn từ nhóm gồm: giảm cỡ lứa đẻ, tăng hoai tử khô đối với phôi hoặc thai trên một lứa đẻ, tự phân hủy phôi hoặc thai, giảm số lượng phôi hoặc thai, giảm trọng lượng phôi hoặc thai, tăng virus huyết, tăng tải lượng virus trong mô đích và máu, tăng sự lan truyền PPV đến các con cùng đàn, hoặc các kết hợp của các thông số này, so với đối tượng thuộc nhóm đối chứng không được gây miễn dịch thuộc cùng loài.

Các phương án

Các phương án sau đây được mô tả trong bản mô tả này:

1. Protein virus 2 (VP2) của parvovirus lợn (PPV) có

- gốc axit glutamic hoặc gốc glutamat ở vị trí axit amin 228, và/hoặc
- gốc serin ở vị trí axit amin 414, và/hoặc
- gốc glutamin ở vị trí axit amin 419, và/hoặc
- gốc threonin ở vị trí axit amin 436,

trong đó việc đánh số vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của VP2 PPV kiểu đại.

2. VP2 PPV theo phương án 1, trong đó VP2 PPV còn có

- gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 25, và/hoặc
- gốc serin ở vị trí axit amin 36, và/hoặc
- gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 37.

3. VP2 PPV theo phương án 1 hoặc 2, trong đó việc đánh số các vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin như được thể hiện trong SEQ ID NO:1.

4. VP2 PPV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 3, trong đó VP2 PPV là VP2 PPV tái tổ hợp.

5. VP2 PPV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 4, trong đó VP2 PPV là VP2 PPV được biểu hiện bằng baculovirut tái tổ hợp.
6. VP2 PPV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 5, trong đó VP2 PPV này gồm hoặc chỉ gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất về trình tự ít nhất là 90% so với trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16.
7. VP2 PPV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 6, trong đó VP2 PPV này gồm hoặc chỉ gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất về trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 91%, ít nhất là 92%, ít nhất là 93%, ít nhất là 94%, ít nhất là 95%, ít nhất là 96%, ít nhất là 97%, ít nhất là 98%, ít nhất là 99%, ít nhất là 99,1%, ít nhất là 99,2%, ít nhất là 99,3%, ít nhất là 99,4%, ít nhất là 99,5%, ít nhất là 99,6%, ít nhất là 99,7%, ít nhất là 99,8%, hoặc ít nhất là 99,9% so với trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16.
8. VP2 PPV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 6, trong đó VP2 PPV này gồm hoặc chỉ gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:1, hoặc SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16 hoặc gồm hoặc chỉ gồm mảnh bất kỳ có ít nhất là 210, ít nhất là 250 hoặc ít nhất là 300 gốc axit amin liên tiếp từ SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16.
9. VP2 PPV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 6, trong đó VP2 PPV này gồm hoặc chỉ gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16.
10. VP2 PPV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 9, trong đó VP2 PPV này được mã hóa bằng trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin có độ đồng nhất về trình tự ít nhất là 90% so với trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16.
11. VP2 PPV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 10, trong đó VP2 PPV này được mã hóa bằng trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin có độ đồng nhất về trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 91%, ít nhất là 92%, ít nhất là 93%, ít nhất là 94%, ít nhất là 95%, ít nhất là 96%, ít nhất là 97%, ít nhất là 98%, ít nhất là

99%, ít nhất là 99,1%, ít nhất là 99,2%, ít nhất là 99,3%, ít nhất là 99,4%, ít nhất là 99,5%, ít nhất là 99,6%, ít nhất là 99,7%, ít nhất là 99,8%, hoặc ít nhất là 99,9% so với trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16.

12. VP2 PPV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 11, trong đó VP2 PPV này được mã hóa bằng trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:5 đến 16.

13. Chế phẩm sinh miễn dịch chứa VP2 PPV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 12.

14. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án 13, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này được phối chế để dùng ở dạng liều đơn.

15. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án 13 hoặc 14, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch được dùng trong cơ.

16. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 15, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch là an toàn đối với lợn nái tơ và/hoặc lợn nái trong thời kỳ có thai và cho con bú.

17. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 16, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này là an toàn đối với lợn nái tơ và/hoặc lợn nái mang thai từ 30 ngày, tốt hơn là mang thai từ 40 ngày.

18. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 17, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này còn chứa chất mang được dụng.

19. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án 18, trong đó chất mang được dụng là carbome.

20. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 19, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch chứa kháng nguyên VP2 PPV với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 µg đến 50 µg, tốt hơn là với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 µg đến 10 µg.

21. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 20, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này là vaccin.
22. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 21, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này bảo vệ kháng lại thử thách cùng loại và/hoặc khác loại.
23. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 22, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này bảo vệ kháng lại thử thách bằng các thể phân lập Bắc Mỹ và/hoặc châu Âu.
24. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 23, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này bảo vệ chéo kháng lại các thể phân lập Bắc Mỹ và/hoặc châu Âu.
25. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 24, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này là hữu hiệu trong điều trị và/hoặc phòng ngừa các dấu hiệu lâm sàng gây ra bởi sự nhiễm PPV ở đối tượng có nhu cầu.
26. Polynucleotit gồm trình tự mã hóa VP2 PPV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 12.
27. Polynucleotit chứa trình tự nucleotit có độ đồng nhất về trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 91%, ít nhất là 92%, ít nhất là 93%, ít nhất là 94%, ít nhất là 95%, ít nhất là 96%, ít nhất là 97%, ít nhất là 98%, ít nhất là 99%, ít nhất là 99,1%, ít nhất là 99,2%, ít nhất là 99,3%, ít nhất là 99,4%, ít nhất là 99,5%, ít nhất là 99,6%, ít nhất là 99,7%, ít nhất là 99,8%, hoặc ít nhất là 99,9% so với trình tự nucleotit SEQ ID NO:3 hoặc SEQ ID NO:4.
28. Polynucleotit gồm hoặc chỉ gồm trình tự nucleotit SEQ ID NO:3 hoặc SEQ ID NO:4.
29. Vector chứa polynucleotit theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 đến 28.
30. Vector theo phương án 29, trong đó vector này là vector biểu hiện.

31. Vector theo phương án 29 hoặc 30, trong đó vector này là baculovirus.
32. Tế bào chứa polynucleotit theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 đến 28 hoặc vector theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 29 đến 31.
33. Tế bào theo phương án 32, trong đó tế bào này là tế bào côn trùng.
34. Tế bào côn trùng theo phương án 33, trong đó tế bào côn trùng này được chọn từ nhóm gồm các tế bào Sf9 và các tế bào Sf+.
35. Hạt giống virus chứa VP2 PPV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 12.
36. Hạt giống virus theo phương án 35, trong đó hạt giống virus này chứa nhiều VP2 PPV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 12.
37. Phương pháp sản xuất VP2 PPV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 12, bao gồm bước chuyển nhiễm tế bào bằng vector theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 29 đến 31.
38. Phương pháp sản xuất VP2 PPV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 12, bao gồm bước gây nhiễm tế bào, tốt hơn là tế bào côn trùng, bằng baculovirus theo phương án 31.
39. Bộ kit chứa VP2 PPV hoặc chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 25.
40. Bộ kit theo phương án 39, trong đó bộ kit này còn chứa tờ hướng dẫn điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh ở lợn.
41. Bộ kit theo phương án 39, trong đó bộ kit này còn chứa tờ hướng dẫn điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh nhiễm PPV.
42. Sử dụng:
 - VP2 PPV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 12,
 - chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 25,

- polynucleotit theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 26 đến 28,
- vectơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 29 đến 31,
- tế bào theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 32 đến 34,
- baculovirut theo phương án 31, và/hoặc
- hạt giống virut theo phương án 35 hoặc 36

để bào chế thuốc, tốt hơn là vacxin.

43. Sử dụng VP2 PPV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 12 hoặc chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 25 để bào chế thuốc để điều trị và/hoặc ngăn ngừa sự nhiễm PPV, giảm, ngăn ngừa và/hoặc điều trị các dấu hiệu lâm sàng gây ra bởi sự nhiễm PPV và/hoặc để điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh gây ra bởi sự nhiễm PPV.

44. Phương pháp gây miễn dịch cho đối tượng bao gồm việc cho đối tượng này dùng chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 25.

45. Phương pháp điều trị và/hoặc ngăn ngừa các dấu hiệu lâm sàng gây ra bởi sự nhiễm PPV ở đối tượng có nhu cầu, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu trong điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 25.

46. Phương pháp làm giảm chứng suy giảm khả năng sinh sản ở đối tượng, so với đối tượng ở nhóm đối chứng không được gây miễn dịch thuộc cùng loài, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu trong điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 25.

47. Phương pháp làm giảm sự chết phôi và thai ở đối tượng, so với đối tượng ở nhóm đối chứng không được gây miễn dịch thuộc cùng loài, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu trong điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 25.

48. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 47, trong đó đối tượng đã nêu được chọn từ danh sách gồm lợn, trâu bò, mèo và chó.

49. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 48, trong đó đối tượng đã nêu là lợn, tốt hơn là lợn nái tơ và/hoặc lợn nái.
50. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 49, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch được dùng một lần.
51. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 49, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch được dùng ở mức hai hoặc nhiều liều.
52. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 51, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch được dùng trong cơ.
53. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 52, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch được dùng cho lợn nái tơ và/hoặc lợn nái.
54. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 53, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch được dùng cho lợn nái tơ và/hoặc lợn nái ít nhất là ba 3 tháng tuổi.
55. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 54, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch được dùng cho lợn nái tơ và/hoặc lợn nái trước khi mang thai.
56. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 54, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch được dùng cho lợn nái tơ và/hoặc lợn nái trong thời gian mang thai và cho con bú.
57. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 56, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch là an toàn đối với lợn nái tơ và/hoặc lợn nái trong thời gian mang thai và cho con bú.
58. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 57, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch là an toàn đối với lợn nái tơ và/hoặc lợn nái mang thai từ 30 ngày, tốt hơn là mang thai từ 40 ngày.
59. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 58, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch chứa kháng nguyên VP2 PPV với lượng nằm trong

khoảng từ 0,1 µg đến 50 µg, tốt hơn là kháng nguyên VP2 PPV với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 µg đến 10 µg.

60. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 59, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch bảo vệ kháng lại thử thách cùng loại và/hoặc khác loại.

61. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 60, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch bảo vệ kháng lại thử thách bằng các thể phân lập Bắc Mỹ và/hoặc châu Âu.

62. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 61, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch là bảo vệ chéo kháng lại các thể phân lập Bắc Mỹ và/hoặc châu Âu.

63. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 62, trong đó phương pháp này dẫn đến sự cải thiện về thông số hiệu lực được chọn từ nhóm bao gồm: chứng giảm bạch cầu tạm thời giảm và chứng suy giảm khả năng sinh sản được đặc trưng bằng sự nhiễm và chết ở phôi và/hoặc thai, hoặc các kết hợp của các chứng này, so với đối tượng thuộc nhóm đối chứng không được gây miễn dịch thuộc cùng loài.

64. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 63, trong đó phương pháp này dẫn đến sự cải thiện về các thông số hiệu lực được chọn từ nhóm gồm: giảm cỡ lứa đẻ, tăng hoai tử khô đối với phôi hoặc thai trên một lứa đẻ, tự phân hủy phôi hoặc thai, giảm số lượng phôi hoặc thai, giảm trọng lượng phôi hoặc thai, tăng virus huyết, tăng tải lượng virus trong mô đích và máu, tăng sự lan truyền PPV đến các con cùng đàn, hoặc các kết hợp của các thông số này, so với đối tượng thuộc nhóm đối chứng không được gây miễn dịch thuộc cùng loài.

65. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 25 để dùng trong phương pháp gây miễn dịch cho đối tượng bao gồm bước cho đối tượng sử dụng chế phẩm sinh miễn dịch đã nêu.

66. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 25 để dùng trong phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa dấu hiệu lâm sàng gây ra

bởi sự nhiễm PPV ở đối tượng có nhu cầu, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu trong điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch đã nêu.

67. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 25 để sử dụng trong phương pháp làm giảm chứng suy giảm khả năng sinh sản ở đối tượng, so với đối tượng ở nhóm đối chứng không được gây miễn dịch thuộc cùng loài, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu trong điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch đã nêu.

68. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 25 để sử dụng trong phương pháp làm giảm sự chết phôi và thai ở đối tượng, so với đối tượng ở nhóm đối chứng không được gây miễn dịch thuộc cùng loài, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu trong điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch đã nêu.

69. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 65 đến 68, trong đó đối tượng đã nêu được chọn từ danh sách gồm lợn, trâu bò, mèo và chó.

70. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 65 đến 69, trong đó đối tượng đã nêu là lợn, tốt hơn là lợn nái tơ và/hoặc lợn nái.

71. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 65 đến 70, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này được dùng một lần.

72. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 65 đến 70, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này được dùng ở mức hai hoặc nhiều liều.

73. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 65 đến 72, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này được dùng trong cơ.

74. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 65 đến 73, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này được dùng cho lợn nái tơ và/hoặc lợn nái.

75. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 65 đến 74, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch được dùng cho lợn nái tơ và/hoặc lợn nái ít nhất là ba 3 tháng tuổi.

76. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 65 đến 75, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này được dùng cho lợn nái tơ và/hoặc lợn nái trước khi mang thai.

77. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 65 to 75, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch được dùng cho lợn nái tơ và/hoặc lợn nái trong thời gian mang thai và cho con bú.

78. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 65 đến 77, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch là an toàn đối với lợn nái tơ và/hoặc lợn nái trong thời kỳ có thai và cho con bú.

79. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 65 đến 78, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này là an toàn đối với lợn nái tơ và/hoặc lợn nái mang thai từ 30 ngày, tốt hơn là mang thai từ 40 ngày.

80. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 65 đến 78, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch chứa kháng nguyên VP2 PPV với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 μg đến 50 μg , tốt hơn là với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 μg đến 10 μg .

81. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 65 đến 80, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này bảo vệ kháng lại thử thách cùng loại và/hoặc khác loại.

82. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 65 đến 81, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này bảo vệ kháng lại thử thách bằng các thể phân lập Bắc Mỹ và/hoặc châu Âu.

83. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 65 đến 82, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này bảo vệ chéo kháng lại các thể phân lập Bắc Mỹ và/hoặc châu Âu.

84. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 65 đến 83, trong đó phương pháp này dẫn đến sự cải thiện về thông số hiệu lực được chọn từ nhóm bao gồm: chứng giảm bạch cầu tạm thời giảm và chứng suy giảm khả năng sinh sản được đặc trưng bằng sự nhiễm và chết ở phôi và/hoặc thai, hoặc các kết hợp của các chứng này, so với đối tượng thuộc nhóm đối chứng không được gây miễn dịch thuộc cùng loài.

85. Chế phẩm sinh miễn dịch để dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 65 đến 84, trong đó phương pháp này dẫn đến sự cải thiện về các thông số hiệu lực được chọn từ nhóm gồm: giảm cỡ lứa đẻ, tăng hoại tử khô đối với phôi hoặc thai trên một lứa đẻ, tự phân hủy phôi hoặc thai, giảm số lượng phôi hoặc thai, giảm trọng lượng phôi hoặc thai, tăng virus huyết, tăng tải lượng virus trong mô đích và máu, tăng sự lan truyền PPV đến các con cùng đàn, hoặc các kết hợp của các thông số này, so với đối tượng thuộc nhóm đối chứng không được gây miễn dịch thuộc cùng loài.

86. Phương pháp để gây miễn dịch hoạt tính cho lợn sinh sản (lợn nái và lợn nái tơ) để bảo vệ phôi và thai kháng lại bệnh nhiễm parvovirus lợn, phương pháp này bao gồm việc cho các con lợn này (lợn nái và lợn nái tơ) dùng lượng hữu hiệu trong điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch theo các phương án từ 13 đến 25.

87. Chế phẩm sinh miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 13 đến 25 để dùng trong phương pháp để gây miễn dịch hoạt tính cho lợn sinh sản (lợn nái và lợn nái tơ) để bảo vệ phôi và thai kháng lại bệnh nhiễm parvovirus lợn, phương pháp này bao gồm việc cho các con lợn này (lợn nái và lợn nái tơ) dùng lượng hữu hiệu trong điều trị của chế phẩm sinh miễn dịch này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ được trình bày dưới đây để minh họa các phương án cụ thể của sáng chế. Các ví dụ này chỉ là ví dụ minh họa và không được hiểu là làm giới hạn phạm vi của các nguyên lý cơ bản của sáng chế.

Ví dụ 1:

Điều chế vacxin PPV dưới đơn vị

Kháng nguyên VP2 PPV được chọn để biểu hiện trong các tế bào côn trùng bị nhiễm baculovirut dựa trên thể phân lập PPV 27a của Đức. Trình tự nucleotit VP2 của parvovirut lợn (PPV) 27a thu được từ Genbank với số truy cập AY684871.1. Vùng mã hóa VP2 PPV 27a được dịch mã ngược và được tối ưu hóa về mặt codon đối với *Drosophila* (SEQ ID NO:4 và SEQ ID NO:3). Gen VP2 PPV 27a được tối ưu hóa về mặt codon được tổng hợp hóa học bằng công nghệ ADN tích hợp (Integrated DNA Technologies). Sau đó gen PPV 27a được tạo dòng phụ vào vector chuyển pVL1393, và được đồng chuyển nhiễm với khung baculovirut đã tuyến tính hóa DiamondBac® vào các tế bào côn trùng Sf9 để tạo ra baculovirut tái tổ hợp chứa gen VP2 PPV 27a dưới sự kiểm soát của đoạn khởi đầu polyhedrin.

Khi được biểu hiện trong các tế bào côn trùng Sf9, VP2 PPV tự lắp ráp thành VLP không vỏ (dữ liệu không được thể hiện).

Kháng nguyên VP2 PPV được bổ sung tá dược là carbome (Carbopol).

Ví dụ 2:

Nghiên cứu kiểm chứng khái niệm đối với vacxin PPV

Ở tất cả các nghiên cứu trên động vật, các con vật đều có sức khỏe và tình trạng dinh dưỡng tốt trước khi bắt đầu nghiên cứu. Trước khi tiến hành ngẫu nhiên hóa, việc kiểm tra sức khỏe được thực hiện. Chế độ ăn không thuốc được sử dụng trong suốt quá trình nghiên cứu. Khẩu phần ăn là thích hợp đối với lứa tuổi, tình trạng, và loài động vật thử nghiệm theo quy trình vận hành tiêu chuẩn cơ sở. Nước được cho dùng tùy ý trong suốt quá trình nghiên cứu.

Mục đích của nghiên cứu thử thách-chủng ngừa này là để thiết lập liệu kiểm chứng khái niệm xác định hiệu quả đối với vacxin Parvovirut lợn (PPV) dưới đơn vị tiền sản (xem ví dụ 1). Lợn nái tơ được chủng ngừa và phối giống trước khi thử thách bằng thể phân lập PPV độc lực sống (PPV 002346-5; chủng Bắc Mỹ) ở thời điểm mang thai khoảng 40 ngày (days of gestation - dG). Thai được đánh giá sự nhiễm PPV ở khoảng 90 dG.

Mô hình nghiên cứu được mô tả trong bảng 1.

Bảng 1: Mô hình nghiên cứu

Điều trị		Chủng ngừa	Thụ tinh	Khám thai	Thử thách	Mổ khám nghiệm
T1	Đối chứng âm tính	2mL vào D0 IM cổ phải & 2 mL vào D21 IM cổ trái	D34 – D42	D71	6 mL vào D80 (~40dG) PPV 002346-5 IM cổ phải và IN	D129/130 (~90dG)
T2	PPV 10 µg					
T3	Đối chứng dương (PPV được bất hoạt toàn bộ tế bào)					
NTX	Không	Không áp dụng			Không áp dụng	D79 (39dG)

NTX = Đối chứng không được điều trị/không được thử thách; IN = trong mũi; IM = trong cơ; dG = ngày mang thai.

Sử dụng sáu mươi bảy con lợn nái tơ có nguồn gốc từ đàn lợn mà đã có kết quả kiểm tra PPV là âm tính và không có tiền sử bị bệnh về sinh sản hoặc không được chủng ngừa kháng PPV. Các con lợn nái tơ này được chia ngẫu nhiên thành 6 nhóm điều trị (T) gồm 9 con mỗi nhóm (n=9) nhốt lần vào 3 chuồng được chủng ngừa vào D0 và được chủng tăng cường vào D21: T1 NC (đối chứng âm là nước đề tiêm), T2 PPV 10µg, T3 PC (đối chứng dương; *parvovirus lợn (PPV)*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Leptospira canicola*, *L.grippotyphosa*, *L. hardjo*, *L. icterohaemorrhagiae*, và *L. Pomona* toàn bộ bất hoạt; có bán trên thị trường; được sử dụng theo hướng dẫn của nhà sản xuất). Ba con lợn nái tơ đối chứng không được điều trị (NTX) được đưa vào, một con mỗi chuồng. Sau chủng ngừa, các con lợn nái tơ được đồng bộ hóa (bằng cách dùng Matrix®; altrenogest, Intervet Schering-Plough Animal Health; theo hướng dẫn trong 14 ngày liên tục, D18 đến D31) và sau đó được phối giống giữa các ngày D35 và D42. Năm mươi tư trong số 67 con lợn nái tơ có mang. Vào ngày D80 (khoảng 40 dG), các con lợn nái tơ NTX được mổ khám nghiệm, và các con lợn nái tơ còn lại được cấy truyền 6 mL chủng PPV PPV002346-5 (chủng Bắc Mỹ) ở mức 4,25 log₁₀TCID₅₀ trên liều (2 mL trong cơ và 2mL vào mỗi lỗ mũi). Lợn nái tơ được lấy máu hàng tuần ngoại trừ trong thời kỳ đồng bộ hóa và giao phối (D35 – D70). Phân tích huyết thanh được thực hiện trên các huyết thanh từ D0, D7, D14, D21, D28 và D73; phân tích huyết thanh và phản ứng chuỗi polymeraza

(polymerase chain reaction - PCR) (như được mô tả trong Jozwik et al. 2009; Journal of General Virology, 90, 2437-2441) đối với virus huyết được thực hiện trên các huyết thanh từ D80, D87, D94, D101, D108, D115, D122, và D128. Các con lợn nái tơ được mổ khám nghiệm vào D129 hoặc D130 (khoảng 90 dG). Khi mổ khám nghiệm, mỗi đường sinh sản được lấy ra, và vị trí của bào thai trong tử cung, tình trạng, kích cỡ và trọng lượng của bào thai được ghi lại. Các mẫu nước rửa ngực và phổi từ mỗi bào thai được thu gom. Các mẫu nước rửa ngực được thu gom một cách vô trùng từ mỗi bào thai. Tóm lại là, 3 ml PBS vô trùng được tiêm vào khoang ngực với kim tiêm và ống tiêm vô trùng. Dịch được hút ngược vào ống tiêm và tiêm vào ống SST (ống tách huyết thanh: serum separator tube) vô trùng thích hợp có kích cỡ thích hợp. Các nước rửa ngực được kiểm tra sự có mặt của PPV bằng PCR và kiểm tra sự có mặt của kháng thể PPV bằng sự ức chế hemagglutination hóa (hemagglutination inhibition - HI). Mô phổi được trữ đông.

Virut huyết (PPV) ở lợn nái tơ

Tất cả các con lợn nái tơ đều âm tính với virus huyết PPV trước thử thách vào D0, D73 (dữ liệu không được thể hiện) và D80 (Bảng 2). Tất cả các đối chứng âm tính là có virus trong máu vào ngày D87, và 4/7 là có virus trong máu vào ngày D94.

Các con lợn nái tơ T3 sau chủng ngừa chuyển dạng huyết thanh sau khi chủng ngừa tăng cường. T2 có đáp ứng huyết thanh đối với việc chủng ngừa ban đầu và vẫn dương tính huyết thanh sau khi chủng ngừa tăng cường. Các con lợn nái tơ đối chứng T1 vẫn âm tính về mặt huyết thanh đối với PPV cho đến khi thử thách. Sau thử thách, tất cả các con lợn nái tơ đối chứng âm đều có virus trong máu vào ngày D87 (bảy ngày sau thử thách). Một con lợn nái tơ T3 có virus trong máu vào ngày D87. Tất cả các con lợn nái tơ khác đều không có virus trong máu ở các thời điểm này (xem bảng 2).

Các con lợn nái tơ NTX duy trì âm tính huyết thanh và tất cả các bào thai của chúng đều âm tính với PPV theo xét nghiệm PCR trên các mẫu nước rửa ngực.

Bảng 2: Sự phân bố tần suất các con lợn nái tơ dương tính với PPV (PCR) khi được thử thách bằng PPV ở thời điểm mang thai 40 ngày (dG) vào ngày D80.

Điều trị/Mô tả		Ngày nghiên cứu (dG = số ngày mang thai)							
		D80	D87	D94	D101	D108	D115	D122	D128
		dG 40	dG 47	dG 54	dG 61	dG 68	dG 75	dG 82	dG 89
T1	Đối chứng âm tính	0/7	7/7	4/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7
T2	10µg PPV	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
T3	Đối chứng dương (PPV được bất hoạt toàn bộ tế bào)	0/9	1/9	0/9	0/9	0/9	0/8	0/8	0/8
NTX	Không	0/3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
NA = không khả dụng.									

Kết quả ở bào thai

Tất cả các bào thai NTX đều được xem xét là bình thường vào ngày mổ khám nghiệm D80 (Bảng 3). Ở lần mổ khám nghiệm cuối cùng vào ngày D129 và D130, 22,5% số bào thai T1 (Đối chứng âm) là bình thường trong khi 98,39% số bào thai trong nhóm T3 và 97,62% số bào thai trong nhóm T2 là bình thường. Kích cỡ và trọng lượng trung bình của các bào thai T1 (Đối chứng âm) lần lượt là 11,5 cm và 168,8 g, trong khi kích cỡ và trọng lượng trung bình của các bào thai trong nhóm T2 lần lượt là 17,5 cm và 590,1 g.

Tất cả các bào thai T4 (NTX) đều âm tính với PPV như được xác định bằng PCR trên các mẫu nước rửa ngực (xem bảng 3). Sự nhiễm PPV được xác nhận trong 67/80 bào thai đối chứng âm T1 (83,75%). Sáu mươi hai trong số 67 bào thai Đối chứng âm được xác nhận là bị nhiễm PPV là hoại tử khô. Ngược lại, sự nhiễm PPV được xác nhận chỉ ở 0,79% số bào thai T2.

Dựa vào thông số kết luận để thiết lập hiệu lực như nêu trong Dược điển châu Âu (chuyên khảo 01/2008:0965), tất cả các vacxin [bao gồm Đối chứng dương (PPV được bất hoạt toàn bộ tế bào)] đều đáp ứng các tiêu chuẩn để bảo vệ khỏi nhiễm (>80% số bào thai âm tính đối với PPV).

Bảng 3: Chi tiết về lứa đẻ: số lượng, kích cỡ, trọng lượng và tình trạng của bào thai và xác nhận trong phòng thí nghiệm về sự nhiễm PPV (PCR đối với các mẫu nước rửa ngực).

Điều trị	T1	T2	T3	T4
Mô tả	NC	PPV 10 µg	Đối chứng dương (PPV được bất hoạt toàn bộ tế bào)	NTX*
số lượng lợn nái tơ	5,0	8	9	3
Tổng số bào thai	80	126	124	44
Trung bình Cỡ lứa đẻ	16,0	15,8	13,8	14,7
Tình trạng thai:				
Hoại tử khô	62	3	2	0
Bình thường	18	123	122	44
% bình thường	22,50	97,62	98,39	100,0
Kích cỡ trung bình (cm)	11,5	17,5	17,8	6,0
Trọng lượng trung bình (g)	168,8	590,1	580,3	11,9
Xác nhận của phòng thí nghiệm về sự nhiễm PPV:				
Số lượng thai dương tính với PPV	67	1	3	0
% dương tính	83,75	0,79	2,42	0,0
% bảo vệ	16,25	99,21	97,58	
*NTX: thai bị hoại tử khô ở thời điểm 50 ngày mang thai NC = Đối chứng âm				

Kết luận:

Vaccin PPV theo sáng chế thể hiện sự bảo vệ bào thai sau thử thách PPV độc lực khác loại. Nghiên cứu này thể hiện rằng vaccin này là an toàn khi được dùng trước khi phối giống và có hiệu quả trong việc làm giảm đáng kể virus huyết, và sự nhiễm qua nhau thai vào bào thai. Hơn nữa, đã phát hiện ra rằng vaccin này bảo vệ kháng lại chủng thử thách PPV Bắc Mỹ khác loại. Hơn nữa, protein dưới đơn vị VP2 PPV đã được thể hiện là có hiệu quả như là virus chết toàn bộ.

Ví dụ 3:

Thiết lập liều gây miễn dịch tối thiểu của vacxin PPV - Bảo vệ kháng lại chủng PPV Bắc Mỹ khác loại:

Mục đích của nghiên cứu thử thách chủng ngừa này là để thiết lập liều gây miễn dịch tối thiểu (minimum immunizing dose-MID) cho vacxin Parvovirut lợn (PPV). Các con lợn nái tơ được thử thách bằng thể phân lập PPV độc lực sống, kiểu huyết thanh 1 (PPV 002346-5) ở khoảng 40 ngày mang thai (dG). Vacxin được xem là hiệu quả nếu $\geq 80\%$ số bào thai trong nhóm được chủng ngừa là âm tính đối với PPV sau thử thách. Các thông số hỗ trợ bao gồm kích cỡ, trọng lượng và tình trạng bào thai, tình trạng virus huyết lợn nái tơ sau thử thách và tình trạng huyết thanh của lợn nái tơ.

Các con lợn nái tơ (mà không có tiền sử bị bệnh về sinh sản hoặc không được chủng ngừa kháng PPV) được chia ngẫu nhiên thành các nhóm điều trị: T01 đối chứng âm (Giả được phù hợp với sản phẩm (Product matched placebo - PMP)) và T02 = 1,0 μ g PPV/2 mL liều). Các con lợn nái tơ không được điều trị/không được thử thách (NTX) được phân ngẫu nhiên vào các chuồng làm đối chứng về tình trạng sức khỏe chung.

Các con lợn nái tơ được cho dùng trong cơ liều 2 mL chế phẩm điều trị thích hợp vào ngày D0 và D21. Sau khi chủng ngừa, các con lợn nái tơ được phối giống giữa ngày D37 và D50, và sau đó được đánh giá tình trạng mang thai vào ngày D74. Vào ngày D81, các con lợn nái tơ mang thai được thử thách bằng cách dùng trong cơ hoặc trong mũi $6,77 \log_{10}$ TCID₅₀/6 mL PPV kiểu huyết thanh 1. Các con lợn nái tơ được lấy máu hàng tuần ngoại trừ trong thời kỳ đồng bộ hóa động dục và giao phối (D36-D73). Thử nghiệm ức chế hemagglutinin hóa (Hemagglutination Inhibition - HI) được thực hiện trên các huyết thanh từ các ngày D7, D14, D21, D28 và D35; HI và phản ứng chuỗi polymeraza (PCR) (xem ví dụ 2) đối với virus huyết được thực hiện trên huyết thanh từ các ngày D-3, D74, D80, D88, D95, D102 và D127. Các con lợn nái tơ được mổ khám nghiệm vào ngày D128 và D129 (khoảng 90 dG). Khi mổ khám nghiệm, đường sinh sản của mỗi con lợn nái được lấy ra, và vị trí của mỗi bào thai trong tử cung, tình trạng, kích cỡ và trọng lượng của bào thai được ghi lại. Các mẫu

nước rửa ngực (xem Ví dụ 2) được thu gom từ mỗi bào thai và được kiểm tra về sự có mặt của PPV bằng PCR.

Virut huyết (PPV) ở lợn nái tơ

Các vacxin được xem là an toàn vì các động vật không thể hiện thân nhiệt bất thường 24 giờ hoặc 48 giờ sau chủng ngừa, không thấy có phản ứng cục bộ bất thường được cho là do vacxin và không thấy có các dấu hiệu lâm sàng liên quan đến việc chủng ngừa (dữ liệu không được thể hiện).

Tất cả các con lợn nái tơ đều là âm tính đối với kiểm tra virut huyết PPV trước khi chủng ngừa, trước khi thử thách vào ngày D74, và vào ngày D80. Do đó, sau chủng ngừa, không thấy có dấu hiệu lâm sàng nào liên quan đến việc dùng vacxin. Vào ngày D88, tất cả mười con lợn nái tơ T01 đều có virut trong máu, và tất cả các con lợn nái tơ được chủng ngừa đều là âm tính. Tất cả các mẫu máu khác vào ngày D95, D102 và D127 đều là âm tính trong kiểm tra virut huyết PPV đối với tất cả các nhóm điều trị (bảng 4).

Bảng 4: Sự phân bố tần suất các con lợn nái tơ dương tính với PPV (PCR) khi được thử thách bằng PPV ở thời điểm mang thai ~ 40 ngày (dG) vào ngày D81.

Điều trị/Mô tả		Ngày nghiên cứu/Ngày mang thai (dG)					
		D74	D80	D88	D95	D102	D127
		dG 32	dG 38	dG 46	dG 53	dG 60	dG 85
T01	Đối chứng âm tính	0/12	0/12	10/10*	0/10	0/10	0/10
T02	PPV (1,0 µg/liều)	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12

* 2 con lợn nái tơ đã được chẩn đoán là không có thai và do đó đã được loại bỏ ra khỏi nhóm

Kết quả ở bào thai

Ở lần mổ khám nghiệm cuối cùng vào ngày D128 và D129, 38% số bào thai T01 (Đối chứng âm) là ở tình trạng bình thường trong khi 95% số bào thai trong nhóm vacxin là ở tình trạng bình thường. Kích cỡ và trọng lượng trung bình của các bào thai T01 (Đối chứng âm) lần lượt là 14,4 cm và 245,9 g, trong khi kích cỡ và trọng lượng trung bình của các bào thai trong nhóm được chủng ngừa lần lượt là 19,3 cm và 550 g (Bảng 5). Do đó, nhóm vacxin đáp ứng tiêu chuẩn bảo vệ khỏi bị nhiễm

PPV nhờ thông số kết luận về hiệu lực PPV được thiết lập bởi Ph. Eur. 01/2008:0965 là > 80% số bào thai trong nhóm điều trị phải là âm tính đối với PPV.

Sự nhiễm PPV được xác nhận trong 113/146 bào thai đối chứng âm (T01) (77%). Tuy nhiên, sự nhiễm PPV ở nhóm được chủng ngừa (T02) chỉ là 10%.

Bảng 5: Chi tiết lứa đẻ: số lượng, kích cỡ, trọng lượng, và tình trạng của các bào thai và xác nhận của phòng thí nghiệm về sự nhiễm PPV (PCR trên các mẫu rửa ngực).

Điều trị	T01	T02
Mô tả	Đối chứng âm	PPV 1 μ g
số lợn nái tơ	10	11
Tổng số bào thai	146	148
Cỡ lứa đẻ trung bình	14,6	13,5
Tình trạng thai:		
Số lượng hoại tử (%)	9 (6%)	0 (0%)
Số lượng hoại tử khô (%)	82 (56%)	8 (5%)
Số lượng bình thường (%)	55 (38%)	140 (95%)
Kích cỡ trung bình (cm)	14,4	19,3
Trọng lượng trung bình (g)	245,9	550,0
Xác nhận của phòng thí nghiệm về sự nhiễm PPV:		
Số lượng bào thai dương tính nước rửa ngực (%)	113 (77%)	15 (10%)
% được bảo vệ		90%
# = số lượng, % = phần trăm		

Kết luận:

Vaccin dưới đơn vị VP2 PPV theo sáng chế thể hiện sự bảo vệ bào thai sau thử thách bằng PPV độc lực khác loại. Kết quả của nghiên cứu này chứng tỏ rằng vaccin là an toàn và có hiệu quả trong việc ngăn ngừa virus huyết ở các con lợn nái tơ và ngăn ngừa sự nhiễm PPV ở các bào thai khi sử dụng chỉ 1 μ g vaccin dưới đơn vị VP2 PPV. Hơn nữa, vaccin này đã được thể hiện là bảo vệ kháng lại chủng thử thách Bắc Mỹ khác loại.

Ví dụ 4:

Thiết lập liều gây miễn dịch tối thiểu của vacxin PPV – bảo vệ kháng lại chủng PPV châu Âu khác loại

Mục đích của thử nghiệm này là để đánh giá sự khởi phát của tính miễn dịch của vacxin Parvovirut lợn (còn được gọi là vacxin PPV hoặc VP2 PPV ở đây). Ngoài ra, độ an toàn và hiệu lực được đánh giá bằng cách sử dụng mô hình nghiên cứu thử thách-chủng ngừa ngẫu nhiên hóa, mù, đối chứng âm.

Các con lợn nái tơ được chia ngẫu nhiên thành ba nhóm. Trong các nhóm 1 và 2, các con lợn nái được chủng ngừa hai lần với khoảng cách thời gian là 3 tuần (vào ngày D0 và D21). Liều thứ hai được dùng ba tuần trước khi phối giống. Tất cả các chất điều trị được dùng bằng đường dùng trong cơ (IM) với thể thích 2 mL. Nhóm 2 nhận vacxin PPV, trong khi đó nhóm 1 là nhóm giả được nhận chất pha loãng vô trùng làm sản phẩm đối chứng và nhóm 3 có tác dụng như là đối chứng nghiêm ngặt, không có chất điều trị bất kỳ.

Các con lợn nái tơ được đồng bộ hóa thời kỳ động dục và ba tuần sau lần chủng ngừa thứ hai chúng được thụ tinh nhân tạo. Các con vật mà có thai được thử thách vào ngày D84 giữa các ngày thứ 39 và ngày thứ 42 của thai kỳ bằng chủng PPV độc lực, khác loại.

Vào ngày D132-135, ở khoảng ngày thứ 90 của thai kỳ, các con lợn nái tơ được làm chết nhẹ nhàng, mổ khám nghiệm và các bào thai được đánh giá.

Bảng 6: Mô hình nghiên cứu

Nhóm	Điều trị thứ nhất D0 (2 mL IM bên phải của cổ)	Điều trị thứ 2 D21 (2 mL IM IM bên trái của cổ)	Thử thách D84 Liều 6,0 Log ₁₀ TCID ₅₀ /6 mL) (~40dG) 2 mL IM cổ phải và 2 mL trên mỗi lỗ mũi	Mổ khám nghiệm
1 (Đối chứng âm)	Sản phẩm đối chứng	Sản phẩm đối chứng	Chủng PPV châu Âu 401/09 (198669)	D132 đến D135

2	PPV (1µg/liều)	PPV (1µg/liều)	Chủng PPV châu Âu 401/09 (198669)	D132 đến D135
3 (Đối chứng nghiêm ngặt)	-	-	Không thử thách	D83

Đánh giá virus huyết PPV ở lợn nái tơ trước và sau thử thách bằng phương pháp PCR:

Tất cả các con vật đều là âm tính đối với PPV như xác định bởi phương pháp PCR ở ngày D-6 và D-1 trước khi chủng ngừa đáp ứng đầy đủ các tiêu chuẩn nhận con vật làm mẫu. Sau khi chủng ngừa, tất cả các con vật trong nhóm đối chứng nghiêm ngặt và sản phẩm đối chứng đều là âm tính đối với kháng nguyên PPV cho đến khi thử thách, do đó, sự nhiễm PPV trước khi thử thách có thể được loại trừ.

Virus huyết được khảo sát 7 (D90), 14 (D97) và 21 (D104) ngày sau thử thách và ở ngày mổ khám nghiệm. Sau thử thách, không phát hiện thấy virus trong máu ở các con vật được chủng ngừa, virus huyết chỉ xuất hiện ở các con vật đối chứng không được chủng ngừa.

Vào ngày D90, (7 ngày sau thử thách) 95% số con vật đối chứng không được chủng ngừa là dương tính đối với PPV. Vào ngày D97 vẫn còn 60% số con vật này có kết quả dương tính trong khi vào ngày D104 tất cả các con vật được thử nghiệm đều âm tính đối với PPV. Ngược lại, trong nhóm được chủng ngừa, tất cả các con vật được thử nghiệm vào ngày D90, D97 hoặc D104 đều âm tính đối với PPV.

Bảng 7: Số lượng các con vật bị virus huyết sau thử thách

	7 ngày sau khi thử thách (D90)	14 ngày sau khi thử thách (D97)	21 ngày sau khi thử thách (D104)
Đối chứng	19/20 (95%)	12/20 (60%)	0/20
PPV	0/20	0/20	0/20

Kết quả ở bào thai

Phần trăm số bào thai bị nhiễm PPV là 91,4% ở nhóm đối chứng, nhưng chỉ là 4,3% ở nhóm PPV (xem bảng 8).

Bảng 8: Phần trăm số bào thai dương tính trên một nhóm và cỡ lứa đẻ

Nhóm	N con lợn nái	N bào thai	N bào thai dương tính	% số bào thai dương tính với PPV (PCR) trên nhóm điều trị ¹	N cỡ lứa đẻ trung bình	% số bào thai dương tính tối thiểu trên một lứa đẻ	% số bào thai dương tính tối đa trên một lứa đẻ
Đối chứng	19	269	246	91,4	14,2	57	100
PPV	19	231	10	4,3	12,2	0,000	20

1: Số lượng bào thai PPV dương tính/ Số lượng bào thai trên một nhóm. N: Tổng số lượng

Đánh giá tình trạng của các bào thai

Tất cả các bào thai được đánh giá tình trạng của chúng và được chỉ định vào ba loại: bình thường, bị hoại tử khô và bị tự phân giải.

Phần lớn các bào thai bị hoại tử khô và tự phân giải được phát hiện trong nhóm đối chứng. Chỉ 39,8% số bào thai trong nhóm này là ở tình trạng bình thường trong khi ở các nhóm được chủng ngừa 97,4% (nhóm PPV) số bào thai có tình trạng bình thường (xem bảng 9).

Bảng 9: Tình trạng thai:

Nhóm	Tình trạng bào thai			
	[% bình thường]	[% tự phân giải]	[% hoại tử khô]	[N (tổng cộng)]
Đối chứng	39,8%	12,3%	48,0%	269
PPV	97,4%	0,9%	1,7%	231

Kết luận:

Vaccin PPV theo sáng chế thể hiện sự bảo vệ bào thai sau thử thách PPV độc lực khác loại, điều này thể hiện rằng vaccin này là an toàn và có hiệu quả trong việc

ngăn ngừa virus huyết và sự nhiễm PPV ở bào thai khi sử dụng chỉ 1 µg vaccin. Hơn nữa, vaccin này thể hiện rằng nó còn bảo vệ kháng lại chủng PPV thử thách của châu Âu. Do đó, vaccin này có phổ bảo vệ rộng vì vaccin này bảo vệ kháng lại chủng thử thách khác loại của Bắc Mỹ cũng như chủng thử thách khác loại của châu Âu.

Tất cả các chế phẩm và phương pháp được bộc lộ và yêu cầu bảo hộ ở đây có thể được tiến hành và thực hiện không cần thực nghiệm quá mức khi xem xét bộc lộ này. Trong khi chế phẩm và phương pháp theo sáng chế đã được mô tả liên quan đến các phương án ưu tiên, người có kỹ năng trong lĩnh vực sẽ hiểu rõ rằng, một số thay đổi có thể được áp dụng đối với chế phẩm và phương pháp và về các bước hoặc trình tự các bước của phương pháp được mô tả ở đây mà không đi trệch khỏi quan niệm, tinh thần và phạm vi bảo hộ của sáng chế. Cụ thể hơn nữa, rõ ràng là, một số tác nhân mà chúng có quan hệ cả về mặt hóa học và về mặt sinh lý có thể được thay thế cho các tác nhân được mô tả ở đây trong khi vẫn đạt được các kết quả tương tự hoặc giống hệt. Tất cả các thay thế và cải biến như vậy là hiển nhiên đối với người có kỹ năng trong lĩnh vực hình như nằm trong quan niệm, tinh thần và phạm vi của sáng chế như được xác định trong phần yêu cầu bảo hộ sau đây.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Protein virut 2 của parvovirut lợn (VP2 PPV) bao gồm gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 25, gốc serin ở vị trí axit amin 36, gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 37, gốc axit glutamic hoặc gốc glutamat ở vị trí axit amin 228, gốc serin ở vị trí axit amin 414, gốc glutamin ở vị trí axit amin 419, và gốc threonin ở vị trí axit amin 436, trong đó việc đánh số vị trí axit amin đề cập đến trình tự axit amin của VP2 PPV kiểu đại.
2. Chế phẩm sinh miễn dịch chứa VP2 PPV theo điểm 1.
3. VP2 PPV theo điểm 1, trong đó trình tự axit amin của VP2 PPV kiểu đại là SEQ ID NO:1.
4. VP2 PPV theo điểm 1, trong đó VP2 PPV chứa trình tự axit amin có độ đồng nhất về trình tự ít nhất là 90% so với ít nhất một trong số các trình tự SEQ ID NO: 2, 5, 6, 7, 8, 9, hoặc 10.
5. Polynucleotit chứa trình tự mã hóa VP2 PPV theo điểm 4.
6. Hạt giống virut chứa VP2 PPV theo điểm 4.
7. Polynucleotit chứa trình tự mã hóa VP2 PPV theo điểm 1.
8. Vector baculovirut chứa polynucleotit theo điểm 7.
9. Tế bào chứa vector baculovirut theo điểm 8.
10. Phương pháp sản xuất VP2 PPV theo điểm 1, bao gồm bước chuyển nhiễm vector baculovirut theo điểm 8 vào tế bào.
11. Tế bào chứa polynucleotit theo điểm 7.
12. Hạt giống virut chứa VP2 PPV theo điểm 1.
13. VP2 PPV chứa trình tự axit amin có độ đồng nhất về trình tự ít nhất là 99,6% so với SEQ ID NO. 2.
14. Chế phẩm sinh miễn dịch chứa VP2 PPV theo điểm 4.

15. Chế phẩm sinh miễn dịch theo điểm 14, trong đó chế phẩm này còn chứa chất mang được dụng.

16. Chế phẩm sinh miễn dịch theo điểm 15, trong đó chế phẩm sinh miễn dịch này là vacxin.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH

<120> PROTEIN VIRUT 2 (VP2) CỦA PARVOVIRUT LỢN (PPV), CHẾ PHẨM SINH MIỄN DỊCH CHỨA VP2 PPV VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT VP2 PPV

<130> 01-3228

<160> 16

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 579

<212> PRT

<213> Parvovirus lợn

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Leu Tyr

<210> 2

<211> 579

<212> PRT

<213> Parvovirus lön

<400> 2

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

				245					250					255			
Arg	Thr	Gly	Asp	Glu	Phe	Ser	Thr	Gly	Ile	Tyr	His	Phe	Asp	Thr	Lys		
			260					265					270				
Pro	Leu	Lys	Leu	Thr	His	Ser	Trp	Gln	Thr	Asn	Arg	Ser	Leu	Gly	Leu		
		275					280					285					
Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Thr	Glu	Pro	Thr	Thr	Glu	Gly	Asp	Gln	His	Pro		
	290					295					300						
Gly	Thr	Leu	Pro	Ala	Ala	Asn	Thr	Arg	Lys	Gly	Tyr	His	Gln	Thr	Ile		
305					310					315					320		
Asn	Asn	Ser	Tyr	Thr	Glu	Ala	Thr	Ala	Ile	Arg	Pro	Ala	Gln	Val	Gly		
				325					330					335			
Tyr	Asn	Thr	Pro	Tyr	Met	Asn	Phe	Glu	Tyr	Ser	Asn	Gly	Gly	Pro	Phe		
			340					345					350				
Leu	Thr	Pro	Ile	Val	Pro	Thr	Ala	Asp	Thr	Gln	Tyr	Asn	Asp	Asp	Glu		
		355					360					365					
Pro	Asn	Gly	Ala	Ile	Arg	Phe	Thr	Met	Gly	Tyr	Gln	His	Gly	Gln	Leu		
	370					375					380						
Thr	Thr	Ser	Ser	Gln	Glu	Leu	Glu	Arg	Tyr	Thr	Phe	Asn	Pro	Gln	Ser		
385					390					395					400		
Lys	Cys	Gly	Arg	Ala	Pro	Lys	Gln	Gln	Phe	Asn	Gln	Gln	Ser	Pro	Leu		
				405					410					415			
Asn	Leu	Gln	Asn	Thr	Asn	Asn	Gly	Thr	Leu	Leu	Pro	Ser	Asp	Pro	Ile		
			420					425					430				
Gly	Gly	Lys	Thr	Asn	Met	His	Phe	Met	Asn	Thr	Leu	Asn	Thr	Tyr	Gly		
		435					440					445					
Pro	Leu	Thr	Ala	Leu	Asn	Asn	Thr	Ala	Pro	Val	Phe	Pro	Asn	Gly	Gln		
	450					455					460						
Ile	Trp	Asp	Lys	Glu	Leu	Asp	Thr	Asp	Leu	Lys	Pro	Arg	Leu	His	Val		
465					470					475					480		

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

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

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

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

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

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

Lys Leu Tyr

<210> 3

<211> 1760

<212> ADN

<213> Parvovirus lợn

<400> 3

```

ggatccgccca ccatgtccga gaacgtggag cagcacaacc cgataaacgc aggcacagag      60
ctgtcggcga ctggcaatga gagcggaggc ggaggcggcg gaggaggtgg acgcggcgca      120
ggcggagtgg gcgtttcgac cggaagcttc aataatcaaa ccgagtttca gtacctgggc      180
gagggtttgg tgcggattac ggctcacgcg tcccgactga tacatctcaa tatgccggag      240
catgagacct acaagcgtat ccatgtcctg aactcggaat cgggcgtcgc cggtcagatg      300
gtccaagatg atgctcatac tcagatggtg acaccctgga gcttgataga tgccaacgca      360
tggggcgtgt ggttcaaccc tgcggattgg cagctgataa gcaataacat gacagaaatc      420
aatttggtta gtttcgagca agagatatat aatgtcgtgc tgaaaaccat cacagagagc      480
gccacgagcc ccccgacgaa gatttacaat aacgacctga cggcgtcctt gatggtcgcc      540
ttggacacaa ataacaccct cccgtacacc cccgcggccc cccgcagcga gaccctgggc      600
ttttatccct ggctgcccac caagccaacg cagtatcgct actacctgag ttgtacacga      660
aatttgaatc cgccgacata cactggtcag tcggagcaga tcacggacag cattcaaacg      720
ggcctgcact ccgatatcat gttttacacg atagagaacg cagtacccat ccacctgctg      780

```

cgtacgggag atgagttctc gaccggtatc tatcattttg acacaaaacc cttgaaattg 840
 acgcacagtt ggcaaaccaa tcgctcgctg ggcttgcccc caaagttggt gacggaaccc 900
 accaccgagg gtgaccaaca cccaggcaact ctccccgcag caaatacccg caagggctat 960
 catcaaacga tcaacaatag ctataccgag gctacggcca ttcgggccagc acaggtggga 1020
 tacaacacac cttacatgaa ctttgaatac tccaacggcg gcccgttcct gaccccgata 1080
 gttccgaccg ccgacactca gtacaacgat gacgagccga acggcgccat caggtttacc 1140
 atgggctatc agcacggtca attgacaact tcgctcgcaag aactggaacg ctatacatc 1200
 aaccctcaga gtaagtgtgg ccgggcaccc aaacaacagt tcaaccagca atccccactg 1260
 aacctgcaga ataccaacaa tggcacgctg ctgccatccg atcccattgg aggaaagacc 1320
 aacatgcatt tcatgaacac gctgaatata tacggaccac tgaccgccct gaacaatacc 1380
 gcacccgtct tcctaatgg ccagatctgg gataaagagc tggatacggga cctgaagccc 1440
 cgactccacg tgactgcgcc ctttgtgtgc aaaaataacc caccgggaca gttgttcgtc 1500
 aaaatagccc ccaacttgac cgacgacttc aatgcagaca gccctcagca gccgcgaatc 1560
 atcaoctatt cgaacttctg gtggaagggc acgctgactt tcacggctaa gatgcgctcg 1620
 agcaatatgt ggaacccaat ccagcaacat accacaaccg ctgaaaatat tggcaattac 1680
 atccctacga atataggcgg aataaagatg tttccggagt attcccagct cattccacgc 1740
 aagctgtatt aagcggccgc 1760

<210> 4

<211> 1760

<212> ADN

<213> Parvovirus lợn

<400> 4

ggatccgcca ccatgtccga gaacgtggag cagcacaacc cgataaacgc aggcacagag 60
 ctgtcggcga ctggcaatga atcgatcggc ggaggcggcg gaggaggtgg acgcggatcg 120
 atcggagtgg gcgtttcgac cggaagcttc aataatcaaa ccgagtttca gtacctgggc 180
 gagggtttgg tgcggattac ggctcacgcg tcccgactga tacatctcaa tatgccggag 240
 catgagacct acaagcgtat ccatgtcctg aactcggaat cgggcgtcgc cggtcagatg 300
 gtccaagatg atgctcatac tcagatggtg acaccctgga gcttgataga tgccaacgca 360
 tggggcgtgt ggttcaaccc tgcggattgg cagctgataa gcaataacat gacagaaatc 420
 aatttggtta gtttcgagca agagatattt aatgtcgtgc tgaaaaccat cacagagagc 480
 gccacgagcc ccccgacgaa gatttacaat aacgacctga cggcgtcctt gatggtcgcc 540

```

ttggacacaa ataacaccct cccgtacacc cccgcggccc cccgcagcga gaccctgggc      600
ttttatccct ggctgccac caagccaacg cagtatcgct actacctgag ttgtacacga      660
aatttgaatc cgccgacata cactggtcag toggagcaga tcacggacag cattcaaacg      720
ggcctgcact ccgatatcat gttttacacg atagagaacg cagtacccat ccacctgctg      780
cgtacgggag atgagttctc gaccggtatc tatcattttg acacaaaacc cttgaaattg      840
acgcacagtt ggcaaacca tgcgtcgctg ggcttgcccc caaagttggt gacggaaccc      900
accaccgagg gtgaccaaca ccaggcact ctccccgcag caaatacccc caagggctat      960
catcaaacga tcaacaatag ctataccgag gctaccgcca ttcggccagc acaggtggga     1020
tacaacacac cttacatgaa ctttgaatac tccaacggcg gcccgttcct gacccccgata     1080
gttccgaccg ccgacactca gtacaacgat gacgagccga acggcgccat caggtttacc     1140
atgggctatc agcacggtca attgacaact tcgtcgcaag aactggaacg ctatacatc     1200
aaccctcaga gtaagtgtgg ccgggcaccc aaacaacagt tcaaccagca atccccactg     1260
aacctgcaga ataccaacaa tggcacgctg ctgccatccg atcccattgg aggaaagacc     1320
aacatgcatt tcatgaacac gctgaatata tacggaccac tgaccgccct gaacaatacc     1380
gcacccgtct tccctaattg ccagatctgg gataaagagc tggatacggg cctgaagccc     1440
cgactccacg tgactgcgcc ctttgtgtgc aaaaataacc caccgggaca gttgttcgtc     1500
aaaatagccc ccaacttgac cgacgacttc aatgcagaca gccctcagca gccgcgaatc     1560
atcacctatt cgaacttctg gtggaagggc acgctgactt tcacggctaa gatgcgctcg     1620
agcaatatgt ggaacccaat ccagcaacat accacaaccg ctgaaaatat tggcaattac     1680
atccctacga atataggcgg aataaagatg tttccggagt attcccagct cattccacgc     1740
aagctgtatt aagcggccgc

```

```

<210> 5
<211> 579
<212> PRT
<213> Parvovirus lon

```

```
<400> 5
```

```

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

```

```

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

```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Leu Tyr

<210> 6
 <211> 579
 <212> PRT
 <213> Parvovirus l_on

<400> 6

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Thr Pro Ile Val Pro Thr Ala Asp Thr Gln Tyr Asn Asp Asp Glu

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

<210> 7
 <211> 579
 <212> PRT
 <213> Parvovirus lqn

<400> 7

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Leu Tyr

<210> 8
 <211> 579
 <212> PRT
 <213> Parvovirus lơn

<400> 8

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

530 535 540
 Gln His Thr Thr Thr Ala Glu Asn Ile Gly Lys Tyr Ile Pro Thr Asn
 545 550 555 560

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

 Lys Leu Tyr

 <210> 9
 <211> 579
 <212> PRT
 <213> Parvovirus l օn

 <400> 9

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

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

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

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

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

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

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

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

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

 Ile Phe Asn Val Val Leu Lys Thr Ile Thr Glu Ser Ala Thr Ser Pro

145		150		155		160
Pro Thr Lys Ile Tyr Asn Asn Asp Leu Thr Ala Ser Leu Met Val Ala						
	165		170		175	
Leu Asp Thr Asn Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Arg Ser						
	180		185		190	
Glu Thr Leu Gly Phe Tyr Pro Trp Leu Pro Thr Lys Pro Thr Gln Tyr						
	195		200		205	
Arg Tyr Tyr Leu Ser Cys Thr Arg Asn Leu Asn Pro Pro Thr Tyr Thr						
	210		215		220	
Gly Gln Ser Glu Gln Ile Thr Asp Ser Ile Gln Thr Gly Leu His Ser						
225		230		235		240
Asp Ile Met Phe Tyr Thr Ile Glu Asn Ala Val Pro Ile His Leu Leu						
	245		250		255	
Arg Thr Gly Asp Glu Phe Ser Thr Gly Ile Tyr His Phe Asp Thr Lys						
	260		265		270	
Pro Leu Lys Leu Thr His Ser Trp Gln Thr Asn Arg Ser Leu Gly Leu						
	275		280		285	
Pro Pro Lys Leu Leu Thr Glu Pro Thr Thr Glu Gly Asp Gln His Pro						
	290		295		300	
Gly Thr Leu Pro Ala Ala Asn Thr Arg Lys Gly Tyr His Gln Thr Ile						
305		310		315		320
Asn Asn Ser Tyr Thr Glu Ala Thr Ala Ile Arg Pro Ala Gln Val Gly						
	325		330		335	
Tyr Asn Thr Pro Tyr Met Asn Phe Glu Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Phe						
	340		345		350	
Leu Thr Pro Ile Val Pro Thr Ala Asp Thr Gln Tyr Asn Asp Asp Glu						
	355		360		365	
Pro Asn Gly Ala Ile Arg Phe Thr Met Gly Tyr Gln His Gly Gln Leu						
	370		375		380	

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Leu Tyr

<210> 10
<211> 579
<212> PRT
<213> Parvovirus l_{on}

<400> 10

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Leu Tyr

<210> 11

<211> 579

<212> PRT

<213> Parvovirus lqn

<400> 11

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Leu Tyr

```
<210> 12
<211> 579
<212> PRT
<213> Parvovirus lợn
```

<400> 12

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

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

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

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

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

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

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

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

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

[illegible]

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Leu Tyr

<210> 13
 <211> 579
 <212> PRT
 <213> Parvovirus lön

<400> 13

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ile Ala Pro Asn Leu Thr Asp Asp Phe Asn Ala Asp Ser Pro Gln

500

505

510

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

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

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

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

Lys Leu Tyr

<210> 14
 <211> 579
 <212> PRT
 <213> Parvovirus lợn

<400> 14

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

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

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

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

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

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

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

Asp Ala Asn Ala Trp Gly Val Trp Phe Asn Pro Ala Asp Trp Gln Leu

115	120	125
Ile Ser Asn Asn Met Thr Glu Ile Asn Leu Val Ser Phe Glu Gln Ala		
130	135	140
Ile Phe Asn Val Val Leu Lys Thr Ile Thr Glu Ser Ala Thr Ser Pro		
145	150	155 160
Pro Thr Lys Ile Tyr Asn Asn Asp Leu Thr Ala Ser Leu Met Val Ala		
	165	170 175
Leu His Thr Asn Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Arg Ser		
	180	185 190
Glu Thr Leu Gly Phe Tyr Pro Trp Leu Pro Thr Lys Pro Thr Gln Tyr		
	195	200 205
Arg Tyr Tyr Leu Ser Cys Ile Arg Asn Leu Asn Pro Pro Thr Tyr Thr		
	210	215 220
Gly Gln Ser Glu Gln Ile Thr Asp Ser Ile Gln Thr Gly Leu His Ser		
225	230	235 240
Asp Ile Met Phe Tyr Thr Ile Glu Asn Ala Val Pro Ile His Leu Leu		
	245	250 255
Arg Thr Gly Asp Glu Phe Ser Thr Gly Ile Tyr His Phe Asp Thr Lys		
	260	265 270
Pro Leu Lys Leu Thr His Ser Trp Gln Thr Asn Arg Ser Leu Gly Leu		
	275	280 285
Pro Pro Lys Leu Leu Thr Glu Pro Thr Thr Glu Gly Asp Gln His Pro		
	290	295 300
Gly Thr Leu Pro Ala Ala Asn Thr Arg Lys Gly Tyr His Gln Thr Ile		
305	310	315 320
Asn Asn Ser Tyr Thr Glu Ala Thr Ala Ile Arg Pro Ala Gln Val Gly		
	325	330 335
Tyr Asn Thr Pro Tyr Met Asn Phe Glu Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Phe		
	340	345 350

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Leu Tyr

<210> 15
 <211> 579
 <212> PRT
 <213> Parvovirus lợn

<400> 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Leu Tyr

<210> 16
 <211> 579
 <212> PRT
 <213> Parvovirus lön

<400> 16

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Pro Lys Leu Leu Thr Glu Pro Thr Thr Glu Gly Asp Gln His Pro

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

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

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

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

Lys Leu Tyr