(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) **1-0044352**

(51)[8] **C07K 14/08**; C12N 15/86; A61K 39/12 (13) **B**

(21) 1-2018-00311 (22) 23/06/2016
(86) PCT/US2016/038964 23/06/2016 (87) WO 2016/210094 29/12/2016
(30) 62/183,410 23/06/2015 US
(45) 25/03/2025 444 (43) 25/05/2018 362A
(71) BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA GMBH (DE)
Binger Strasse 173 55216 Ingelheim am Rhein, Germany
(72) MEBATSION, Teshome (US); KASSA, Aemro (ET); KIM, Taejoong (US).
(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) CHẾ PHẨM MIỄN DỊCH VÀ VECTƠ AD5-PRRSV TÁI TỔ HỢP

(21) 1-2018-00311

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm miễn dịch chứa: a. một hoặc nhiều vectơ virut tái tổ hợp, chứa một hoặc nhiều polynucleotit không tương đồng, mã hóa một hoặc nhiều kháng nguyên, hoặc miền ngoại bào gp2, gp3, hoặc gp4 được hướng đích lại của virut gây hội chứng sinh sản và hô hấp ở lợn (porcine reproductive and respiratory syndrome virus - PRRSV); b. trong đó khi kháng nguyên gp2 được hướng đích lại được mã hóa, thì ít nhất một trong số các kháng nguyên gp3 được hướng đích lại hoặc kháng nguyên gp4 được hướng đích lại, cũng được mã hóa; và c. trong đó kháng nguyên hoặc miền ngoại bào được hướng đích lại bằng cách thay thế trình tự định vị tế bào hiện có của polypeptit bằng trình tự xác định biểu hiện bề mặt tế bào tương ứng từ gen không tương đồng. Sáng chế cũng đề cập đến vectơ Ad5-PRRSV tái tổ hợp.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm hoặc vacxin PRRSV chứa vectơ adenovirut tái tổ hợp. Các chế phẩm hoặc vacxin này có thể được sử dụng để bảo vệ động vật khỏi PRRSV.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

PRRSV là bệnh nhiễm virut ở lợn tàn phá ảnh hưởng quan trọng lớn đến nền kinh tế (Derald J. Holtkamp, 2013). Có mức độ thay đổi lớn về các đặc điểm kháng nguyên của các thể phân lập khác nhau và các biện pháp có hiệu quả để phòng ngừa sự nhiễm bệnh bị hạn chế. Có hai nhóm vacxin chủ yếu hiện có để phòng PRRS, là vacxin virut sống được cải biến làm giảm độc lực (modified live virus - MLV) hoặc vacxin virut chết. Các vacxin MLV, mặc dù có hiệu quả trong thử nghiệm gây nhiễm các thể tương đồng, nhưng không tạo ra sự bảo vệ rộng hơn trong số nhiều biến thể tuần hoàn và có khả năng trở lại thành thể dại gây ra sự nhiễm virut bùng phát. Ngoài ra, các động vật đã được chủng ngừa bằng các vacxin MLV tiếp tục nhiễm virut này và các trang trại mà sử dụng các vacxin này không thể không có PRRSV. Mặt khác, các vacxin virut chết an toàn hơn nhiều, nhưng ít hiệu quả hơn so với các vacxin MLV. Do đó, hiện các lựa chọn để phòng ngừa sự nhiễm bệnh là không an toàn mà cũng không có hiệu quả (Charerntantanakul, 2012) (Tjeerd G. Kimman, 2009). Đã có nỗ lực để phát triển các vacxin tái tổ hợp mà có thể khắc phục được các nhược điểm chủ yếu của các vacxin hiện có trong nhiều hơn 2 thập kỷ qua (Zhang, 2012). Tuy nhiên, mặc dù nỗ lực lớn, vẫn không có một vacxin tái tổ hợp nào trên thị trường được cấp phép để phòng ngừa bệnh nhiễm PRRSV. Hầu hết các vacxin tái tổ hợp mà được đánh giá trong quá khứ là dựa trên một hoặc tổ hợp các protein vỏ của virut mà được tin tưởng là đích của đáp ứng kháng thể trung hòa. Tuy nhiên, việc thiếu hiểu biết đầy đủ về sự tương tác chức năng giữa các protein vỏ hoặc với thụ thể trên các tế bào đích cản trở sự thiết kế hợp lý các vacxin tái tổ hợp có hiệu quả.

Các protein vỏ của virut của PRRSV nói chung được phân loại thành các protein chủ yếu và thứ yếu dựa trên số lượng của các protein có trong virion (Dokland, 2010) (Dea S, 2000). Các protein vỏ chủ yếu của virut là gp5 (ORF 5) và M (ORF 6) và dạng dime. Các protein vỏ thứ yếu là gp2 (ORF2), gp3 (ORF3), gp4 (ORF4) và E (ORF2b) và

có thể là protein virut mới được nhận diện gp5a (ORF 5a). Các protein vỏ thứ yếu được cho là tồn tại dưới dạng multime và chúng liên quan đến sự tương tác trực tiếp với thụ thể, CD163, và là trung gian cho sự xâm nhập của virut (Phani B. Das, 2010).

Hầu hết các nỗ lực trước đây để phát triển các vacxin tái tổ hợp được tập trung vào các protein chủ yếu, gp5, M hoặc tổ hợp (Dea, 1998). Điều này có thể là do các kháng thể với các protein chủ yếu dễ dàng được phát hiện trong các động vật bị nhiễm PRRSV và giả định chúng có thể là đích trung hòa đối với hệ miễn dịch. Ngoài ra, có mức độ biến đổi trình tự lớn trong gp5 chứng tỏ các protein này phải chịu áp lực chọn lọc miễn dịch. Tuy nhiên, việc làm suy kiệt các kháng thể đặc hiệu của gp5 khỏi huyết thanh trung hòa cho thấy rằng các kháng thể này phần lớn thuộc phần không trung hòa của huyết thanh (Juan Li, 2012). Do đó, điều này chứng tỏ sự có mặt của đích trung hòa chủ yếu trên các protein vỏ của virut không phải là các protein chủ yếu và có thể là trên các protein thứ yếu. Mặc dù nỗ lực lớn để phát triển các protein chủ yếu làm kháng nguyên trong các vacxin tái tổ hợp, từ các protein tái tổ hợp đã tinh chế đến vacxin được phân phối bằng cách sử dụng nhiều nền tảng vectơ (Jazmina L.G. Cruza, 2010), không nỗ lực nào đưa được vacxin ra thị trường vì thất bại trong việc có được sự bảo vệ mạnh mẽ.

Gần đây, tập trung vào việc phát triển vacxin PRRS tái tổ hợp đã dịch chuyển sang các protein thứ yếu (Jing-Qiang Ren, 2014) (Sakthivel Subramaniam, 2014) (Z.S. WANG, 2011). Sự dịch chuyển này chủ yếu được điều khiển bởi ba phát hiện gần đây. Thứ nhất, hai trong số các protein thứ yếu, gp2 và gp4 được thể hiện là gắn kết trực tiếp với thụ thể CD163. Thứ hai, sự hoán đổi của các protein thứ yếu nhưng không phải các protein chủ yếu với EAV (Equine arteritis Virus - virut gây bệnh viêm động mạch ở loài ngựa), cả arterivirut, làm biến đổi tính hướng kích thích của virut, cho thấy tầm quan trọng của các protein thứ yếu trong sự tương tác với thụ thể và hướng virut đến các tế bào đích (Lu Z1, 2012) (Tian D, 2012). Cuối cùng, các thể đột biến bất hoạt của CD163, mà là thụ thể chủ yếu của các protein thứ yếu, ngăn ngừa sự nhiễm virut, trong khi thể bất hoạt tương tự đối với CD169, thụ thể của các protein chủ yếu, không ảnh hưởng đến sự xâm nhập của virut (Randall S. Prather, 2013). Mặc dù có sự hiểu biết ngày càng gia tăng về vai trò của các protein thứ yếu trong sự xâm nhập của virut và làm đích liên quan đối với đáp ứng kháng thể trung hòa, không một vacxin tái tổ hợp nào được phát triển cho

đến nay dựa trên các protein thứ yếu tạo ra sự bảo vệ động vật được chủng ngừa khỏi bệnh nhiễm PRRS.

Trong bản mô tả này, các tác giả sáng chế chỉ ra rằng việc bao gồm một protein thứ yếu E khác vào tổ hợp các protein thứ yếu này thu được đáp ứng bảo vệ khác nhau rõ rệt. Điều bất ngờ là, sự có mặt của protein E cùng với gp2, gp3 và gp4 gây ra đáp ứng miễn dịch mạnh và làm giảm tổn thương phổi từ sự gây nhiễm PRRS. Đây là lần đầu tiên mà protein E được thể hiện là thành phần có tính quyết định của phức hợp protein mà có thể gây ra đáp ứng miễn dịch bảo vệ. Điều này đạt được không chỉ bằng cách xác định protein E làm thành phần thiết yếu của phức hợp protein thứ yếu, mà còn bằng cách biểu hiện toàn bộ bốn protein từ một nền tảng vectơ mà thúc đẩy sự tạo ra phức hợp protein. Phát hiện mới này sẽ không chỉ giúp hiểu thêm các tương tác có tính quyết định giữa các protein virut và thụ thể tế bào mà còn mở đường cho việc có được vacxin PRRS tái tổ hợp vạn năng mà thực sự không chứa PRRSV sống.

Trong thử nghiệm của các tác giả sáng chế, việc chủng ngừa cho động vật bằng các plasmit gộp biểu hiện gp2, gp3 và gp4 bị thất bại trong việc tạo ra đáp ứng miễn dịch mạnh (quan sát chưa được công bố). Kết luận từ thử nghiệm trên động vật này là các protein đó được giả định là tồn tại dưới dạng multime và do đó, sự biểu hiện đồng thời của toàn bộ các protein trong một tế bào để thúc đẩy sự multime hóa là cần thiết để tạo ra cấu hình đúng mà thể hiện epitop trung hòa đối với hệ miễn dịch. Các thử nghiệm sinh hóa tiếp theo cũng chỉ ra điều này và toàn bộ các protein đã được đưa vào một vectơ để cho phép biểu hiện đồng thời. Điều bất ngờ là, trong thử nghiệm trên động vật được báo cáo trên đây, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng điều này cũng không đủ để gây ra đáp ứng miễn dịch bảo vệ. Đúng hơn là, yếu tố có tính quyết định để gây ra đáp ứng miễn dịch bảo vệ bởi các kháng nguyên này là sự cải biến được đưa vào để hướng đích lại các protein từ các ngăn nội bào đến bề mặt của tế bào. Sự khác biệt lớn giữa các protein đã được cải biến và chưa được cải biến là hoàn toàn bất ngờ và sẽ mở ra con đường mới hướng đến sự gây nhiễm tương tự bởi nhiều đích virut. Đây cũng là lần đầu tiên, trong phạm vi hiểu biết của các tác giả sáng chế; khả năng sinh miễn dịch của các protein thứ yếu của vỏ PRRSV được tăng cường đến mức nó có thể tạo ra cả sự bảo vệ khỏi tổn thương phổi đối với sự gây nhiễm PRRS cũng như làm giảm hàm lượng virut trong huyết

thanh bằng cách biểu hiện đồng thời toàn bộ các protein thứ yếu từ một vectơ và đưa vào các cải biến làm tăng mức độ biểu hiện trên bề mặt tế bào.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề cập đến chế phẩm vacxin PRRSV mới và phương pháp sản xuất và sử dụng chúng.

Bản mô tả này dựa, một phần, vào phát hiện đáng ngạc nhiên và bất ngờ rằng việc bao gồm một protein thứ yếu PRRSV khác (E) vào các tổ hợp khác của các protein thứ yếu thu được đáp ứng bảo vệ khác nhau rõ rệt. Theo một số phương án, các phần đủ của protein E, ví dụ, miền xuyên màng (transmembrane - TM) của nó, miền tận cùng amino (amino terminal - NT) hoặc miền tận cùng carboxy (carboxy terminal - CT) của nó, có thể được sử dụng để gây ra đáp ứng bảo vệ này.

Điều bất ngờ là, sự có mặt của protein E cùng với gp2, gp3 và gp4 gây ra đáp ứng miễn dịch mạnh và làm giảm tổn thương phổi trong thử nghiệm gây nhiễm PRRS. Đây là lần đầu tiên mà protein E được thể hiện là thành phần có tính quyết định của phức hợp protein mà có thể gây ra đáp ứng miễn dịch bảo vệ.

Như vậy, các vacxin theo sáng chế không chỉ có được bằng cách xác định protein E làm thành phần thiết yếu của phức hợp protein thứ yếu, mà còn bằng cách biểu hiện toàn bộ bốn protein từ một nền tảng vectơ mà thúc đẩy sự tạo ra phức hợp protein.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến vectơ virut tái tổ hợp biểu hiện các dạng khảm của các protein thứ yếu của PRRSV, chứa các yếu tố quyết định định vị tế bào khác nhau, so với các gen thể dại tương ứng của chúng. Cụ thể là, phần glycoprotein (G) của VSV và protein hoạt hóa plasminogen của mô (tissue plasminogen activator protein - tPA) đã được bổ sung vào để tạo ra các sản phẩm gen khảm thu được để định vị đến bề mặt tế bào. Các vectơ tái tổ hợp này tạo ra đáp ứng miễn dịch an toàn và có hiệu quả ở động vật chủ chống PRRSV. Như vậy, các cải biến được đưa vào các protein thứ yếu của PRRSV để đạt được sự biểu hiện trên bề mặt của chúng tạo ra tác dụng tương tự như tác dụng của protein E đồng biểu hiện cùng với gp2, gp3, và gp4.

Do đó, sáng chế đề xuất sơ đồ chỉ dẫn để có được vacxin PRRS tái tổ hợp vạn năng mà 100% không chứa PRRSV sống.

Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến chế phẩm hoặc vacxin PRRSV chứa vectơ adenovirut mà bao gồm một hoặc nhiều vectơ adenovirut tái tổ hợp được xử lý kỹ thuật chứa và biểu hiện các kháng nguyên PRRSV nhất định, và tùy ý chất mang, chất bổ trợ, tá dược, hoặc chất dẫn dược dụng hoặc được chấp nhận dùng trong thú y. PRRSV có thể là chủng bất kỳ, do các chế phẩm và phương pháp mới và sáng tạo được bộc lộ trong bản mô tả này có thể áp dụng phổ biến được cho toàn bộ các chủng PRRSV đã biết và chưa được phát hiện ra, vì các lý do được bàn luận một cách đầy đủ hơn dưới đây.

Kháng nguyên PRRSV bao gồm các protein thứ yếu của PRRSV (ví dụ, gp2, gp3, gp4, gp5a, gp5 hoặc E), trong tổ hợp bất kỳ, và tùy ý bao gồm các protein chủ yếu bổ sung của PRRSV (ví dụ, gp5 hoặc M). Tương tự như các protein thứ yếu khác, gp5a là được bảo toàn tương đối tốt, và được thấy là sự bổ sung hoặc thay thế có hiệu quả đối với các vectơ virut tái tổ hợp an toàn và có hiệu quả theo sáng chế.

Các vectơ tái tổ hợp PRRSV có thể chứa và biểu hiện ở động vật chủ ít nhất các tổ hợp sau (theo thứ tự bất kỳ, và được điều khiển bởi yếu tố khởi động bất kỳ, PE (promoter element - yếu tố khởi động), bao gồm yếu tố được chỉ ra, và bao gồm các yếu tố như IRES và các peptit 2A) của các gen hoặc các thành phần (*rtg* = re-targeted - được hướng đích lại; CMV = cytomegalovirus promoter - trình tự khởi động của cytomegalovirut; SV40 = simian virus 40 promoter - trình tự khởi động của virut 40 ở khỉ; IRES = internal ribosomal entry site - vị trí xâm nhập ribosom bên trong, các peptit 2A tự phân tách có nguồn gốc từ virut gây bệnh lở mồm long móng (foot-and-mouth disease - FMD), virut gây bệnh viêm mũi A ở loài ngựa, virut *Thosea asigna* hoặc teschovirut-1 ở loài lợn): 1) (PE)gp2, (PE)gp3, (PE)gp4, (PE)E; 2) (PE)*rtg* gp2, (PE)gp3 và (PE)gp4; 3) (PE)*rtg* gp2, (PE)*rtg* gp3 và (PE)*rtg* gp4; 4) (PE)*rtg* gp2, (PE)*rtg* gp3, (PE)*rtg* gp4 và (PE)E; 5) (PE)*rtg* gp2, (PE)*rtg* gp3, (PE)*rtg* gp4 và (PE)*rtg* E; 6) (PE)*rtg* gp2, (PE)*rtg* gp4 và (PE)*rtg* E; 7) (PE)*rtg* gp2 và (PE)*rtg* gp4, 8) (M-(SV40)-(CMV)-gp5-(IRES)-gp5a; 9) gp2-(SV40)-(CMV)-E; 10) *rtg* gp2-(SV40)-(CMV)-E; 11) *rtg* gp2-(SV40)-(CMV)-*rtg* E; 12) (CMV)-E; 11) E-(p2A)-gp2-(SV40)-(CMV)-gp4; 12) *rtg* E-(p2A)- *rtg* gp2-(SV40)-(CMV)- *rtg* gp4; 13) (PE)gp2-(PE)gp4-(PE)E; 14) (PE)gp2-(PE)E; 15) (PE)gp2; 16) (PE)gp2-(PE)gp3; 16) (PE)gp2-(PE)gp4; 17) (PE)gp2-(PE)gp5a; 18) (PE)E; 19) (PE)E-(PE)gp3; 20) (PE)E-(PE)gp4; 19) (PE)E-(PE)gp5a; 20). Theo một phương án ưu tiên, vectơ này chứa và biểu hiện tối thiểu là (PE)gp2, (PE)gp4 và (PE)E,

thể dại hoặc dạng "rtg" của chúng. Có lợi, nếu vectơ này cũng có thể chứa gp2 cộng với gen khác bất kỳ mã hóa polypeptit PRRSV.

Việc hướng đích lại có thể được thực hiện bằng cách thay thế miền xuyên màng (transmembrane - TM) và miền đuôi của tế bào chất (cytoplasmic tail - CT) của các protein gp2, gp3, gp4, gp5a, gp5 hoặc E hiện có lần lượt bằng các miền TM và CT của VSV. Theo một phương án, các protein gp5 và M cũng có thể được đưa vào quy trình hướng đích lại. Các trình tự protein PRRSV nguyên thể cũng có thể hoặc theo cách khác được thay thế bằng trình tự tín hiệu tPA và mỗi hoặc cả hai TM và CT của VSV (hoặc các yếu tố giống như vậy từ polypeptit được biểu hiện trên bề mặt thích hợp khác). Theo cách khác, việc hướng đích lại có thể được thực hiện bằng cách thay thế các miền CT của protein gp2, gp3, gp4, gp5a, E, gp5 hoặc M hiện có bằng các miền CT của VSV (tức là không thay đổi các miền TM hiện có). Việc hướng đích lại của E cũng có thể được thực hiện bằng cách thay thế các tín hiệu định vị tế bào của nó bằng tín hiệu định vị tế bào từ protein màng Typ II, hoặc bằng VSV-G hoặc tổ hợp của chúng, hoặc các miền TM/CT của các glycoprotein bề mặt khác.

Các tác giả sáng chế còn hình dung nhiều biện pháp thay thế biểu hiện các kháng nguyên PRRSV với hệ miễn dịch của động vật chủ. Ví dụ, các kháng nguyên này có thể được biểu hiện trên bề mặt của các hạt giống virut (virus-like particle - VLP). Theo các phương án khác, các dạng hòa tan của kháng nguyên có thể được dùng cho động vật chủ, trong đó sự polyme hóa ở mức thấp (bao gồm sự trime hóa) của các protein với nhau, hoặc ngoài ra, với các thành phần của VSV-G, hoặc các protein khác của virut hoặc sự polyme hóa ở mức thấp bất kỳ (bao gồm các môtip trime hóa) (ví dụ, các môtip từ GCN4 của vi khuẩn, và các dạng tương tự). Hơn nữa, các miền TM/CT của các glycoprotein bề mặt typ I của virut được thấy là đạt được cùng một mục đích như, và do đó, có thể thay cho, các miền tương ứng từ VSV-G.

Do đó, dưới đây sáng chế sẽ được bộc lộ, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ biết được nhiều cách thay thế và tương đương về mặt chức năng để thực hiện hầu như là cùng một sự trình diện của các protein thứ yếu của PRRSV, bao gồm E, gp2, gp3, gp4, gp5a, các protein chủ yếu, bao gồm gp5 và M, hoặc tổ hợp của các protein thứ yếu và/hoặc các protein chủ yếu, với hệ miễn dịch của động vật chủ.

Sáng chế còn mô tả phương pháp chủng ngừa cho động vật bao gồm việc cho động vật này dùng một lượng có hiệu quả của một hoặc nhiều vacxin hoặc chế phẩm mà có thể chứa vacxin PRRSV chứa vectơ adenovirut với lượng có hiệu quả và tùy ý chất mang, chất bổ trợ, tá dược, hoặc chất dẫn dược dụng hoặc được chấp nhận dùng trong thú y. Việc dùng này có thể là dùng dưới da, trong mũi, trong cơ, qua da, trong da, trên niêm mạc, kể cả dùng qua đường miệng, hoặc đường dùng bất kỳ khác.

Sáng chế còn mô tả việc dùng vacxin hoặc chế phẩm bằng quy trình chủng ngừa nhắc lại. Sáng chế còn đề xuất kit dùng để thực hiện phương pháp gây hoặc tạo ra đáp ứng miễn dịch mà có thể bao gồm chế phẩm hoặc vacxin bất kỳ trong số các chế phẩm miễn dịch hoặc vacxin Ad5 tái tổ hợp, hoặc các chế phẩm miễn dịch hoặc vacxin bất hoạt, và hướng dẫn để thực hiện phương pháp này.

Do đó, mục đích của sáng chế là không bao gồm trong phạm vi của sáng chế này sản phẩm bất kỳ đã biết, quy trình bào chế sản phẩm đó, hoặc phương pháp sử dụng sản phẩm đó, vì vậy Các tác giả sáng chế bảo lưu quyền đối với sáng chế này và nhờ đó đưa ra đối tượng không được bảo hộ của sản phẩm, quy trình, hoặc phương pháp bất kỳ đã biết trước đây. Cũng lưu ý rằng sáng chế không dự định bao gồm trong phạm vi của nó sản phẩm bất kỳ, quy trình bào chế sản phẩm này hoặc phương pháp sử dụng sản phẩm này, mà không đáp ứng yêu cầu đối với bản mô tả và việc bộc lộ sáng chế của USPTO (35 U.S.C. §112, đoạn thứ nhất) hoặc EPO (Điều 83 của EPC), vì vậy Các tác giả sáng chế bảo lưu quyền loại trừ các đối tượng đó và không yêu cầu bảo hộ sản phẩm bất kỳ đã được mô tả trước đây, quy trình bào chế sản phẩm đó, hoặc phương pháp sử dụng sản phẩm đó.

Các phương án này và các phương án khác được bộc lộ hoặc là hiển nhiên từ và có trong phần mô tả chi tiết dưới đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Phần mô tả chi tiết sau, được đưa ra để làm ví dụ, nhưng không được dự định giới hạn phạm vi của sáng chế chỉ ở các phương án cụ thể được mô tả, có thể được hiểu tốt nhất kết hợp với các hình vẽ kèm theo, trong đó:

Fig.1 thể hiện bản đồ của các đoạn xen dùng để tạo ra bốn vectơ virut tái tổ hợp khác nhau biểu hiện các protein thứ yếu của vỏ virut của virut gây hội chứng sinh sản và

hô hấp ở lợn (porcine reproductive and respiratory syndrome virus - PRRSV). vAD3042 biểu hiện gp2, gp3 và gp4 mà không phải E của PRRSV được tối ưu hóa bộ ba mã hóa (A); vAD3038 biểu hiện ("*rtg*") *rtg*-gp2, *rtg*-gp3 và *rtg*-gp4 mà không phải E được hướng đích lại, được tối ưu hóa bộ ba mã hóa (B); vAD3041 biểu hiện gp2, gp3, gp4 cùng với E được tối ưu hóa bộ ba mã hóa (C); vAD3067 biểu hiện *rtg*-gp2, *rtg*-gp3, *rtg*-gp4 cùng với E được tối ưu hóa bộ ba mã hóa (D); vAD3046 biểu hiện hemaglutinin của virut cúm lợn (Swine influenza virus hemaglutinin - SIV-HA) được tối ưu hóa bộ ba mã hóa (E); vAD3069 biểu hiện Nucleoprotein (Np hoặc N), M, gp5 và gp5a được tối ưu hóa bộ ba mã hóa (F); và vAD3064 biểu hiện rtg-M, rtg-gp5 và rtg-gp5a được tối ưu hóa bộ ba mã hóa (G);

Fig.2 là sơ đồ thể hiện sự sắp xếp của các protein "chủ yếu" và "thứ yếu" của PRRSV trên bề mặt của màng virut;

Fig.3 là sơ đồ thể hiện sự sắp xếp và sự tương tác của các protein "thứ yếu" của PRRSV, vì bằng chứng hiện nay và đã được bộc lộ chỉ ra các protein này được hiểu là tương tác với các thụ thể trên bề mặt tế bào của vật chủ (ví dụ, CD163);

Fig.4 là ảnh gel thể hiện amplicon PCR của vùng của protein thứ yếu của PRRSV được cài xen trong vAD3041 cấy truyền 3 (A) và vAD3042 cấy truyền 3 (B);

Fig.5A thể hiện sơ đồ dùng để hướng đích lại các protein vỏ của PRRSV đến bề mặt tế bào;

Các Fig.5B-5D thể hiện bản đồ của các protein *rtg*-gp2, *rtg*-gp3 và *rtg*-gp4, trong đó các miền TM và CT nội sinh đã được thay thế bằng các miền xuyên màng (TM) và đuôi của tế bào chất (CT) của virut gây bệnh mụn nước ở miệng-G (vesicular stomatitis virus-G - VSV-G), trình tự tín hiệu đã được thay thế, chất đánh dấu epitop đã được bổ sung vào và các trình tự liên kết đã được cài xen vào;

Fig.6 thể hiện các ảnh của thử nghiệm huỳnh quang miễn dịch (immunofluorescence assay - IFA) của các tế bào HEK 293T đã được cố định mà được chuyển nạp bằng các protein *rtg*-gp2, *rtg*-gp3 và *rtg*-gp4 được đánh dấu epitop;

Fig.7 thể hiện sự thấm tách Western (Western Blot - WB) kháng VSVG của dịch tan được đồng kết tủa miễn dịch (co-immunoprecipitated - co-IP) từ các tế bào HEK

293T đã được chuyển nạp bằng các plasmit mã hóa đối với mỗi protein vỏ đã được hướng đích lại riêng rẽ;

Fig.8 thể hiện một số WB của dịch tan được đồng kết tủa miễn dịch từ các tế bào HEK 293T đã được chuyển nạp bằng các plasmit mã hóa đối với mỗi protein vỏ được hướng đích lại riêng rẽ hoặc CD16 của lợn. IP: α-VSV, Wb: α-VSV-HRP (A); IP: α-VSV, Wb: α-CD163 (B); IP: α-CD163, Wb: α-CD163-Biotin (C);

Fig.9A đến Fig.9C thể hiện các ảnh của thử nghiệm huỳnh quang miễn dịch (IFA) kép của các tế bào HEK 293 bị nhiễm vAD3038 (chứa *rtg*-gp234 đã được tối ưu hóa bộ ba mã hóa); và được nhuộm đồng thời bằng hai kháng thể đặc hiệu với các protein được chỉ định và các chất đánh dấu huỳnh quang khác nhau. Các ảnh được chụp từ trường quang học giống nhau bằng cách sử dụng các bộ lọc đặc hiệu đối với mỗi nhóm huỳnh quang. Các ảnh tương ứng được thể hiện bằng mũi tên;

Fig.10 là đồ thị mô tả chi tiết các mẫu thu được và thời gian thu mẫu trong toàn bộ nghiên cứu này;

Fig.11 là đồ thị thể hiện sự phân bố của điểm đánh giá tổn thương phổi giữa các nhóm khác nhau. vAD3042 (Ad5 biểu hiện gp2 thể dại, gp3 thể dại và gp4 thể dại, đã được tối ưu hóa bộ ba mã hóa); vAD3041 (Ad5 biểu hiện gp2 thể dại, gp3 thể dại, gp4 thể dại và E thể dại, đã được tối ưu hóa bộ ba mã hóa); vAD3038 (Ad5 biểu hiện *rtg*-gp2, *rtg*-gp3 và *rtg*-gp4, được tối ưu hóa bộ ba mã hóa); và vAD3033 (Ad5 biểu hiện gen hemaglutinin (HA) đã được tối ưu hóa bộ ba mã hóa của virut cúm lợn (swine influenza virus - SIV), đối chứng âm tính). Trung vị (thanh ngang) và trung bình (+) và các hộp thể hiện khoảng cách giữa khoảng tứ phân vị thứ 1 và thứ 3. Các vòng tròn màu xám biểu thị điểm đánh giá phổi thực tế của mỗi lợn trong mỗi nhóm;

Fig.12 liệt kê và mô tả các trình tự có mặt trong danh mục trình tự;

Fig.13 là sự bắt cặp ClustalW của các trình tự polypeptit gp2 như được xác định trong các SEQ ID NO.34-39;

Fig.14 là sự bắt cặp ClustalW của các trình tự polypeptit gp3 như được xác định trong các SEQ ID NO.40-45;

Fig.15 là sự bắt cặp ClustalW của các trình tự polypeptit gp4 như được xác định trong các SEQ ID NO.46-51;

Fig.16 là sự bắt cặp ClustalW của các trình tự polypeptit E như được xác định trong các SEQ ID NO.52-58;

Fig.17 là sự bắt cặp ClustalW của các trình tự polypeptit gp5a như được xác định trong các SEQ ID NO.62-65;

Fig.18 là đồ thị thể hiện điểm đánh giá tổn thương phổi của lợn đã được dùng vAd3038 (Gp234-Rtrg + vacxin chết) hoặc vAd3046 (SIV-HA);

Fig.19 là đồ thị thể hiện tải lượng virut trong huyết thanh của lợn đã được dùng vAd3038 (Gp234-Rtrg + vacxin chết) hoặc vAd3046 (SIV-HA);

Fig.20 so sánh các đáp ứng miễn dịch của các nhóm 1, 2, 4 và 5, trước và sau khi gây nhiễm. Sự thấm tách Western được phát hiện bằng kháng V5 để hiển thị hóa các mức protein E (trên cùng bên trái); kháng Flag để phát hiện gp3 (bên phải); và kháng HA để hiển thị hóa các mức protein gp4 (phía dưới bên trái);

Fig.21 là đồ thị thể hiện điểm đánh giá tổn thương phổi của lợn được dùng vAD3067 (IM/IM) tiếp theo dùng vacxin chết, vAD3067 (IN/IM) tiếp theo dùng vacxin chết; vAD3067+vAD3064 (IN/IM) tiếp theo dùng vacxin chết; hoặc vAD3046 tiếp theo dùng giả dược. Toàn bộ các vacxin chết được dùng một lần IM;

Fig.22 là đồ thị thể hiện tải lượng virut trong huyết thanh của lợn được dùng vAD3067 (IM/IM) tiếp theo dùng vacxin chết, vAD3067 (IN/IM) tiếp theo dùng vacxin chết; vAD3067+vAD3064 (IN/IM) tiếp theo dùng vacxin chết; hoặc vAD3046 và giả dược. Toàn bộ các vacxin chết được dùng một lần IM;

Fig.23 thể hiện các kết quả của nghiên cứu kết tủa miễn dịch được thiết kế để thăm dò sự tương tác có thể giữa E và gp4 được hướng đích lại (không quan sát thấy sự tương tác). Trong cấu trúc này, chất đánh dấu Flag được gắn với gp3; chất đánh dấu V5 được gắn với E; chất đánh dấu HA được gắn với gp4; và, chất đánh dấu Myc được gắn với gp2. WB (thấm tách Western), IP (kết tủa miễn dịch), S (các gp hòa tan) và V (các gp được đánh dấu VSV);

Fig.24 thể hiện các kết quả của nghiên cứu IP được thiết kế để thăm dò sự tương tác có thể giữa E và gp3 được hướng đích lại (không quan sát thấy sự tương tác).

Mô tả chi tiết sáng chế

Lưu ý rằng trong bản mô tả sáng chế này và đặc biệt là trong yêu cầu bảo hộ và/hoặc các đoạn, thuật ngữ "chứa" và các thuật ngữ tương tự có thể có nghĩa như được quy định trong luật sáng chế Mỹ; ví dụ, chúng có thể có nghĩa "bao gồm", và các nghĩa tương tự; và các thuật ngữ như "về cơ bản được cấu thành từ" và "về cơ bản bao gồm" có nghĩa như được quy định trong luật sáng chế Mỹ, ví dụ, chúng cho phép các phần tử không cần trích dẫn cụ thể, nhưng loại trừ các phần tử được tìm thấy trong giải pháp kỹ thuật đã biết hoặc ảnh hưởng đến tính cơ bản hoặc mới của sáng chế.

Trừ khi được giải thích khác, toàn bộ các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học dùng trong bản mô tả này có nghĩa giống như thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực mà sáng chế này thuộc về. Các thuật ngữ dạng số ít "một" ("a", "an", và "the" trong bản mô tả tiếng Anh) cũng bao gồm cả dạng số nhiều trừ khi ngữ cảnh chỉ rõ khác. Tương tự, từ "hoặc" được sử dụng trong bản mô tả để chỉ "và" trừ khi ngữ cảnh chỉ rõ khác.

Thuật ngữ "khoảng" được sử dụng trong bản mô tả này, có nghĩa là xấp xỉ, trong vùng, gần như, hoặc quanh. Khi thuật ngữ "khoảng" được sử dụng cùng với phạm vi về số lượng, nó thay đổi phạm vi đó bằng cách kéo dài biên trên và dưới các trị số được nêu. Nói chung, thuật ngữ "khoảng" được sử dụng trong bản mô tả này để thay đổi trị số trên và dưới trị số đã định với phương sai 10%. Theo một khía cạnh, thuật ngữ "khoảng" được sử dụng trong bản mô tả để chỉ cộng hoặc trừ 20% giá trị số của số mà nó được sử dụng cùng. Do đó, khoảng 50% có nghĩa là nằm trong khoảng 45%-55%. Các phạm vi số được trích dẫn trong bản mô tả này bởi các điểm nút bao gồm toàn bộ các số và các phân số được xếp trong phạm vi đó (ví dụ, 1 đến 5 bao gồm 1, 1,5, 2, 2,75, 3, 3,90, 4, và 5). Cũng cần phải hiểu rằng toàn bộ những số và các phân số của nó được giả định là được thay đổi bởi thuật ngữ "khoảng."

Theo sáng chế, adenovirut 5 (Ad5), hoặc một vectơ thích hợp khác, được sử dụng để phân phối và biểu hiện các protein vỏ PRRSV được chọn ở động vật chủ *in vivo*, để gây ra đáp ứng miễn dịch an toàn và có hiệu quả ở động vật chống sự gây nhiễm bằng thử nghiệm hoặc tự nhiên bởi PRRSV có độc lực.

Trong khi Ad5 được sử dụng để phân phối các protein PRRSV theo sáng chế này, vectơ thích hợp khác bất kỳ có thể được sử dụng. Ví dụ, baculovirut, poxvirut, bao gồm

virut gây bệnh đậu gà và virut gây bệnh đậu chim bạch yến có thể được sử dụng để phân phối các tổ hợp gen mới và sáng tạo được bộc lộ trong bản mô tả này. Theo một phương án khác, cytomegalovirut loài lợn (porcine cytomegalovirus - PCMV), mà là virut ecpet được tìm thấy trong các mô trong toàn bộ cơ thể bao gồm mũi của lợn mới sinh trong đó nó gây ra chứng viêm (bệnh viêm mũi), có thể được sử dụng làm vectơ.

Do đó, sáng chế đề cập đến vacxin hoặc chế phẩm miễn dịch mà có thể chứa một hoặc nhiều vectơ Ad5 được xử lý kỹ thuật, hoặc các vectơ thích hợp khác, với lượng có hiệu quả, và tùy ý, chất mang, chất bổ trợ, tá dược, hoặc chất dẫn dược dụng hoặc được chấp nhận dùng trong thú y.

Do đó, sáng chế bao gồm vectơ Ad5 được xử lý kỹ thuật, hoặc vectơ thích hợp khác, biểu hiện (các) protein vỏ, (các) polypeptit, (các) kháng nguyên, (các) epitop hoặc (các) chất kháng nguyên của PRRSV, mà gây ra đáp ứng sinh miễn dịch ở động vật. Protein, polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên của PRRSV bao gồm ít nhất một protein, polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên thứ yếu của PRRSV, được chọn từ gp2, gp3, gp4, gp5a và E của PRRSV.

Thuật ngữ "polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên thứ yếu của PRRSV" được sử dụng trong bản mô tả để chỉ polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên thứ yếu bất kỳ của virut gây hội chứng sinh sản và hô hấp ở lợn. Hiện nay, các polypeptit thứ yếu hoặc các thành phần của nó bao gồm các protein gp2, gp3, gp4, gp5a và E, nhưng có thể là các protein khác liên quan đến các protein thứ yếu hiện đã biết mà cũng có thể được sử dụng một cách có hiệu quả trong quá trình thực hiện sáng chế được bộc lộ. Nói chung, và thuật ngữ "miền ngoại bào" được sử dụng trong bản mô tả để chỉ miền hoặc các miền của protein màng mà kéo dài vào khoảng không ngoại bào. Như vậy, việc đề cập bất kỳ đến phần trăm đồng nhất với miền ngoại bào của protein đã định không được dự định bao gồm sự so sánh với các miền không phải ngoài tế bào, bao gồm miền xuyên màng (transmembrane domains - TMD) và miền tế bào chất (cytoplasmic domain - CTD), của protein này.

Thuật ngữ "động vật" được sử dụng trong bản mô tả để chỉ động vật có vú, người, chim, và các loài tương tự. Động vật này có thể được chọn từ nhóm bao gồm loài ngựa (ví dụ, ngựa), loài chó (ví dụ, chó, chó sói, cáo, chó sói đồng cỏ, chó rừng), loài mèo (ví dụ, sư tử, hổ, mèo nhà, mèo hoang, mèo lớn khác, và loài mèo khác bao gồm báo gêpa và

mèo rừng), loài cừu (ví dụ, cừu), loài bò (ví dụ, gia súc, bò, trâu), loài lợn (lợn), loài chim (ví dụ, gà, vịt, ngỗng, gà tây, chim cút, gà lôi, vẹt, chim họ sẻ, diều hâu, quạ, đà điểu châu Phi, đà điểu sa mạc Úc và đà điểu đầu mèo), động vật linh trưởng (ví dụ, bộ bán hầu, phủ hầu, khỉ, vượn, khỉ không đuôi), và cá. Thuật ngữ "động vật" cũng được sử dụng trong bản mô tả để chỉ động vật riêng ở toàn bộ các giai đoạn phát triển, bao gồm các giai đoạn phôi và bào thai.

Theo sáng chế, sự bảo vệ miễn dịch của các lợn chống virut gây hội chứng sinh sản và hô hấp ở lợn có tầm quan trọng chủ yếu. Tuy nhiên, các khái niệm được nêu trong bản mô tả này sẽ áp dụng được như nhau cho các virut khác trong đó, như trong bản mô tả này, mức độ biểu hiện tương đối thấp hoặc bị hạn chế của các protein bề mặt quan trọng "làm trung gian cho sự xâm nhập của tế bào" làm cho sự phát triển của vacxin đặc biệt là thách thức. Do đó, như được bộc lộ trong bản mô tả này, việc hướng đích lại và/hoặc đi kèm (chaperoning) của "các protein vỏ thứ yếu" này đến bề mặt tế bào có ứng dụng đạt đến mức rộng đối với toàn bộ các virut có vỏ.

Theo một phương án, chế phẩm miễn dịch hoặc vacxin Ad5 chứa một hoặc nhiều vectơ Ad5 được xử lý kỹ thuật, và tùy ý tá dược, chất bổ trợ, chất mang hoặc chất dẫn dược dụng hoặc được chấp nhận dùng trong thú y. Vectơ Ad5 được xử lý kỹ thuật có thể chứa polynucleotit mã hóa protein, polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên thứ yếu của PRRSV. Protein, polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên của PRRSV có thể là gp2, gp3, gp4, gp5a, E, hoặc mảnh bất kỳ của chúng.

Thuật ngữ "kháng nguyên" hoặc "chất kháng nguyên" được sử dụng trong bản mô tả để chỉ chất gây đáp ứng miễn dịch đặc hiệu ở động vật chủ. Kháng nguyên có thể bao gồm sinh vật nguyên vẹn, được làm chết, giảm độc lực hoặc sống; tiểu đơn vị hoặc một phần của sinh vật; vectơ tái tổ hợp chứa đoạn xen biểu hiện epitop, polypeptit, peptit, protein, hoặc mảnh của chúng có đặc tính sinh miễn dịch; đoạn hoặc mảnh của axit nucleic có khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch khi trình diện với động vật chủ; protein, polypeptit, peptit, epitop, hapten, hoặc tổ hợp bất kỳ của chúng. Theo cách khác, chất kháng nguyên hoặc kháng nguyên có thể bao gồm độc tố hoặc kháng độc tố.

Thuật ngữ "protein hoặc peptit sinh miễn dịch" được sử dụng trong bản mô tả này còn bao gồm các peptit và các polypeptit có hoạt tính miễn dịch với nghĩa là ngay khi được dùng cho vật chủ, nó có thể gây ra đáp ứng miễn dịch kiểu dịch thể và/hoặc tế bào

trực tiếp chống lại protein. Tốt hơn là mảnh protein là mảnh có hoạt tính miễn dịch gần giống như protein nguyên thể nguyên vẹn, đầy đủ. Do đó, mảnh protein theo sáng chế bao gồm hoặc về cơ bản được cấu thành từ hoặc được cấu thành từ ít nhất một epitop hoặc quyết định kháng nguyên. Thuật ngữ epitop, còn được gọi là quyết định kháng nguyên, là một phần của đại phân tử được nhận diện bởi hệ miễn dịch và có thể gây ra phản ứng miễn dịch loại dịch thể (tế bào B) và/hoặc loại tế bào (tế bào T).

Thuật ngữ "protein hoặc peptit sinh miễn dịch" cũng được sử dụng trong bản mô tả để chỉ sự mất đoạn, thêm đoạn và thay thế vào trình tự, miễn là polypeptit này có chức năng tạo ra đáp ứng miễn dịch như được xác định trong bản mô tả này. Về mặt này, sự thay thế được đặc biệt ưu tiên thường sẽ có bản chất bảo toàn, tức là sự thay thế mà diễn ra trong họ các axit amin. Ví dụ, các axit amin nói chung được chia thành bốn họ: (1) axit--aspartat và glutamat; (2) bazơ--lysin, arginin, histidin; (3) không phân cực--alanin, valin, leuxin, isoleuxin, prolin, phenylalanin, metionin, tryptophan; và (4) phân cực không mang điện--glyxin, asparagin, glutamin, xystin, serin, threonin, tyrosin. Phenylalanin, tryptophan, và tyrosin đôi khi được phân loại là các axit amin thơm. Có thể dự đoán một cách hợp lý rằng việc thay thế riêng biệt leuxin bằng isoleuxin hoặc valin, hoặc ngược lại; aspartat bằng glutamat hoặc ngược lại; threonin bằng serin hoặc ngược lại; hoặc việc thay thế bảo toàn tương tự axit amin bằng axit amin có liên quan về mặt cấu trúc, sẽ không có tác dụng chủ yếu đến hoạt tính sinh học. Các protein có trình tự axit amin gần giống như phân tử đối chiếu nhưng có sự thay thế axit amin nhỏ mà không ảnh hưởng đáng kể đến khả năng sinh miễn dịch của protein là, do đó, thuộc định nghĩa của polypeptit đối chiếu.

Thuật ngữ "epitop" được sử dụng trong bản mô tả để chỉ một phần của đại phân tử được nhận diện bởi hệ miễn dịch và có thể gây ra phản ứng miễn dịch loại dịch thể (tế bào B) và/hoặc loại tế bào (tế bào T). Thuật ngữ này cũng được sử dụng thay thế cho thuật ngữ "quyết định kháng nguyên" hoặc "vị trí quyết định kháng nguyên". Các kháng thể mà nhận diện cùng một epitop có thể được xác định trong thử nghiệm miễn dịch đơn giản thể hiện khả năng của một kháng thể phong bế gắn kết của một kháng thể khác với kháng nguyên đích.

"Đáp ứng miễn dịch" với chế phẩm hoặc vacxin là quá trình trong vật chủ có đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào và/hoặc kháng thể với chế phẩm hoặc vacxin cần

quan tâm. Thông thường, "đáp ứng miễn dịch" bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, một hoặc nhiều tác động sau: sản sinh kháng thể, tế bào B, tế bào T hỗ trợ, và/hoặc tế bào T độc, hướng đặc hiệu đến kháng nguyên hoặc các kháng nguyên được chứa trong chế phẩm hoặc vacxin cần quan tâm. Tốt hơn là, vật chủ sẽ biểu hiện đáp ứng miễn dịch trị liệu hoặc bảo vệ sao cho tính kháng với việc nhiễm mới sẽ được tăng cường và/hoặc mức độ nghiêm trọng lâm sàng của bệnh được làm giảm. Sự bảo vệ này sẽ được minh họa bởi việc giảm hoặc mất các triệu chứng thường được biểu hiện bởi vật chủ bị nhiễm, thời gian hồi phục nhanh hơn và/hoặc hàm lượng virut được giảm trong vật chủ bị nhiễm.

Thuật ngữ protein hoặc polypeptit "sinh miễn dịch" được sử dụng trong bản mô tả để chỉ trình tự axit amin gây đáp ứng miễn dịch như được mô tả trên đây. Protein hoặc polypeptit "sinh miễn dịch", được sử dụng trong bản mô tả này, bao gồm protein có trình tự với chiều dài đầy đủ, thể tương tự của chúng, hoặc các mảnh sinh miễn dịch của chúng. "Mảnh sinh miễn dịch" có nghĩa là mảnh của protein chứa một hoặc nhiều epitop và do đó, gây ra đáp ứng miễn dịch được mô tả trên đây. Các mảnh như vậy có thể được nhận diện bằng cách sử dụng một số kỹ thuật lập bản đồ epitop bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này. Xem, ví dụ, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66 (Glenn E. Morris, Ed., 1996).

Ví dụ, các epitop thẳng có thể được xác định bằng cách, ví dụ, tổng hợp đồng thời một số lượng lớn các peptit trên chất mang rắn, các peptit này tương ứng với các phần của phân tử protein, và cho các peptit này phản ứng với các kháng thể trong khi các peptit này vẫn được gắn vào chất mang. Các kỹ thuật như vậy là đã biết trong lĩnh vực này và được mô tả trong, ví dụ, patent Mỹ số 4,708,871; Geysen et al., 1984; Geysen et al., 1986. Tương tự, các epitop cấu hình riêng được nhận diện dễ dàng bằng cách xác định cấu hình trong không gian của các axit amin như bằng, ví dụ, tinh thể học tia x và cộng hưởng từ hạt nhân 2 chiều. Xem, ví dụ, Epitope Mapping Protocols, nêu trên.

Các kháng nguyên tổng hợp cũng được bao gồm trong định nghĩa này, ví dụ, polyepitop, epitop bên sườn, và các kháng nguyên tái tổ hợp hoặc có nguồn gốc tổng hợp khác. Các mảnh sinh miễn dịch, nhằm các mục đích của sáng chế, thường sẽ có phân tử chứa ít nhất khoảng 3 axit amin, khoảng 5 axit amin, khoảng 10-15 axit amin, khoảng 15-25 axit amin hoặc nhiều axit amin hơn. Không có giới hạn trên tới hạn đối với chiều dài

của mảnh, mà có thể bao gồm gần như chiều dài đầy đủ của trình tự protein, hoặc ngay cả protein dung hợp chứa ít nhất một epitop của protein.

Do đó, cấu trúc tối thiểu của polynucleotit biểu hiện epitop là ở chỗ nó bao gồm hoặc về cơ bản được cấu thành từ hoặc được cấu thành từ các nucleotit để mã hóa epitop hoặc quyết định kháng nguyên của protein hoặc polypeptit PRRSV. Polynucleotit mã hóa mảnh của protein toàn phần hoặc polypeptit bao gồm hoặc về cơ bản được cấu thành từ hoặc được cấu thành từ tối thiểu là 15 nucleotit, có lợi là khoảng 30-45 nucleotit, và tốt hơn là khoảng 45-75, ít nhất là 57, 87 hoặc 150 nucleotit liền nhau hoặc liền kề của trình tự mã hóa protein toàn phần hoặc polypeptit này. Các quy trình xác định epitop, như, tạo ra thư viện peptit chồng chéo (Hemmer et al., 1998), Pepscan (Geysen et al., 1984; Geysen et al., 1985; Van der Zee R. et al., 1989; Geysen, 1990; Multipin.RTM. Peptide Synthesis Kits de Chiron) và các thuật toán (De Groot et al., 1999), có thể được sử dụng trong thực hành sáng chế, mà không cần thử nghiệm bất thường.

"Polynucleotit" là dạng polyme của các nucleotit có chiều dài bất kỳ chứa các deoxyribonucleotit, các ribonucleotit, và các thể tương tự theo tổ hợp bất kỳ. Các polynucleotit có thể có cấu trúc ba chiều, và có thể thực hiện chức năng bất kỳ, đã biết hoặc chưa biết. Thuật ngữ "polynucleotit" bao gồm các phân tử xoắn sợi kép, đơn, và ba. Trừ khi có quy định hoặc yêu cầu khác, phương án bất kỳ theo sáng chế được mô tả trong bản mô tả này là polynucleotit bao gồm cả dạng sợi kép và mỗi trong số hai dạng bổ sung đã biết hoặc được dự đoán để cấu thành dạng sợi kép của mỗi phân tử ADN, ARN hoặc phân tử lai.

Thuật ngữ "sự tối ưu hóa bộ ba mã hóa" được sử dụng trong bản mô tả để chỉ quá trình cấu hình một cách tối ưu trình tự axit nucleic mã hóa protein, polypeptit, kháng nguyên, epitop, miền hoặc mảnh để biểu hiện/dịch mã trong vật chủ được chọn. Nói chung, mức độ biểu hiện gen phụ thuộc vào nhiều yếu tố, như các trình tự khởi động và các yếu tố điều hòa. Một trong số các yếu tố quan trọng nhất là sự thích ứng của việc sử dụng bộ ba mã hóa của gen phiên mã với việc sử dụng bộ ba mã hóa điển hình của vật chủ (Lithwich, G. and Margalit, H., Genome Res. 13, 2665-2673, 2003). Do đó, các gen được biểu hiện cao trong hệ gen của sinh vật chưa có nhân điển hình dưới sự chọn lọc dịch mã có khuynh hướng sử dụng bộ ba mã hóa rõ rệt. Điều này là vì chúng sử dụng một tập nhỏ các bộ ba mã hóa mà được nhận diện bởi loại ARN vận chuyển có nhiều nhất

(Ikemura, T., J. Mol. Biol. 151, 389-409, 1981). Lực mà điều biến sự thích ứng bộ ba mã hóa này được gọi là sự chọn lọc dịch mã và cường độ của nó là quan trọng ở vi khuẩn phát triển nhanh (Rocha, E.P., Genome Res. 14, 2279-2286, 2004; Sharp, P.M. et al., Nucleic Acids Res. 33, 1141-1153). Nếu một gen chứa các bộ ba mã hóa mà hiếm khi được sử dụng bởi vật chủ, thì mức độ biểu hiện của nó sẽ không phải lớn nhất. Điều này có thể là một trong số các hạn chế của sự biểu hiện protein không tương đồng (Gustafsson, C. et al., Trends Biotechnol. 22, 346-353, 2004) và sự phát triển của các vacxin ADN (Ivory, C. and Chadee, K., Genet. Vaccines Ther. 2, 17, 2004).Số lượng gen tổng hợp cao đã được thiết kế lại để làm tăng mức độ biểu hiện của chúng. Cơ sở dữ liệu gen tổng hợp (Synthetic Gene Database - SGDB) (Wu, G. et al., Nucleic Acids Res. 35, D76-D79, 2007) chứa thông tin từ hơn 200 thử nghiệm đã được công bố trên các gen tổng hợp. Trong quy trình thiết kế trình tự axit nucleic mà sẽ được cài xen vào trong vật chủ mới để biểu hiện protein nhất định với lượng tối ưu, sự tối ưu hóa việc sử dụng bộ ba mã hóa thường là một trong số các bước đầu tiên (Gustafsson, C., Trends Biotechnol. 22, 346-353, 2004).Sự tối ưu hóa việc sử dụng bộ ba mã hóa về cơ bản liên quan đến việc thay đổi các bộ ba mã hóa hiếm trong gen đích sao cho chúng phản ánh gần hơn việc sử dụng bộ ba mã hóa của vật chủ mà không biến đổi trình tự axit amin của protein được mã hóa (Gustafsson, C., Trends Biotechnol. 22, 346-353, 2004). Do đó, thông tin thường được sử dụng cho quy trình tối ưu hóa là trình tự ADN hoặc protein cần được tối ưu hóa và bảng sử dụng bộ ba mã hóa (tập hợp tham chiếu) của vật chủ.

Có một số máy chủ web công cộng và các ứng dụng đứng riêng rẽ mà cho phép tối ưu hóa một số loại bộ ba mã hóa bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực này.'*GeneDesign*' (Richardson, S.M. et al., Genome Res. 16, 550-556, 2006), '*Synthetic Gene Designer*' (Wu, G. et al., Protein Expr. Purif. 47, 441-445, 2006) và '*Gene Designer*' (Villalobos, A. et al., BMC Bioinformatics 7, 285, 2006) là các gói cung cấp nền tảng cho việc thiết kế gen tổng hợp, bao gồm bước tối ưu hóa bộ ba mã hóa.Về các phương pháp để tối ưu hóa việc sử dụng bộ ba mã hóa có sẵn trong mỗi máy chủ hoặc chương trình, chương trình thứ nhất được phát triển chỉ sử dụng phương pháp 'một axit amin-một bộ ba mã hóa'. Các chương trình và các máy chủ gần đây hơn hiện bao gồm nhiều phương pháp hơn để tạo ra một số độ biến thiên việc sử dụng bộ ba mã hóa. Độ biến thiên này phản ánh độ biến thiên việc sử dụng bộ ba mã hóa của các gen tự nhiên được biểu hiện cao và cho phép các tiêu chuẩn bổ sung được đưa vào (như tránh các vị trí cắt giới hạn)

trong quy trình tối ưu hóa.Hầu hết các ứng dụng và các máy chủ web được mô tả trong bản mô tả này cung cấp ba phương pháp tối ưu hóa bộ ba mã hóa: tối ưu hóa hoàn toàn toàn bộ các bộ ba mã hóa, tối ưu hóa dựa trên tần suất sử dụng bộ ba mã hóa tương đối của tập hợp tham chiếu mà sử dụng nghiên cứu Monte Carlo và nghiên cứu mới được thiết kế để làm tăng đến mức tối đa sự tối ưu hóa với các thay đổi tối thiểu giữa trình tự truy vấn và trình tự được tối ưu hóa.

Theo một phương án, trình tự axit nucleic mã hóa protein, kháng nguyên, peptit, mảnh polypeptit, miền, hoặc epitop thứ yếu của PRRSV tái tổ hợp được tối ưu hóa bộ ba mã hóa để biểu hiện ở động vật. Theo một phương án khác, các trình tự được tối ưu hóa bộ ba mã hóa mã hóa các protein, các kháng nguyên, các peptit, các polypeptit, các mảnh, các miền, hoặc các epitop vỏ thứ yếu PRRSV ở loài lợn để biểu hiện ở động vật. Theo một phương án khác nữa, các trình tự được tối ưu hóa bộ ba mã hóa mã hóa các protein, các kháng nguyên, các peptit, các polypeptit, các mảnh, các miền, hoặc các epitop gp2, gp3, gp4, gp5a, gp5 hoặc E của PRRSV để biểu hiện ở động vật.

Sau đây là các ví dụ không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế về các polynucleotit: gen hoặc mảnh gen, exon, intron, mARN, tARN, rARN, siARN, ribozym, cADN, polynucleotit tái tổ hợp, polynucleotit mạch nhánh, plasmit, vectơ, ADN được phân lập có trình tự bất kỳ, ARN được phân lập có trình tự bất kỳ, mẫu dò và đoạn mồi của axit nucleic. Polynucleotit có thể bao gồm các nucleotit được cải biến, như nucleotit được metyl hóa và thể tương tự nucleotit, uraxil, các đường khác và các nhóm liên kết như floriboza và thiolat, và các nhánh nucleotit. Trình tự của các nucleotit có thể được cải biến tiếp sau khi polyme hóa, như bằng cách tiếp hợp, với thành phần đánh dấu. Các loại cải biến khác được bao gồm trong định nghĩa này là gắn mũ, thay thế một hoặc nhiều nucleotit có trong tự nhiên bằng thể tương tự, và đưa bằng cách nào đó để gắn polynucleotit vào các protein, ion kim loại, thành phần đánh dấu, polynucleotit khác hoặc chất mang rắn. Các polynucleotit này có thể thu được bằng cách tổng hợp hóa học hoặc thu được từ vi sinh vật.

Thuật ngữ "gen" được sử dụng rộng rãi để chỉ đoạn polynucleotit bất kỳ liên quan đến chức năng sinh học. Do đó, các gen bao gồm các intron và exon như trong trình tự hệ gen, hoặc chỉ là trình tự mã hóa như trong các cADN và/hoặc trình tự điều hòa cần thiết cho sự biểu hiện của chúng. Ví dụ, gen cũng được dùng để chỉ mảnh axit nucleic mà biểu

hiện mARN hoặc ARN chức năng, hoặc mã hóa protein đặc hiệu, và chứa các trình tự điều hòa.

Sáng chế còn bao gồm sợi bổ sung vào polynucleotit mã hóa protein, kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên vỏ thứ yếu của PRRSV. Sợi bổ sung này có thể là polyme và có chiều dài bất kỳ, và có thể chứa các deoxyribonucleotit, các ribonucleotit, và thể tương tự theo tổ hợp bất kỳ của chúng.

Các thuật ngữ "protein", "peptit", "polypeptit" và "mảnh polypeptit" được sử dụng thay thế nhau trong bản mô tả này để chỉ các polyme chứa các gốc axit amin có chiều dài bất kỳ. Polyme này có thể có mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nó có thể chứa các axit amin được cải biến hoặc các thể tương tự axit amin, và nó có thể bị gián đoạn bởi các gốc hóa học không phải axit amin. Các thuật ngữ này cũng bao gồm polyme axit amin mà được cải biến một cách tự nhiên hoặc bằng cách can thiệp; ví dụ, tạo ra liên kết disulfua, glycosyl hóa, lipit hóa, axetyl hóa, phosphoryl hóa, hoặc thao tác hoặc cải biến khác bất kỳ, như liên hợp với thành phần đánh dấu hoặc có hoạt tính sinh học.

Polynucleotit hoặc polypeptit "được phân lập" là polynucleotit hoặc polypeptit mà "hầu như không chứa" các nguyên liệu mà nó có liên quan trong môi trường tự nhiên của nó. Cụm từ "hầu như không chứa," được sử dụng trong bản mô tả để chỉ polynucleotit hoặc polypeptit đã được loại bỏ các nguyên liệu này với lượng ít nhất 50%, ít nhất 70%, ít nhất 80%, ít nhất 90%, hoặc ít nhất 95%. Nếu polynucleotit hoặc polypeptit "được phân lập" được gọi là "gần như hoàn toàn không chứa tạp chất," được sử dụng trong bản mô tả để chỉ polynucleotit hoặc polypeptit được phân lập đã được loại bỏ các nguyên liệu này với lượng ít nhất là 98%.

Sáng chế còn bao gồm các polynucleotit mã hóa các biến thể và các dẫn xuất tương đương về mặt chức năng của các polypeptit PRRSV và các mảnh tương đương về mặt chức năng của chúng mà có thể tăng cường, làm giảm hoặc ảnh hưởng không đáng kể đến các đặc tính vốn có của các polypeptit được mã hóa từ đó. Các biến thể, các dẫn xuất, và các mảnh tương đương về mặt chức năng này biểu thị khả năng duy trì hoạt tính. Ví dụ, các thay đổi trong trình tự ADN mà không làm thay đổi trình tự axit amin được mã hóa, cũng như các thay đổi mà dẫn đến các thay thế bảo toàn của các gốc axit amin, một hoặc vài sự mất đoạn hoặc sự thêm đoạn axit amin, và sự thay thế của các gốc axit amin bằng các axit amin tương tự là các thay đổi mà sẽ không tác động đáng kể đến các đặc

tính của polypeptit được mã hóa. Theo một phương án, các biến thể có mức độ tương đồng hoặc độ tương đồng ít nhất 50%, ít nhất 55%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 86%, ít nhất 87%, ít nhất 88%, ít nhất 89%, ít nhất 90%, ít nhất 91%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99% so với polynucleotit hoặc polypeptit PRRSV cần quan tâm.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến polypeptit PRRSV, cụ thể là các polypeptit vỏ thứ yếu của PRRSV. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 3, 5, 7, 14, 16, 18, 20, 31, 34-39, 40-45, 46-51, 52-58, 59-61, 62-66, 68, 71, 73, 75, 77, hoặc 79-139, hoặc các biến thể hoặc các mảnh của chúng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit có độ tương đồng trình tự ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với polypeptit gp2, gp3, gp4, gp5a, gp5 hoặc E của PRRSV theo sáng chế, cụ thể là so với polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 3, 5, 7, 14, 16, 18, 20, 31, 34-39, 40-45, 46-51, 52-58, 59-61, 62-66, 68, 71, 73, 75, 77, hoặc 79-139.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến mảnh và các biến thể của các polypeptit gp2, gp3, gp4, gp5a, gp5 hoặc E của PRRSV được xác định trên đây (SEQ ID NO.1, 3, 5, 7, 14, 16, 18, 20, 31, 34-39, 40-45, 46-51, 52-58, 59-61, 62-66, 68, 71, 73, 75, 77, hoặc 79-139) mà có thể dễ dàng được tạo ra bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử đã biết. Các biến thể là các polypeptit tương đồng có trình tự axit amin có độ tương đồng ít nhất khoảng 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với các polypeptit có tính kháng nguyên theo sáng chế, cụ thể là so với trình tự axit amin như được xác định trong SEQ ID NO.1, 3, 5, 7, 14, 16, 18, 20, 31, 34-39, 40-45, 46-51, 52-58, 59-61, 62-66, 68, 71, 73, 75, 77, hoặc 79-139.

Mảnh sinh miễn dịch của polypeptit gp2, gp3, gp4, gp5a, gp5 hoặc E của PRRSV bao gồm ít nhất 8, 10, 15, hoặc 20 axit amin liền nhau, ít nhất 21 axit amin, ít nhất 23 axit amin, ít nhất 25 axit amin, hoặc ít nhất 30 axit amin của polypeptit gp2, gp3, gp4, gp5a, gp5 hoặc E của PRRSV có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 3, 5, 7, 14, 16, 18, 20, 31, 34-39, 40-45, 46-51, 52-58, 59-61, 62-66, 68, 71, 73, 75, 77, hoặc 79-139, hoặc các

biến thể của chúng. Theo một phương án khác, mảnh của polypeptit gp2, gp3, gp4, gp5a, gp5 hoặc E của PRRSV bao gồm epitop có tính kháng nguyên đặc hiệu được tìm thấy trên polypeptit gp2, gp3, gp4, gp5a, gp5 hoặc E của PRRSV có chiều dài đầy đủ.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit mã hóa polypeptit gp2, gp3, gp4, gp5a, gp5 hoặc E của PRRSV, như polynucleotit mã hóa polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 3, 5, 7, 14, 16, 18, 20, 31, 34-39, 40-45, 46-51, 52-58, 59-61, 62-66, 68, 71, 73, 75, 77, hoặc 79-139. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit mã hóa polypeptit có độ tương đồng trình tự ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 3, 5, 7, 14, 16, 18, 20, 31, 34-39, 40-45, 46-51, 52-58, 59-61, 62-66, 68, 71, 73, 75, 77, hoặc 79-139, hoặc biến thể bảo toàn, biến thể alen, chất tương đồng hoặc mảnh sinh miễn dịch chứa ít nhất tám hoặc ít nhất mười axit amin liền nhau của một trong số các polypeptit này, hoặc tổ hợp của các polypeptit này. Polynucleotit mã hóa polypeptit gp2, gp3, gp4, gp5a, gp5 hoặc E của PRRSV có thể được tối ưu hóa bộ ba mã hóa để biểu hiện trong loài động vật cụ thể.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit có trình tự nucleotit như được xác định trong SEQ ID NO.2, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 17, 19, 21-24, 30, 67, 69, 70, 72, 74, 76, hoặc 78, hoặc biến thể của chúng. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit có độ tương đồng trình tự ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với polynucleotit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.2, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 17, 19, 21-24, 30, 67, 69, 70, 72, 74, 76, hoặc 78, hoặc biến thể của chúng.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến polypeptit PRRSV, cụ thể là polypeptit E của PRRSV. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.7, 20, 52-58, hoặc 130-139, và biến thể hoặc mảnh của nó.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit có độ tương đồng trình tự ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với polypeptit E của PRRSV theo sáng chế, cụ thể là so với các polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.7, 20, 52-58, hoặc 130-139.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến mảnh và các biến thể của các polypeptit E của PRRSV được xác định trên đây (SEQ ID NO.7, 20, 52-58, hoặc 130-

139) mà có thể dễ dàng được tạo ra bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử đã biết.

Các biến thể là các polypeptit tương đồng có trình tự axit amin có độ tương đồng ít nhất khoảng 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với các polypeptit có tính kháng nguyên theo sáng chế, cụ thể là so với trình tự axit amin như được xác định trong SEQ ID NO.7, 20, 52-58, hoặc 130-139.

Mảnh sinh miễn dịch của polypeptit Ecủa PRRSV bao gồm ít nhất 8, 10, 15, hoặc 20 axit amin liền nhau, ít nhất 21 axit amin, ít nhất 23 axit amin, ít nhất 25 axit amin, hoặc ít nhất 30 axit amin của polypeptit E của PRRSV có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.7, 20, 52-58, hoặc 130-139, hoặc các biến thể của chúng. Theo một phương án khác, mảnh của polypeptit E của PRRSV bao gồm epitop có tính kháng nguyên đặc hiệu được tìm thấy trên polypeptit E của PRRSV có chiều dài đầy đủ.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit mã hóa polypeptit E của PRRSV, như polynucleotit mã hóa polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.7, 20, 52-58, hoặc 130-139. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit mã hóa polypeptit có độ tương đồng trình tự ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.7, 20, 52-58, hoặc 130-139, hoặc biến thể bảo toàn, biến thể alen, chất tương đồng hoặc mảnh sinh miễn dịch chứa ít nhất tám hoặc ít nhất mười axit amin liền nhau của một trong số các polypeptit này, hoặc tổ hợp của các polypeptit này. Polynucleotit mã hóa polypeptit E của PRRSV có thể được tối ưu hóa bộ ba mã hóa để biểu hiện trong loài động vật cụ thể.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến polypeptit PRRSV, cụ thể là polypeptit gp2 của PRRSV. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 14, 34-39, hoặc 80-89, và biến thể hoặc mảnh của nó.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit có độ tương đồng trình tự ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với polypeptit gp2 của PRRSV theo sáng chế, cụ thể là với các polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 14, 34-39, hoặc 80-89.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến mảnh và các biến thể của các polypeptit gp2 của PRRSV được xác định trên đây (SEQ ID NO.1, 14, 34-39, hoặc 80-89) mà có thể dễ dàng được tạo ra bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử đã biết.

Các biến thể là các polypeptit tương đồng có trình tự axit amin có độ tương đồng ít nhất khoảng 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với các polypeptit có tính kháng nguyên theo sáng chế, cụ thể là so với trình tự axit amin như được xác định trong SEQ ID NO.1, 14, 34-39, hoặc 80-89.

Mảnh sinh miễn dịch của polypeptit gp2 của PRRSV bao gồm ít nhất 8, 10, 15, hoặc 20 axit amin liền nhau, ít nhất 21 axit amin, ít nhất 23 axit amin, ít nhất 25 axit amin, hoặc ít nhất 30 axit amin của polypeptit gp2 của PRRSV có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 14, 34-39, hoặc 80-89, hoặc các biến thể của chúng. Theo một phương án khác, mảnh của polypeptit gp2 của PRRSV bao gồm epitop có tính kháng nguyên đặc hiệu được tìm thấy trên polypeptit gp2 của PRRSV có chiều dài đầy đủ.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit mã hóa polypeptit gp2 của PRRSV, như polynucleotit mã hóa polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 14, 34-39, hoặc 80-89. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit mã hóa polypeptit có độ tương đồng trình tự ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 14, 34-39, hoặc 80-89, hoặc biến thể bảo toàn, biến thể alen, chất tương đồng hoặc mảnh sinh miễn dịch chứa ít nhất tám hoặc ít nhất mười axit amin liền nhau của một trong số các polypeptit này, hoặc tổ hợp của các polypeptit này. Polynucleotit mã hóa polypeptit gp2 của PRRSV có thể được tối ưu hóa bộ ba mã hóa để biểu hiện trong loài động vật cụ thể.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến polypeptit PRRSV, cụ thể là polypeptit gp3 của PRRSV. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.3, 16, hoặc 40-45, và biến thể hoặc mảnh của nó.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit có độ tương đồng trình tự ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với polypeptit gp3 của PRRSV theo sáng chế, cụ thể là với các polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.3, 16, hoặc 40-45.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến mảnh và các biến thể của các polypeptit gp3 của PRRSV được xác định trên đây (SEQ ID NO.3, 16, hoặc 40-45) mà có thể dễ dàng được tạo ra bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử đã biết.

Các biến thể là các polypeptit tương đồng có trình tự axit amin có độ tương đồng ít nhất khoảng 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với các polypeptit có tính kháng nguyên theo sáng chế, cụ thể là so với trình tự axit amin như được xác định trong SEQ ID NO.3, 16, hoặc 40-45.

Mảnh sinh miễn dịch của polypeptit gp3của PRRSV bao gồm ít nhất 8, 10, 15, hoặc 20 axit amin liền nhau, ít nhất 21 axit amin, ít nhất 23 axit amin, ít nhất 25 axit amin, hoặc ít nhất 30 axit amin của polypeptit gp3 của PRRSV có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.3, 16, hoặc 40-45, hoặc các biến thể của chúng. Theo một phương án khác, mảnh của polypeptit gp3 của PRRSV bao gồm epitop có tính kháng nguyên đặc hiệu được tìm thấy trên polypeptit gp3 của PRRSV có chiều dài đầy đủ.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit mã hóa polypeptit gp3 của PRRSV, như polynucleotit mã hóa polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.3, 16, hoặc 40-45. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit mã hóa polypeptit có độ tương đồng trình tự ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.3, 16, hoặc 40-45, hoặc biến thể bảo toàn, biến thể alen, chất tương đồng hoặc mảnh sinh miễn dịch chứa ít nhất tám hoặc ít nhất mười axit amin liền nhau của một trong số các polypeptit này, hoặc tổ hợp của các polypeptit này. Polynucleotit mã hóa polypeptit gp3 của PRRSV có thể được tối ưu hóa bộ ba mã hóa để biểu hiện trong loài động vật cụ thể.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến polypeptit PRRSV, cụ thể là polypeptit gp4 của PRRSV. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.5, 18, hoặc 46-51, và biến thể hoặc mảnh của nó.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit có độ tương đồng trình tự ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với polypeptit gp4 của PRRSV theo sáng chế, cụ thể là với các polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.5, 18, hoặc 46-51.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến mảnh và các biến thể của các polypeptit gp4 của PRRSV được xác định trên đây (SEQ ID NO.5, 18, hoặc 46-51) mà có thể dễ dàng được tạo ra bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử đã biết.

Các biến thể là các polypeptit tương đồng có trình tự axit amin có độ tương đồng ít nhất khoảng 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với các polypeptit có tính kháng nguyên theo sáng chế, cụ thể là so với trình tự axit amin như được xác định trong SEQ ID NO.5, 18, hoặc 46-51.

Mảnh sinh miễn dịch của polypeptit gp4của PRRSV bao gồm ít nhất 8, 10, 15, hoặc 20 axit amin liền nhau, ít nhất 21 axit amin, ít nhất 23 axit amin, ít nhất 25 axit amin, hoặc ít nhất 30 axit amin của polypeptit gp4 của PRRSV có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.5, 18 hoặc 46-51, hoặc các biến thể của chúng. Theo một phương án khác, mảnh của polypeptit gp4 của PRRSV bao gồm epitop có tính kháng nguyên đặc hiệu được tìm thấy trên polypeptit gp4 của PRRSV có chiều dài đầy đủ.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit mã hóa polypeptit gp4 của PRRSV, như polynucleotit mã hóa polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.5, 18, hoặc 46-51. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit mã hóa polypeptit có độ tương đồng trình tự ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.5, 18, hoặc 46-51, hoặc biến thể bảo toàn, biến thể alen, chất tương đồng hoặc mảnh sinh miễn dịch chứa ít nhất tám hoặc ít nhất mười axit amin liền nhau của một trong số các polypeptit này, hoặc tổ hợp của các polypeptit này. Polynucleotit mã hóa polypeptit gp4 của PRRSV có thể được tối ưu hóa bộ ba mã hóa để biểu hiện trong loài động vật cụ thể.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến polypeptit PRRSV, cụ thể là polypeptit gp5a của PRRSV. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO:31 hoặc 62-65, và biến thể hoặc mảnh của nó.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit có độ tương đồng trình tự ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với polypeptit gp5a của PRRSV theo sáng chế, cụ thể là với các polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO:31 hoặc 62-65.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến mảnh và các biến thể của các polypeptit gp5a của PRRSV được xác định trên đây (SEQ ID NO:31 hoặc 62-65) mà có thể dễ dàng được tạo ra bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử đã biết.

Các biến thể là các polypeptit tương đồng có trình tự axit amin có độ tương đồng ít nhất khoảng 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với các polypeptit có tính kháng nguyên theo sáng chế, cụ thể là so với trình tự axit amin như được xác định trong SEQ ID NO:31 hoặc 62-65.

Mảnh sinh miễn dịch của polypeptit gp5acủa PRRSV bao gồm ít nhất 8, 10, 15, hoặc 20 axit amin liền nhau, ít nhất 21 axit amin, ít nhất 23 axit amin, ít nhất 25 axit amin, hoặc ít nhất 30 axit amin của polypeptit gp5a của PRRSV có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.31 hoặc 62-65, hoặc các biến thể của chúng. Theo một phương án khác, mảnh của polypeptit gp5a của PRRSV bao gồm epitop có tính kháng nguyên đặc hiệu được tìm thấy trên polypeptit gp5a của PRRSV có chiều dài đầy đủ.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit mã hóa polypeptit gp5a của PRRSV, như polynucleotit mã hóa polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.31 hoặc 62-65. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit mã hóa polypeptit có độ tương đồng trình tự ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với polypeptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.31 hoặc 62-65, hoặc biến thể bảo toàn, biến thể alen, chất tương đồng hoặc mảnh sinh miễn dịch chứa ít nhất tám hoặc ít nhất mười axit amin liền nhau của một trong số các polypeptit này, hoặc tổ hợp của các polypeptit này. Polynucleotit mã hóa polypeptit gp5a của PRRSV có thể được tối ưu hóa bộ ba mã hóa để biểu hiện trong loài động vật cụ thể.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit có trình tự nucleotit như được xác định trong SEQ ID NO.2, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 17, 19, 21-24, 30, 67, 69, 70, 72, 74, 76, hoặc 78, hoặc biến thể của chúng. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit có độ tương đồng trình tự ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với một trong số các polynucleotit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.2, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 17, 19, 21-24, 30, 67, 69, 70, 72, 74, 76, hoặc 78, hoặc biến thể của chúng.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm miễn dịch hoặc vacxin an toàn và có hiệu quả chứa: một hoặc nhiều vectơ virut tái tổ hợp, chứa một hoặc nhiều polynucleotit không tương đồng, mã hóa một hoặc nhiều kháng nguyên, polypeptit, miền ngoại bào gp2, gp3, gp4, gp5a, gp5 hoặc E của virut gây hội chứng sinh sản và hô hấp ở lợn (PRRSV), hoặc biến thể của chúng; và chất mang dược dụng hoặc được chấp nhận dùng trong thú y. "Biến thể của chúng" được sử dụng trong bản mô tả để chỉ các phiên bản tương đương về mặt miễn dịch của các kháng nguyên, các polypeptit và các miền ngoại bào, bao gồm, ví dụ, các biến thể được hướng đích lại của các protein như được bộc lộ trong bản mô tả này. "Tương đương về mặt miễn dịch" được sử dụng trong bản mô tả để chỉ "biến thể của chúng" có khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch gần như tương tự - khi so với kháng nguyên, polypeptit hoặc miền ngoại bào so sánh ban đầu - bao gồm đáp ứng miễn dịch bảo vệ.

Theo một số phương án về chế phẩm, một hoặc nhiều vectơ chứa vectơ adenovirut 5 PRRSV tái tổ hợp (Ad5-PRRSV), vectơ baculovirut PRRSV tái tổ hợp, vectơ cytomegalovirut PRRSV loài lợn tái tổ hợp hoặc vectơ poxvirut PRRSV tái tổ hợp.

Theo một số phương án, một hoặc nhiều vectơ chứa: trình tự nucleotit mã hóa kháng nguyên, polypeptit, miền ngoại bào E của PRRSV hoặc biến thể của nó; hoặc, trình tự nucleotit mã hóa kháng nguyên, polypeptit, miền ngoại bào gp2, gp3, gp4, gp5a, gp5 hoặc M của được cải biến, hoặc biến thể của nó, trong đó trình tự định vị tế bào hiện có của gp2, gp3, gp4, gp5a, gp5 hoặc M đã được thay thế bằng trình tự xác định biểu hiện bề mặt tế bào từ gen không tương đồng. Theo một số phương án, một hoặc nhiều vectơ chứa hỗn hợp của hai vectơ, vectơ thứ nhất biểu hiện các protein thứ yếu của PRRSV được hướng đích lại, và vectơ thứ hai biểu hiện các protein chủ yếu của PRRSV được hướng đích lại.

Theo một số phương án, (các) vectơ tái tổ hợp chứa polynucleotit mã hóa kháng nguyên, polypeptit hoặc miền ngoại bào có: độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với một hoặc nhiều trình tự bất kỳ nêu trong SEQ ID NO.1, 3, 5, 7, 14, 16, 18, 20, 31, 34-39, 40-45, 46-51, 52-58, 59-61, 62-66, 68, 71, 73, 75, 77, hoặc 79-139; hoặc, độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 90% so với trình tự miền ngoại bào như được xác định trong trình tự con của SEQ ID NO.1, 3, 5, 7, 14, 16, 18, 20, 31, 34-39, 40-45, 46-51, 52-58, 59-61, 62-66, 68, 71, 73, 75, 77, hoặc 79-139.

Theo một số phương án, vectơ Ad5-PRRSV tái tổ hợp chứa polynucleotit có: độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với SEQ ID NO.2, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 17, 19, 21-24, 30, 67, 69, 70, 72, 74, 76, hoặc 78; hoặc, độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với trình tự miền ngoại bào được mã hóa bởi trình tự con của SEQ ID NO.2, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 17, 19, 21-24, 30, 67, 69, 70, 72, 74, 76, hoặc 78.

Theo một số phương án, chế phẩm hoặc vacxin này chứa một hoặc hai vectơ Ad5-PRRSV. Theo một số phương án, Ad5-PRRSV có thể biểu hiện gp2 và E; gp2, gp4 và E; gp2, gp3, gp4 và E; rtg-gp2, rtg-gp3 và rtg-gp4; rtg-gp2 và E; rtg-gp2, rtg-gp4 và E; rtg-gp3 và E; rtg-gp4 và E; chỉ E; chỉ rtg-E; rtg-gp5, rtg-M.

Theo một số phương án, vectơ tái tổ hợp Ad5-PRRSV chứa polynucleotit mã hóa kháng nguyên, polypeptit hoặc miền ngoại bào có độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với SEQ ID NO.1, 3, 5, 7, 14, 16, 18, 20, 31, 34-39, 40-45, 46-51, 52-58, 59-61, 62-66, 68, 71, 73, 75, 77, hoặc 79-139; hoặc, chứa polynucleotit mã hóa miền ngoại bào có độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với miền ngoại bào như được xác định trong trình tự con của SEQ ID NO.1, 3, 5, 7, 14, 16, 18, 20, 31, 34-39, 40-45, 46-51, 52-58, 59-61, 62-66, 68, 71, 73, 75, 77, hoặc 79-139.

Theo một số phương án, vectơ Ad5-PRRSV tái tổ hợp chứa polynucleotit có độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với SEQ ID NO.2, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 17, 19, 21-24, 30, 67, 69, 70, 72, 74, 76, hoặc 78; hoặc, chứa polynucleotit có độ tương đồng ít nhất 90% so với trình tự miền ngoại bào được mã hóa bởi trình tự con của SEQ ID NO.2, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 17, 19, 21-24, 30, 67, 69, 70, 72, 74, 76, hoặc 78.

Theo một số phương án, vectơ Ad5-PRRSV tái tổ hợp chứa một hoặc nhiều polynucleotit mã hóa một hoặc nhiều kháng nguyên, polypeptit, miền ngoại bào gp2, gp3, gp4, gp5a, gp5 hoặc E của PRRSV, hoặc các biến thể của chúng, hoặc tổ hợp của chúng.

Theo một số phương án, vectơ Ad5-PRRSV tái tổ hợp chứa một hoặc nhiều polynucleotit mã hóa một hoặc nhiều kháng nguyên, polypeptit hoặc miền ngoại bào có: (a) độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO.1, 3, 5, 7, 14, 16, 18, 20, 31, 34-39, 40-45, 46-51, 52-58, 59-61, 62-66, 68, 71, 73, 75, 77, hoặc 79-139; hoặc, (b) độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với (các) miền ngoại bào được bao gồm bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO.1, 3, 5, 7, 14, 16, 18, 20, 31, 34-39, 40-45, 46-51, 52-58, 59-61, 62-66, 68, 71, 73, 75, 77, hoặc 79-139. "(Các) miền ngoại bào được bao gồm

bởi," được dự định rằng chỉ phần ngoại bào (tức là không phải phần xuyên màng hoặc tế bào chất) của trình tự đã định được tính trong giới hạn tỷ lệ phần trăm độ tương đồng trình tự. Ví dụ, nếu polypeptit được cấu thành từ 200 axit amin có miền ngoại bào kéo dài qua các axit amin # 20 đến 100, polypeptit so sánh chỉ cần giống 90% (tức là theo cách diễn đạt độ tương đồng trình tự là 90%) qua các axit amin # 20 đến 100. Ở đây sáng chế được bộc lộ, các tác giả sáng chế thấy được rằng người có hiểu biết trung bình có thể chọn một cách thông thường từ nhiều TMD và CTD để kết hợp với các miền ngoại bào của đối tượng được bộc lộ và các tổ hợp của các polypeptit PRRSV bảo vệ.

Theo một số phương án, một hoặc nhiều polynucleotit có độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO.2, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 17, 19, 21-24, 30, 67, 69, 70, 72, 74, 76, hoặc 78; hoặc, các polynucleotit có độ tương đồng trình tự ít nhất 90% qua chiều dài của miền ngoại bào được mã hóa bởi trình tự như nêu trong trình tự con của SEQ ID NO.2, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 17, 19, 21-24, 30, 67, 69, 70, 72, 74, 76, hoặc 78. Người có hiểu biết trung bình bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường có thể hiểu hoặc xác định được các trình tự polynucleotit nào mã hóa các miền ngoại bào.

Theo một số phương án, vectơ Ad5-PRRSV chứa polynucleotit mã hóa polypeptit gp2 của PRRSV có: (a) độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 14, 34-39, hoặc 80-89 (protein gp2); hoặc (b) độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với trình tự miền ngoại bào như được xác định trong trình tự con của SEQ ID NO.1, 14, 34-39, hoặc 80-89.

Theo một số phương án, vectơ Ad5-PRRSV chứa polynucleotit mã hóa polypeptit E của PRRSV có: (a) độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO.7, 20, 52-58, hoặc 130-139 (protein E); hoặc (b) độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với trình tự miền ngoại bào như được xác định trong trình tự con của SEQ ID NO.7, 20, 52-58, hoặc 130-139.

Theo một số phương án, vectơ Ad5-PRRSV chứa polynucleotit mã hóa polypeptit gp3 của PRRSV có: (a) độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO.5, 18, 40-45, hoặc 90-99 (protein gp3); hoặc (b) độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với trình tự miền ngoại bào như được xác định trong trình tự con của SEQ ID NO.5, 18, 40-45, hoặc 90-99.

Theo một số phương án, vectơ Ad5-PRRSV chứa hai polynucleotit mã hóa các polypeptit gp2 và E của PRRSV có: (a) độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với một trong số các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 14, 34-39, hoặc 80-89 (protein gp2) và một trong số các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.7, 20, 52-58, hoặc 130-139 (protein E); hoặc (b) độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với trình tự miền ngoại bào như được xác định trong trình tự con của SEQ ID NO.1, 14, 34-39, hoặc 80-89 (protein gp2) và trình tự miền ngoại bào như được xác định trong trình tự con của SEQ ID NO.7, 20, 52-58, hoặc 130-139 (protein E).

Theo một số phương án, vectơ Ad5-PRRSV chứa các polynucleotit mã hóa các polypeptit gp2, E và gp4 của PRRSV có: (a) độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với một trong số các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 14, 34-39, hoặc 80-89 (protein gp2), một trong số các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.7, 20, 52-58, hoặc 130-139 (protein E) và một trong số các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.5, 18, 40-45, 90-99 (protein gp3); hoặc (b) độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với miền ngoại bào được bao gồm bởi một trong số các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 14, 34-39, hoặc 80-89 (protein gp2), miền ngoại bào được bao gồm bởi một trong số các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.7, 20, 52-58, hoặc 130-139 (protein E) và miền ngoại bào được bao gồm bởi một trong số các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.5, 18, 40-45, 90-99 (protein gp3).

Theo một khía cạnh khác, sáng chế mô tả phương pháp gây đáp ứng miễn dịch bảo vệ ở động vật cần bảo vệ chống PRRSV bao gồm việc cho động vật này dùng vectơ Ad5-PRRSV tái tổ hợp biểu hiện ít nhất một kháng nguyên gp2, gp3, gp4, gp5a, gp5 hoặc E của PRRSV, và, chất mang, chất bổ trợ, tá dược hoặc chất dẫn dược dụng hoặc được chấp nhận dùng trong thú y.

Theo một số phương án về phương pháp này, vectơ Ad5-PRRSV chứa một hoặc nhiều polynucleotit mã hóa một hoặc nhiều polypeptit có: (a) độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với một trong số các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 14, 34-39, hoặc 80-89 (protein gp2) và SEQ ID NO.7, 20, 52-58, hoặc 130-139 (protein E); hoặc (b) độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với (các) miền ngoại bào của protein gp2 hoặc protein E được bao gồm bởi các trình tự tương ứng nêu trên.

Phương pháp theo điểm 24, trong đó vectơ Ad5-PRRSV chứa một hoặc nhiều polynucleotit mã hóa một hoặc nhiều polypeptit có độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với một trong số các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1, 14, 34-39, hoặc 80-89 (protein gp2), một trong số các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.7, 20, 52-58, hoặc 130-139 (protein E) và một trong số các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.5, 18, 40-45, 90-99 (protein gp3); hoặc (b) độ tương đồng trình tự ít nhất 90% so với các miền ngoại bào gp2, E và gp3 được bao gồm bởi các trình tự tương ứng nêu trên.

Theo một số phương án, việc dùng là bằng cách dùng qua miệng-mũi, phun xịt, nước uống, trong cơ, hoặc dưới da, trong da, qua da. Theo một số phương án, việc dùng này là chủng ngừa nhắc lại. Theo một số phương án, lần chủng ngừa thứ nhất là hỗn hợp của hai vectơ Ad5, vectơ thứ nhất biểu hiện các protein thứ yếu của PRRSV được hướng đích lại và vectơ thứ hai biểu hiện các protein chủ yếu của PRRSV; và lần chủng ngừa tăng cường bao gồm hoặc về cơ bản được cấu thành từ cả hai vectơ của lần chủng ngừa thứ nhất, hoặc mỗi vectơ riêng rẽ. Theo một số phương án, động vật cần bảo vệ là loài lợn.

Nói chung, việc so sánh các trình tự axit amin được thực hiện bằng cách bắt cặp trình tự axit amin của polypeptit có cấu trúc đã biết với trình tự axit amin của polypeptit có cấu trúc chưa biết. Sau đó, các axit amin trong các trình tự này được so sánh và các nhóm của các axit amin mà tương đồng được nhóm cùng nhau. Phương pháp này phát hiện các vùng được bảo toàn của các polypeptit và giải thích cho các xen đoạn và mất đoạn axit amin. Mức độ tương đồng giữa các trình tự axit amin có thể được xác định bằng cách sử dụng các thuật toán có sẵn trên thị trường (cũng xem phần mô tả về mức độ tương đồng trên đây). Ngoài các chương trình khác không được nêu trong bản mô tả này, có thể kể đến các chương trình BLAST, gapped BLAST, BLASTN, BLASTP, và PSI-BLAST, được cung cấp bởi Trung tâm thông tin công nghệ sinh học quốc gia (National Center for Biotechnology Information). Các chương trình này được sử dụng rộng rãi trong lĩnh vực này nhằm mục đích này và có thể bắt cặp các vùng tương đồng của hai trình tự axit amin.

Ngoài ra, thuật ngữ "mức độ tương đồng" hoặc "độ tương đồng", ví dụ, liên quan đến trình tự nucleotit hoặc axit amin, có thể cho thấy thước đo định lượng về mức độ tương đồng giữa hai trình tự. Phần trăm độ tương đồng trình tự có thể được tính bằng

$(N_{ref} - N_{dif})*100/N_{ref}$, trong đó N_{dif} là tổng số gốc không giống nhau trong hai trình tự khi được bắt cặp và trong đó N_{ref} là số gốc của một trong số các trình tự. Vì vậy, trình tự ADN AGTCAGTC sẽ có độ tương đồng trình tự là 75% so với trình tự AATCAATC (N_{ref} = 8; N_{dif}=2).

Ngoài ra, "mức độ tương đồng" hoặc "độ tương đồng" liên quan đến các trình tự có thể chỉ số lượng vị trí nucleotit hoặc axit amin giống nhau chia cho số lượng nucleotit hoặc axit amin của trình tự ngắn hơn trong số hai trình tự trong đó sự bắt cặp của hai trình tự có thể được xác định theo thuật toán Wilbur và Lipman (Wilbur et al., 1983), ví dụ, bằng cách sử dụng kích thước cửa sổ là 20 nucleotit, độ dài từ là 4 nucleotit, và điểm phạt khoảng trống là 4, và phân tích được hỗ trợ bởi máy tính và việc giải thích dữ liệu trình tự bao gồm sự bắt cặp có thể được thực hiện một cách có lợi bằng cách sử dụng các chương trình có sẵn trên thị trường (ví dụ, Vector NTI Software ™, Invitrogen Inc. CA, USA). Khi trình tự ARN được cho là giống, hoặc có mức độ tương đồng hoặc tương đồng trình tự với trình tự ADN, thymidin (T) trong trình tự ADN được coi là tương đương với uraxil (U) trong trình tự ARN. Do đó, các trình tự ARN là nằm trong phạm vi của sáng chế và có thể thu được từ trình tự ADN, do thymidin (T) trong trình tự ADN được coi là tương đương với uraxil (U) trong trình tự ARN. Và, không cần thử nghiệm bất thường, người có hiểu biết trung bình có thể tham khảo nhiều chương trình hoặc tài liệu tham khảo khác để xác định tỷ lệ phần trăm tương đồng.

Sáng chế còn bao gồm các polynucleotit PRRSV được chứa trong phân tử vectơ hoặc vectơ biểu hiện và được liên kết hoạt động với yếu tố khởi động và tùy ý với trình tự tăng cường.

"Vectơ" được sử dụng trong bản mô tả để chỉ plasmit ADN hoặc ARN tái tổ hợp, thể thực khuẩn, hoặc virut chứa polynucleotit không tương đồng cần được phân phối đến tế bào đích, *in vitro* hoặc *in vivo*. Polynucleotit không tương đồng có thể bao gồm trình tự cần quan tâm nhằm mục đích phòng hoặc điều trị bệnh, và có thể tùy ý ở dạng băng biểu hiện. Khi được sử dụng trong bản mô tả này, vectơ cần phải không có khả năng sao chép trong tế bào hoặc đối tượng đích cuối cùng. Thuật ngữ "vectơ" bao gồm các vectơ để tạo dòng cũng như các vectơ virut.

Thuật ngữ "được xử lý kỹ thuật" hoặc "tái tổ hợp" được sử dụng trong bản mô tả để chỉ polynucleotit có nguồn gốc bán tổng hợp, hoặc tổng hợp mà không có trong tự

nhiên hoặc được liên kết với một polynucleotit khác theo cấu trúc không tìm thấy được trong tự nhiên.

"Không tương đồng" được sử dụng trong bản mô tả để chỉ có nguồn gốc từ thực thể khác biệt về mặt di truyền so với phần còn lại của thực thể mà nó được so sánh. Ví dụ, polynucleotit có thể được kết hợp vào plasmit hoặc vectơ có nguồn gốc từ nguồn khác bằng kỹ thuật xử lý di truyền, và do đó, là polynucleotit không tương đồng. Trình tự khởi động được tách ra khỏi trình tự mã hóa nguyên thể của nó và được liên kết hoạt động với trình tự mã hóa không phải trình tự nguyên thể là trình tự khởi động không tương đồng.

Các polynucleotit theo sáng chế có thể bao gồm các trình tự bổ sung, như các trình tự mã hóa bổ sung trong cùng đơn vị phiên mã, các yếu tố điều khiển như trình tự khởi động, vị trí gắn kết ribosom, 5'UTR, 3'UTR, vùng kết thúc phiên mã, vị trí polyadenyl hóa, đơn vị phiên mã bổ sung dưới sự điều khiển của trình tự khởi động giống hoặc khác, các trình tự cho phép tách dòng, biểu hiện, tái tổ hợp tương đồng, và biến nạp của tế bào chủ, và cấu trúc như vậy bất kỳ như có thể mong muốn để tạo ra các phương án của sáng chế.

Các yếu tố để biểu hiện polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên PRRSV là có mặt một cách có lợi trong vectơ theo sáng chế. Ở mức độ ít nhất, các yếu tố này bao gồm, về cơ bản được cấu thành từ, hoặc được cấu thành từ bộ ba mã hóa mở đầu (ATG), bộ ba mã hóa kết thúc và trình tự khởi động, và tùy ý còn trình tự polyadenyl hóa đối với các vectơ nhất định như plasmit và các vectơ virut nhất định. Khi polynucleotit mã hóa mảnh polypeptit, ví dụ, peptit PRRSV, một cách có lợi, trong vectơ này, ATG được đặt ở 5' của khung đọc và bộ ba mã hóa kết thúc được đặt ở 3'. Các yếu tố khác để kiểm soát sự biểu hiện có thể có mặt, như trình tự tăng cường, trình tự làm ổn định, như intron và hoặc các trình tự 5' hoặc 3' không được dịch mã và trình tự tín hiệu cho phép sự tiết protein.

Các phương pháp tạo ra và/hoặc dùng vectơ hoặc các thể tái tổ hợp hoặc plasmit để biểu hiện các sản phẩm gen theo sáng chế *in vivo* hoặc *in vitro* có thể là phương pháp mong muốn bất kỳ, ví dụ, phương pháp mà bằng hoặc tương tự như các phương pháp được bộc lộ trong các tài liệu được trích dẫn trong: patent Mỹ các số 4,603,112; 4,769,330; 4,394,448; 4,722,848; 4,745,051; 4,769,331; 4,945,050; 5,494,807; 5,514,375;

5,744,140; 5,744,141; 5,756,103; 5,762,938; 5,766,599; 5,990,091; 5,174,993; 5,505,941; 5,338,683; 5,494,807; 5,591,639; 5,589,466; 5,677,178; 5,591,439; 5,552,143; 5,580,859; 6,130,066; 6,004,777; 6,130,066; 6,497,883; 6,464,984; 6,451,770; 6,391,314; 6,387,376; 6,376,473; 6,368,603; 6,348,196; 6,306,400; 6,228,846; 6,221,362; 6,217,883; 6,207,166; 6,207,165; 6,159,477; 6,153,199; 6,090,393; 6,074,649; 6,045,803; 6,033,670; 6,485,729; 6,103,526; 6,224,882; 6,312,682; 6,348,450; 6,312,683, và 6,596,279; đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số12/753,597; WO 90/01543; W091/11525; WO 94/16716; WO 96/39491; WO 98/33510; EP 265785; EP 0 370 573.

Sáng chế còn đề xuất chế phẩm hoặc vacxin chứa các vectơ, như các vectơ biểu hiện. Chế phẩm hoặc vacxin này có thể chứa, về cơ bản được cấu thành từ, hoặc được cấu thành từ một hoặc nhiều vectơ, ví dụ, các vectơ biểu hiện, như các vectơ biểu hiện *in vivo*, chứa, về cơ bản được cấu thành từ hoặc được cấu thành từ (hoặc biểu hiện) một hoặc nhiều polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên của PRRSV. Vectơ chứa và biểu hiện polynucleotit mà bao gồm, về cơ bản được cấu thành từ, hoặc được cấu thành từ polynucleotit mã hóa (hoặc biểu hiện) kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên của PRRSV, trong chất mang, chất bổ trợ, tá dược hoặc chất dẫn dược dụng hoặc được chấp nhận dùng trong thú y.

Theo một phương án khác, vectơ hoặc các vectơ trong chế phẩm hoặc vacxin này chứa, hoặc về cơ bản được cấu thành từ, hoặc được cấu thành từ (các) polynucleotit mã hóa polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên PRRSV của một hoặc nhiều protein hoặc (các) mảnh của chúng. Chế phẩm hoặc vacxin theo sáng chế chứa, về cơ bản được cấu thành từ, hoặc được cấu thành từ, một hoặc nhiều vectơ chứa, về cơ bản được cấu thành từ, hoặc được cấu thành từ, và một cách có lợi, còn biểu hiện, *in vivo* trong các điều kiện thích hợp hoặc các điều kiện phù hợp hoặc trong tế bào phù hợp của vật chủ, các polynucleotit từ các thể phân lập PRRSV khác nhau mã hóa cùng protein và/hoặc các protein khác nhau.

Thuật ngữ plasmit bao hàm đơn vị phiên mã ADN bất kỳ chứa polynucleotit theo sáng chế và các yếu tố cần thiết cho sự biểu hiện *in vivo* của nó trong tế bào hoặc các tế bào của vật chủ hoặc đích mong muốn; và, về vấn đề này, lưu ý rằng plasmit siêu xoắn và toàn bộ các topoisome của nó, plasmit vòng mở, cũng như các dạng thẳng của plasmit, được dự định nằm trong phạm vi của sáng chế.

Mỗi plasmit bao gồm hoặc chứa hoặc về cơ bản được cấu thành từ, ngoài polynucleotit không tương đồng mã hóa protein, kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên tái tổ hợp, tùy ý được dung hợp với polynucleotit mã hóa trình tự, biến thể, chất tương tự hoặc mảnh peptit không tương đồng, được liên kết hoạt động với trình tự khởi động hoặc dưới sự kiểm soát của trình tự khởi động hoặc phụ thuộc vào trình tự khởi động. Nói chung, có lợi nếu sử dụng trình tự khởi động mạnh mà có chức năng trong các tế bào của sinh vật có nhân điển hình. Trình tự khởi động mạnh được ưu tiên là trình tự khởi động cytomegalovirut sớm ngay tức thì (immediate early cytomegalovirus - CMV-IE) có nguồn gốc từ người hoặc chuột, hoặc tùy ý có nguồn gốc khác như chuột cống hoặc chuột lang. Trình tự khởi động CMV-IE có thể bao gồm đoạn trình tự khởi động thực tế, mà có thể hoặc có thể không được kết hợp với đoạn trình tự tăng cường. Có thể tham khảo EP-A-260 148, EP-A-323 597, patent Mỹ các số 5,168,062, 5,385,839, và 4,968,615, cũng như công bố đơn PCT số WO87/03905. Một cách có lợi, trình tự khởi động CMV-IE là CMV-IE của người (Boshart et al., 1985) hoặc CMV-IE của chuột.

Theo thuật ngữ chung hơn, trình tự khởi động có nguồn gốc virut hoặc tế bào. Trình tự khởi động mạnh của virut không phải là CMV-IE mà có thể được dùng hữu ích trong thực hành sáng chế là trình tự khởi động sớm/muộn của virut SV40 hoặc trình tự khởi động LTR của virut sacom Rous. Trình tự khởi động mạnh của tế bào mà có thể được dùng hữu ích trong thực hành sáng chế là trình tự khởi động của gen của bộ khung tế bào, như ví dụ, trình tự khởi động desmin (Kwissa et al., 2000), hoặc trình tự khởi động actin (Miyazaki et al., 1989).

Các mảnh con chức năng của các trình tự khởi động này, tức là các phần của các trình tự khởi động này mà duy trì hoạt tính thúc đẩy đủ, được bao gồm trong phạm vi của sáng chế, ví dụ, các trình tự khởi động CMV-IE được cắt ngắn theo công bố đơn PCT số WO98/00166 hoặc patent Mỹ số 6,156,567. Do đó, trình tự khởi động trong thực hành sáng chế bao gồm các dẫn xuất và các mảnh con của trình tự khởi động có chiều dài đầy đủ mà duy trì hoạt tính thúc đẩy đủ và vì vậy, có chức năng như trình tự khởi động, tốt hơn là hoạt tính thúc đẩy gần như tương tự với hoạt tính thúc đẩy của trình tự khởi động thực tế hoặc có chiều dài đầy đủ mà từ đó dẫn xuất hoặc mảnh con này được bắt nguồn, ví dụ, hơi giống với hoạt tính của các trình tự khởi động CMV-IE được cắt ngắn của patent Mỹ số 6,156,567 với hoạt tính của các trình tự khởi động CMV-IE có chiều dài

đầy đủ. Do đó, trình tự khởi động CMV-IE trong thực hành sáng chế có thể bao gồm hoặc về cơ bản được cấu thành từ hoặc được cấu thành từ phần trình tự khởi động của trình tự khởi động có chiều dài đầy đủ và/hoặc phần trình tự tăng cường của trình tự khởi động có chiều dài đầy đủ, cũng như các dẫn xuất và các mảnh con.

Tốt hơn là, các plasmit bao gồm hoặc về cơ bản được cấu thành từ các yếu tố khác kiểm soát sự biểu hiện. Đặc biệt có lợi nếu kết hợp (các) trình tự làm ổn định, ví dụ, (các) trình tự intron, tốt hơn là intron thứ nhất của hCMV-IE (công bố đơn PCT số WO89/01036), intron II của gen β-globin của thỏ (van Ooyen et al., 1979).

Liên quan đến tín hiệu polyadenyl hóa (polyA) đối với các plasmit và các vectơ virut không phải là poxvirut, có thể sử dụng thêm tín hiệu poly(A) của gen hormon sinh trưởng của loài bò (bovine growth hormone - bGH) (xem patent Mỹ số 5,122,458), hoặc tín hiệu poly(A) của gen β-globin của thỏ hoặc tín hiệu poly(A) của virut SV40.

Theo một phương án khác của sáng chế, các vectơ biểu hiện là các vectơ biểu hiện được sử dụng để biểu hiện *in vitro* các protein trong hệ tế bào thích hợp. Các protein được biểu hiện có thể được thu lại trong hoặc từ dịch nổi môi trường nuôi cấy sau khi, hoặc không phải sau khi tiết (nếu không có sự tiết, sự tan bào thường xảy ra hoặc được thực hiện), tùy ý được cô bằng các phương pháp cô như siêu lọc và/hoặc được tinh chế bằng các cách tinh chế, như phương pháp ái lực, trao đổi ion hoặc sắc ký loại lọc gel.

"Tế bào của vật chủ" chỉ tế bào của sinh vật chưa có nhân điển hình hoặc sinh vật có nhân điển hình mà đã được biến đổi di truyền, hoặc có khả năng được biến đổi di truyền bằng cách dùng polynucleotit ngoại sinh, như plasmit hoặc vectơ tái tổ hợp. Khi đề cập đến tế bào được biến đổi di truyền, thuật ngữ này chỉ cả tế bào được biến đổi ban đầu và con cháu của nó. Các tế bào của vật chủ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các tế bào thận của chuột hamster con (baby hamster kidney - BHK), các tế bào caxinom kết tràng (Caco-2), các tế bào COS7, các tế bào HEK 293, các tế bào MCF-7, các tế bào MCF-10A, các dòng thận của loài chó Madin-Darby (Madin-Darby canine kidney - MDCK), các tế bào phổi của chồn vizon (mink lung - Mv1Lu), các tế bào MRC-5, các tế bào U937, các tế bào buồng trứng chuột hamster Trung Quốc (Chinese hamster ovary - CHO), các tế bào Vero của khỉ (dòng tế bào có nguồn gốc từ thận của khỉ xanh châu Phi), chim cun cút (dòng tế bào cơ chim cun cút QM7), dòng tế bào gà DF1, và các tế bào Vero. Các polynucleotit bao gồm trình tự mong muốn có thể được cài xen vào trong

vectơ tạo dòng hoặc biểu hiện thích hợp, và vectơ này sau đó có thể được đưa vào trong tế bào thích hợp của vật chủ để sao chép và khuếch đại. Các polynucleotit có thể được đưa vào trong các tế bào của vật chủ bằng các cách bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này. Các vectơ chứa các polynucleotit cần quan tâm có thể được đưa vào trong tế bào của vật chủ bằng cách bất kỳ trong số các cách thích hợp, bao gồm hấp thu trực tiếp, nhập bào, chuyển nạp, ghép đôi f, xung điện, chuyển nạp sử dụng canxi clorua, rubidi clorua, canxi phosphat, DEAE-dextran, hoặc các chất khác; súng bắn gen; gây nhiễm bằng liposom; và gây nhiễm (trong đó vectơ có tính gây nhiễm, ví dụ, vectơ retrovirut). Việc lựa chọn các vectơ hoặc các polynucleotit đưa vào thường sẽ phụ thuộc vào các đặc điểm của tế bào của vật chủ.

Theo một phương án của sáng chế, vectơ này là vectơ Ad5 như được mô tả trong US 2010/0255029 (được kết hợp toàn bộ vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn).

Các ưu điểm của các vacxin PRRSV dựa trên vectơ Ad5 bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, (1) gây ra sự miễn dịch rộng, bao gồm các đáp ứng dịch thể, tế bào và niêm mạc (2) không biểu hiện toàn bộ các protein PRRSV và do đó, tương hợp với chiến lược DIVA (differentiate infected from vaccinated animals - được gây nhiễm phân biệt từ các động vật được chủng ngừa), (3) gây ra sự khởi phát miễn dịch nhanh, và (4) việc sản xuất đặt ra ít nguy cơ đối với môi trường hơn so với các vacxin bất hoạt trong trường hợp giải phóng bất ngờ.

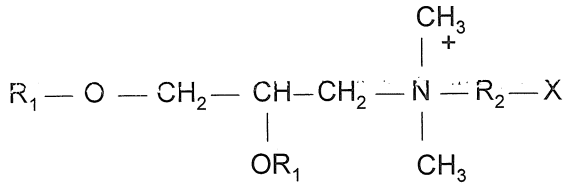
Một khía cạnh của sáng chế đề cập đến vectơ Ad5 được xử lý kỹ thuật hoặc tái tổ hợp biểu hiện các kháng nguyên PRRSV. Kháng nguyên này có thể là các protein vỏ thứ yếu của PRRSV, như protein gp2, gp3, gp4, gp5a, hoặc E nêu trên. Vectơ Ad5 được xử lý kỹ thuật có thể chứa một hoặc nhiều polynucleotit mã hóa một hoặc nhiều kháng nguyên PRRSV. Theo một khía cạnh khác, vectơ Ad5 được xử lý kỹ thuật chứa một hoặc nhiều polynucleotit mã hóa kháng nguyên gp2 của PRRSV hoặc biến thể của nó, kháng nguyên E của PRRSV hoặc biến thể của nó, kháng nguyên gp3 của PRRSV hoặc biến thể của nó, kháng nguyên PRRSV hoặc biến thể của nó, kháng nguyên gp4 hoặc biến thể của nó, hoặc tổ hợp của chúng.

Theo một phương án, sáng chế mô tả việc dùng sản phẩm với lượng có hiệu quả điều trị bệnh để phân phối và biểu hiện protein, kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên trong tế bào đích. Việc xác định lượng có hiệu quả dự phòng hoặc điều trị bệnh là

thử nghiệm thường quy đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Theo một phương án khác, sản phẩm chứa vectơ biểu hiện chứa polynucleotit mà biểu hiện kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên vỏ thứ yếu của PRRSV và chất mang, chất dẫn, chất bổ trợ hoặc tá dược dược dụng hoặc được chấp nhận dùng trong thú y. Theo một phương án khác, chất mang, chất dẫn, chất bổ trợ hoặc tá dược dược dụng hoặc được chấp nhận dùng trong thú y tạo thuận lợi cho việc chuyển nạp và/hoặc cải thiện sự duy trì vectơ hoặc protein.

Các chất mang hoặc chất dẫn hoặc chất bổ trợ hoặc tá dược dược dụng hoặc được chấp nhận dùng trong thú y là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này. Ví dụ, chất mang hoặc chất dẫn hoặc chất bổ trợ hoặc tá dược dược dụng hoặc được chấp nhận dùng trong thú y có thể là nước vô trùng, dung dịch NaCl 0,9% (ví dụ, nước muối sinh lý) hoặc dung dịch đệm phosphat. Chất mang hoặc chất dẫn hoặc chất bổ trợ hoặc tá dược dược dụng hoặc được chấp nhận dùng trong thú y khác mà có thể được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, poly-(L-glutamat) hoặc polyvinylpyrolidon. Chất mang hoặc chất dẫn hoặc chất bổ trợ hoặc tá dược dược dụng hoặc được chấp nhận dùng trong thú y có thể là hợp chất bất kỳ hoặc tổ hợp các hợp chất tạo thuận lợi cho việc dùng vectơ (hoặc protein được biểu hiện từ vectơ theo sáng chế *in vitro*); một cách có lợi, chất mang, chất dẫn hoặc chất bổ trợ hoặc tá dược này có thể tạo thuận lợi cho việc chuyển nạp và/hoặc cải thiện việc duy trì vectơ (hoặc protein). Các liều và thể tích liều được bàn luận trong bản mô tả này trong phần mô tả chung và cũng có thể được xác định bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này từ việc đọc bản mô tả kết hợp với hiểu biết trong lĩnh vực, mà không cần thử nghiệm quá mức bất kỳ.

Các lipit cation chứa muối amoni bậc bốn mà thích hợp nhưng không chuyên biệt đối với các plasmit, là các lipit có công thức sau:



trong đó R_1 là gốc béo mạch thẳng no hoặc không no có 12 đến 18 nguyên tử cacbon, R_2 là một gốc béo khác chứa 2 hoặc 3 nguyên tử cacbon và X là nhóm amin hoặc

hydroxyl, ví dụ, DMRIE. Theo một phương án khác, lipit cation có thể được kết hợp với lipit trung hòa, ví dụ, DOPE.

Trong số các lipit cation này, ưu tiên đối với DMRIE (N-(2-hydroxyetyl)-N,N-dimetyl-2,3-bis(tetradecyloxy)-1-propan amoni; WO96/34109), được kết hợp một cách có lợi với lipit trung hòa, có lợi là DOPE (dioleoyl-phosphatidyl-etanol amin; Behr, 1994), để tạo ra DMRIE-DOPE.

Hỗn hợp plasmit với chất bổ trợ được tạo ra ngay lúc dùng và/hoặc đồng thời với việc dùng chế phẩm hoặc ngay trước khi dùng chế phẩm; ví dụ, ngay trước hoặc trước khi dùng, hỗn hợp plasmit-chất bổ trợ được tạo ra, một cách thuận lợi sao cho có đủ thời gian trước việc dùng để hỗn hợp tạo ra phức hợp, ví dụ, nằm khoảng từ 10 đến 60 phút trước khi dùng, như khoảng 30 phút trước khi dùng.

Khi DOPE có mặt, tỷ lệ mol DMRIE:DOPE có thể nằm trong khoảng từ khoảng 95:khoảng 5 đến khoảng 5:khoảng 95, hoặc là khoảng 1:khoảng 1, ví dụ, 1:1. Tỷ lệ khối lượng chất bổ trợ DMRIE hoặc DMRIE-DOPE: plasmit có thể nằm trong khoảng từ khoảng 50:khoảng 1 đến khoảng 1:khoảng 10, như nằm trong khoảng từ khoảng 10:khoảng 1 đến khoảng 1:khoảng 5, và một cách có lợi là nằm trong khoảng từ khoảng 1:khoảng 1 đến khoảng 1:khoảng 2, ví dụ, nằm trong khoảng từ 1:1 đến 1:2.

Theo một phương án khác, chất mang, chất bổ trợ, tá dược, hoặc chất dẫn dược dụng hoặc được chấp nhận dùng trong thú y có thể là nhũ tương nước trong dầu. Các ví dụ về nhũ tương nước trong dầu thích hợp bao gồm nhũ tương vacxin nước trong dầu trên cơ sở dầu mà ổn định và lỏng ở nhiệt độ 4°C chứa: pha nước chứa kháng nguyên với lượng nằm trong khoảng từ 6 đến 50% thể tích/thể tích (v/v), tốt hơn là nằm trong khoảng từ 12 đến 25%v/v, nằm trong khoảng từ 50 đến 94%v/v của pha dầu chứa toàn bộ hoặc một phần dầu không chuyển hóa (ví dụ, dầu khoáng như dầu parafin) và/hoặc dầu dễ chuyển hóa (ví dụ, dầu thực vật, hoặc axit béo, rượu polyhydric hoặc rượu este), các chất hoạt động bề mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,2 đến 20% p/v, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 3 đến 8% p/v, chất hoạt động bề mặt này có mặt, toàn bộ hoặc một phần, hoặc trong hỗn hợp mỗi polyglyxerol este, các polyglyxerol este này tốt hơn là polyglyxerol (poly)ricinoleat, hoặc dầu polyoxyetylen ricin hoặc dầu polyoxyetylen ricin được hydro hóa. Các ví dụ về các chất hoạt động bề mặt mà có thể được sử dụng trong nhũ tương nước trong dầu bao gồm sorbitan este được etoxyl hóa (ví dụ, polyoxyetylen (20)

sorbitan monooleat (TWEEN 80®), có thể mua được từ AppliChem, Inc., Cheshire, CT) và sorbitan este (ví dụ, sorbitan monooleat (SPAN 80®), có thể mua được từ Sigma Aldrich, St. Louis, MO). Ngoài ra, đối với nhũ tương nước trong dầu, cũng xem patent Mỹ số 6,919,084. Theo một số phương án, pha nước chứa kháng nguyên bao gồm dung dịch nước muối chứa một hoặc nhiều chất đệm. Ví dụ về dung dịch đệm thích hợp là dung dịch muối đệm phosphat. Theo một phương án, nhũ tương nước trong dầu có thể là nhũ tương ba thành phần nước/dầu/nước (W/O/W) (xem, ví dụ, patent Mỹ số 6,358,500). Các ví dụ về nhũ tương thích hợp khác được mô tả trong patent Mỹ số 7,371,395.

Các chế phẩm miễn dịch và vacxin theo sáng chế có thể chứa hoặc về cơ bản bao gồm một hoặc nhiều chất bổ trợ. Các chất bổ trợ thích hợp để sử dụng trong thực hiện sáng chế là (1) polyme của axit acrylic hoặc metacrylic, anhydrit maleic và các polyme dẫn xuất alkenyl, (2) các trình tự kích thích miễn dịch (immunostimulating sequence - ISS), như trình tự oligodeoxyribonucleotit có một hoặc nhiều đơn vị CpG không được metyl hóa (Klinman et al., 1996; WO98/16247), (3) nhũ tương dầu trong nước, như nhũ tương SPT được mô tả ở trang 147 của "Vaccine Design, The Subunit and Adjuvant Approach" được công bố bởi M. Powell, M. Newman, Plenum Press 1995, và nhũ tương MF59 được mô tả ở trang 183 của cùng tài liệu này, (4) lipit cation chứa muối amoni bậc bốn, ví dụ, DDA (5) xytokin, (6) nhôm hydroxit hoặc nhôm phosphat, (7) saponin hoặc (8) các chất bổ trợ khác được bàn luận trong tài liệu bất kỳ được trích dẫn và được kết hợp vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn, hoặc (9) tổ hợp hoặc hỗn hợp bất kỳ của các chất này.

Nhũ tương dầu trong nước (3), mà đặc biệt thích hợp đối với các vectơ virut, có thể trên cơ sở: dầu parafin lỏng nhẹ (loại dược điển châu Âu), dầu isoprenoid như squalan, squalen, dầu thu được từ quá trình polyme hóa ở mức thấp của các alken, ví dụ, isobuten hoặc dexen, este của các axit hoặc rượu có nhóm alkyl mạch thẳng, như dầu thực vật, etyl oleat, propylen glycol, di(caprylat/caprat), glyxerol tri(caprylat/caprat) và propylen glycol dioleat, hoặc este của các rượu hoặc axit béo mạch nhánh, đặc biệt là este của axit isostearic.

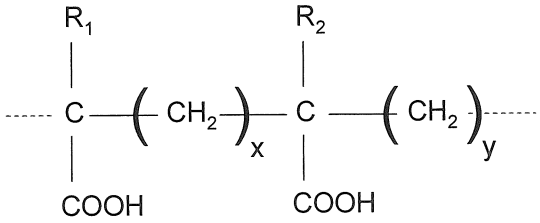
Dầu được sử dụng kết hợp với các chất nhũ hóa để tạo ra nhũ tương. Các chất nhũ hóa có thể là các chất hoạt động bề mặt không ion hóa, như: este của một mặt là sorbitan, mannide (ví dụ, anhydromanitol oleat), glyxerol, polyglyxerol hoặc propylen glycol và

mặt khác là các axit oleic, isostearic, ricinoleic hoặc hydroxystearic, các este này tùy ý được etoxyl hóa, hoặc các khối copolyme polyoxypropylen-polyoxyetylen, như Pluronic, ví dụ, L121.

Trong số các chất bổ trợ polyme loại (1), ưu tiên các polyme của axit acrylic hoặc metacrylic được liên kết chéo, đặc biệt là được liên kết chéo bởi các polyalkenyl ete của đường hoặc rượu đa chức. Các hợp chất này là đã biết dưới tên carbome (Pharmeuropa, vol. 8, no. 2, June 1996). Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này cũng có thể đề cập đến patent Mỹ số 2,909,462, mà có đề cập đến polyme acrylic này được liên kết chéo bởi hợp chất polyhydroxyl có ít nhất ba nhóm hydroxyl, tốt hơn là không quá tám nhóm này, các nguyên tử hydro ít nhất ba nhóm hydroxyl được thay thế bằng các gốc béo, không no có ít nhất hai nguyên tử cacbon. Các gốc được ưu tiên là các gốc chứa 2 đến 4 nguyên tử cacbon, ví dụ, các vinyl, alyl và các nhóm không no chứa etylen khác. Các gốc không no này cũng có thể chứa các phần tử thế khác, như metyl. Các sản phẩm được bán dưới tên Carbopol (BF Goodrich, Ohio, USA) là đặc biệt thích hợp. Chúng được liên kết chéo bởi alyl sacaroza hoặc bởi alyl pentaerythritol. Trong số chúng, có thể kể đến Carbopol 974P, 934P và 971P.

Liên quan đến copolyme dẫn xuất anhydrit maleic-alkenyl, ưu tiên EMA (Monsanto), mà là copolyme etylen-anhydrit maleic mạch thẳng hoặc được liên kết chéo và chúng, ví dụ, được liên kết chéo bởi divinyl ete. Cũng có thể kể đến J. Fields et al., 1960.

Liên quan đến cấu trúc, tốt hơn là các polyme axit acrylic hoặc metacrylic và EMA được tạo ra bởi các đơn vị cơ bản có công thức sau:



trong đó:

R_1 và R_2 có thể giống hoặc khác nhau là H hoặc CH_3

x = 0 hoặc 1, tốt hơn là x = 1

y = 1 hoặc 2, với x + y = 2.

Đối với EMA, x = 0 và y = 2 và đối với carbome x = y = 1.

Các polyme này hòa tan được trong nước hoặc dung dịch nước muối sinh lý (20 g/l NaCl) và độ pH có thể được điều chỉnh đến khoảng từ 7,3 đến 7,4, ví dụ, bằng nước sođa (NaOH), để thu được dung dịch chất bổ trợ trong đó (các) vectơ biểu hiện có thể được kết hợp vào. Nồng độ polyme trong chế phẩm miễn dịch hoặc vacxin cuối có thể nằm trong khoảng từ 0,01 đến 1,5% w/v (khối lượng/thể tích), nằm trong khoảng từ 0,05 đến 1% w/v hoặc nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,4% w/v.

Xytokin hoặc các xytokin (5) có thể ở dạng protein trong chế phẩm miễn dịch hoặc vacxin, hoặc có thể được đồng biểu hiện trong vật chủ với chất kháng nguyên hoặc các chất kháng nguyên hoặc (các) epitop của chúng. Ưu tiên sự đồng biểu hiện của xytokin hoặc các xytokin, bởi cùng vectơ mà biểu hiện chất kháng nguyên hoặc các chất kháng nguyên hoặc (các) epitop của chúng, hoặc bởi vectơ riêng rẽ của nó.

Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất chế phẩm kết hợp này; ví dụ, bằng cách trộn các hoạt chất, một cách có lợi cùng nhau và với chất bổ trợ, chất mang, xytokin, và/hoặc chất pha loãng.

Các xytokin mà có thể được sử dụng theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, yếu tố kích thích tạo bạch cầu hạt (granulocyte colony stimulating factor - G-CSF), yếu tố kích thích tạo bạch cầu hạt/đại thực bào (granulocyte/macrophage colony stimulating factor - GM-CSF), interferon α (IFNα), interferon β (IFNβ), interferon γ, (IFNγ), interleukin-1α (IL-1α), interleukin-1β (IL-1β), interleukin-2 (IL-2), interleukin-3 (IL-3), interleukin-4 (IL-4), interleukin-5 (IL-5), interleukin-6 (IL-6), interleukin-7 (IL-7), interleukin-8 (IL-8), interleukin-9 (IL-9), interleukin-10 (IL-10), interleukin-11 (IL-11), interleukin-12 (IL-12), yếu tố hoại tử khối u α (tumor necrosis factor α - TNFα), yếu tố hoại tử khối u β (TNF□β), và yếu tố sinh trưởng biến nạp □ (TGF(transforming growth factor) □β). Cần phải hiểu rằng các xytokin có thể được dùng phối hợp và/hoặc được dùng lần lượt với chế phẩm miễn dịch hoặc vacxin theo sáng chế. Do đó, ví dụ, vacxin theo sáng chế cũng có thể chứa phân tử axit nucleic ngoại sinh mà biểu hiện *in vivo* xytokin thích hợp, ví dụ, xytokin tương hợp với vật chủ cần được chủng ngừa hoặc trong đó đáp ứng miễn dịch cần được tạo ra (ví dụ, xytokin loài mèo đối với các chế phẩm cần được dùng cho loài mèo).

Theo một phương án khác, chế phẩm theo sáng chế có thể được bào chế bằng cách sử dụng quy trình hóa học hoặc vật lý như được mô tả bởi Stauffer *và các đồng tác giả.* (Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery, 1, 291-296, 2006). Một số trong số các kỹ thuật bất hoạt được tóm tắt trong bảng dưới đây.

Bảng 1. Các kỹ thuật bất hoạt

Hóa học	Vật lý	Kết hợp
Axit ascorbic		Axit ascorbic + UV
b-Propiolacton	Nhiệt	Beta Propiolacton + UV
b-aminophenylxeton	Áp suất	Formalin + Nhiệt
Dietylpyrocacbonat	UV	Formalin + UV
Etylenimin	Chất tẩy rửa không ion hóa	Nhiệt + Áp suất thấp
Formalin/Formaldehyt		Áp suất + Nhiệt hoặc lạnh
Phenol		Psoralen + UV

Chế phẩm miễn dịch và/hoặc vacxin theo sáng chế chứa hoặc về cơ bản được cấu thành từ hoặc được cấu thành từ một lượng có hiệu quả để gây ra đáp ứng bảo vệ hoặc trị liệu của một hoặc nhiều vectơ biểu hiện và/hoặc polypeptit như được bàn luận trong bản mô tả này; và, lượng có hiệu quả có thể được xác định từ bản mô tả này, kể cả các tài liệu được kết hợp trong bản mô tả này, và hiểu biết trong lĩnh vực này, mà không cần thử nghiệm bất thường.

Các chế phẩm hoặc vacxin theo sáng chế có thể được dùng cho động vật thông qua nước uống, miệng-mũi, phun xịt, sol-khí, nhỏ trong mũi, tiêm qua da, dưới da, hoặc trong cơ. Một cách có lợi, các vacxin này được dùng bằng cách dùng qua da, miệng-mũi, dưới da, trong cơ, phun xịt hoặc nước uống.

Sáng chế dự định ít nhất một lần dùng chế phẩm trị liệu theo sáng chế với lượng có hiệu quả cho động vật. Chế phẩm trị liệu theo sáng chế có thể được dùng bằng thiết bị không dùng kim (ví dụ, như bằng thiết bị Pigjet, Dermojet, Biojector, Vetjet hoặc Vitajet (Bioject, Oregon, USA)).

Theo một phương án của sáng chế, chế độ chủng ngừa nhắc lại có thể được dùng, chế độ này bao gồm ít nhất một lần dùng cơ bản và ít nhất một lần dùng tăng cường bằng cách sử dụng ít nhất một protein, polypeptit, kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên thông thường. Chế phẩm miễn dịch hoặc vacxin được sử dụng trong lần dùng cơ bản về bản chất là khác với chế phẩm miễn dịch hoặc vacxin được sử dụng làm chế phẩm tăng cường. Tuy nhiên, lưu ý rằng chế phẩm giống nhau có thể được sử dụng trong lần

dùng cơ bản và lần dùng tăng cường. Quy trình dùng này được gọi là "chủng ngừa nhắc lại".

Theo một khía cạnh khác của quy trình chủng ngừa nhắc lại theo sáng chế, chế phẩm chứa vacxin hoặc chế phẩm Ad5 PRRSV được xử lý kỹ thuật được dùng, tiếp theo dùng vacxin hoặc chế phẩm chứa vectơ virut tái tổ hợp chứa và biểu hiện kháng nguyên PRRSV *in vivo*, hoặc chế phẩm hoặc vacxin virut bất hoạt chứa kháng nguyên PRRSV, hoặc vacxin hoặc chế phẩm chứa tiểu đơn vị (protein) PRRSV, hoặc vacxin hoặc chế phẩm plasmit ADN chứa hoặc biểu hiện kháng nguyên PRRSV. Tương tự, quy trình chủng ngừa nhắc lại có thể bao gồm việc dùng vacxin hoặc chế phẩm chứa vectơ virut tái tổ hợp chứa và biểu hiện kháng nguyên PRRSV *in vivo*, hoặc chế phẩm hoặc vacxin virut bất hoạt chứa kháng nguyên PRRSV, hoặc vacxin hoặc chế phẩm chứa tiểu đơn vị (protein) PRRSV, hoặc vacxin hoặc chế phẩm plasmit ADN chứa hoặc biểu hiện kháng nguyên PRRSV, tiếp theo là việc dùng chế phẩm chứa vacxin hoặc chế phẩm Ad5 PRRSV được xử lý kỹ thuật. Lưu ý rằng cả hai lần dùng cơ bản và thứ cấp có thể bao gồm chế phẩm chứa vacxin hoặc chế phẩm Ad5 PRRSV được xử lý kỹ thuật . Lưu ý tiếp rằng cả hai lần dùng cơ bản và thứ cấp có thể bao gồm một hoặc nhiều chế phẩm chứa các vectơ được xử lý kỹ thuật theo sáng chế.

Quy trình chủng ngừa nhắc lại bao gồm ít nhất một lần dùng cơ bản và ít nhất một lần dùng tăng cường bằng cách sử dụng ít nhất một kháng nguyên thông thường. Vacxin hoặc chế phẩm được dùng trong lần dùng cơ bản có thể khác về bản chất với vacxin hoặc chế phẩm được dùng làm vacxin hoặc chế phẩm nhắc lại sau đó. Lần dùng cơ bản có thể bao gồm một hoặc nhiều lần dùng. Tương tự, lần dùng tăng cường có thể bao gồm một hoặc nhiều lần dùng.

Các lần dùng khác nhau tốt hơn là được thực hiện cách nhau khoảng 1 đến 6 tuần, hoặc cách nhau khoảng 2 đến 4 tuần. Việc chủng ngừa tăng cường lặp lại mỗi 2 đến 6 tuần hoặc chủng ngừa tăng cường hàng năm cũng được dự tính. Tốt hơn nếu các động vật có độ tuổi ít nhất một ngày tuổi tại thời điểm dùng lần đầu tiên.

Chế phẩm miễn dịch và/hoặc vacxin chứa trên mỗi liều với lượng nằm trong khoảng từ 10^4 đến 10^{11}, có lợi nếu nằm trong khoảng từ 10^5 đến 10^{10} và có lợi hơn nếu nằm trong khoảng từ 10^6 đến 10^9 hạt virut của adenovirut tái tổ hợp biểu hiện kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên PRRSV. Trong trường hợp chế phẩm miễn dịch

và/hoặc vacxin trên cơ sở poxvirut, liều lượng có thể nằm trong khoảng từ 10^2 pfu đến 10^9 pfu. Chế phẩm miễn dịch và/hoặc vacxin chứa trên mỗi liều với lượng nằm trong khoảng từ 10^2 đến 10^7, có lợi nếu nằm trong khoảng từ 10^3 đến 10^5 pfu của poxvirut hoặc virut ecpet tái tổ hợp biểu hiện kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên PRRSV.

Vvectơ virut này có thể là vectơ biểu hiện avipox giảm độc lực. Theo một phương án, vectơ biểu hiện avipox có thể là vectơ bệnh đậu gà, ví dụ, TROVAC®. Theo một phương án khác, vectơ biểu hiện avipox có thể là vectơ bệnh đậu chim bạch yến, ví dụ, ALVAC®. Theo một phương án khác nữa, nền tảng biểu hiện baculovirut có thể được sử dụng. Ví dụ, các kháng nguyên có thể được sản xuất trong hệ biểu hiện baculovirut bằng cách sử dụng các môi trường nuôi cấy tế bào côn trùng làm vật chủ, và các polypeptit tái tổ hợp thu được có thể được dùng cho các động vật. Theo cách khác, toàn bộ baculovirut tái tổ hợp có thể được dùng làm vacxin. Nói chung, kháng nguyên, epitop hoặc chất kháng nguyên PRRSV có thể là protein vỏ thứ yếu của PRRSV, như gp2, gp3, gp4, gp5a, gp5 hoặc E. Các virut khác mà có thể được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các virut gây bệnh đậu mùa, như virut gây bệnh đậu mùa giảm độc lực, ví dụ, NYVAC, adenovirut và virut ecpet, bao gồm CMV loài lợn.

Hiệu lực của vacxin có thể được kiểm tra ở khoảng 2 đến 4 tuần sau lần chủng ngừa cuối cùng bằng cách thử nghiệm gây nhiễm động vật bằng chủng PRRSV có tính độc. Cả hai chủng tương đồng và không tương đồng có thể được sử dụng để gây nhiễm để thử nghiệm hiệu quả của vacxin. Động vật có thể được gây nhiễm bằng cách phun xịt, trong mũi, IM, trong khí quản, và/hoặc qua đường miệng. Lượng gây nhiễm bằng virut có thể khoảng 10^3 đến 10^9 virion hoặc đơn vị nhiễm trên mỗi liều, với thể tích tùy thuộc vào đường dùng. Ví dụ, nếu việc dùng là bằng cách phun xịt, huyền phù chứa virut được tạo sol khí để tạo ra các giọt nhỏ khoảng 1 đến 200 μm, nếu việc dùng là trong mũi, trong khí quản hoặc qua đường miệng, thể tích của virut gây nhiễm là khoảng 0,05 đến 5 ml. Các động vật có thể được quan sát hằng ngày trong 14 ngày sau khi gây nhiễm về các dấu hiệu lâm sàng và tỷ lệ chết. Ngoài ra, các nhóm động vật có thể được làm chết và được đánh giá đối với các kết quả bệnh lý. Gạc thấm miệng-hầu, khí quản hoặc lỗ mũi có thể được gom lại từ toàn bộ các động vật sau khi gây nhiễm để phát hiện virut. Sự có mặt hay không có của các kháng nguyên virut trong các mô có thể được đánh giá bằng hóa mô miễn dịch, phân lập hoặc chuẩn độ virut, hoặc sự phát hiện axit nucleic như phản ứng

chuỗi polymeraza enzym phiên mã ngược (reverse-transcriptase polymerase chain reaction - RT-PCR). Các mẫu máu có thể được gom lại sau khi gây nhiễm và có thể được phân tích về sự có mặt của kháng thể đặc hiệu virut kháng gp2, gp3, gp4, gp5a, E của PRRSV. Theo cách khác, khi các vectơ được xử lý kỹ thuật chứa các chất đánh dấu epitop, các kháng thể đặc hiệu chất đánh dấu có thể được sử dụng để phát hiện sự có mặt và vị trí của các polypeptit của vacxin tái tổ hợp.

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này cần phải hiểu rằng sáng chế được bộc lộ trong bản mô tả này chỉ làm ví dụ và sáng chế không chỉ giới hạn ở đó. Từ bộc lộ trong bản mô tả này và hiểu biết trong lĩnh vực, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này có thể xác định số lần dùng, đường dùng, và các liều cần sử dụng cho mỗi quy trình chủng ngừa, mà không cần thử nghiệm quá mức bất kỳ.

Một phương án khác theo sáng chế là kit để thực hiện phương pháp gây đáp ứng miễn dịch hoặc bảo vệ chống PRRSV ở động vật bao gồm chế phẩm miễn dịch hoặc vacxin Ad5 tái tổ hợp hoặc chế phẩm miễn dịch hoặc vacxin PRRSV bất hoạt và hướng dẫn để thực hiện phương pháp phân phối một lượng có hiệu quả để gây ra đáp ứng miễn dịch ở động vật.

Trừ khi được trích dẫn cụ thể khác, việc tạo cấu trúc của các đoạn xen axit nucleic, các plasmit và các vectơ virut tái tổ hợp được thực hiện bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử chuẩn đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ, được mô tả bởi J. Sambrook *và các đồng tác giả* (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 1989).

Đặc biệt là liên quan đến tính thích hợp của đối tượng, các vectơ được bộc lộ trong bản mô tả này không gây ra sự biểu hiện ở động vật được chủng ngừa có mức protein PRRSV có trong tự nhiên. Mỗi sự biểu hiện của gen được điều khiển bởi các yếu tố khởi động không tương đồng không nguyên thể, và vì vậy, lượng cuối cùng của mỗi protein tương tự được biểu hiện sẽ không tương đương với lượng được sản sinh trong quá trình nhiễm PRRSV tự nhiên. Hơn nữa, một mục đích quan trọng của hệ biểu hiện được bộc lộ là sản sinh các protein vỏ thứ yếu của PRRSV (nguyên thể, được cải biến hoặc được xử lý kỹ thuật) với mức tương đối cao, và trình diện chính xác các protein thứ yếu này với hệ miễn dịch của động vật chủ, để gây ra đáp ứng miễn dịch an toàn và bảo vệ ở các động vật. Mức độ và sự trình diện của các protein vỏ thứ yếu của PRRSV điển hình của sự

nhiễm PRRSV tự nhiên không gây ra đáp ứng miễn dịch an toàn và có hiệu quả chống các protein thứ yếu của PRRSV. Do đó, cả chế phẩm vacxin được bộc lộ, và sự bố trí cuối cùng của chúng trong động vật được chủng ngừa, khác một cách đáng kể về *cấu trúc* và *chức năng* khi so với các đối tác có trong tự nhiên gần nhất của chúng.

Sáng chế còn được minh họa bằng các ví dụ không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế sau đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1 - Cấu trúc và kiểm tra các plasmit biểu hiện các gen của PRRSV

Để làm tăng khả năng nhận biết đối với hệ miễn dịch, các protein vỏ của PRRSV được hướng đích lại đến bề mặt tế bào từ các ngăn nội bào bằng cách đưa vào nhiều thay đổi đồng thời duy trì miền ngoại bào (vị trí gắn kết kháng thể giả định). Việc hướng đích lại của các gen của vỏ ban đầu được thực hiện bằng cách loại bỏ các miền tế bào chất và miền xuyên màng của protein nguyên thể, mà là vị trí có thể đối với tín hiệu lưu giữ, và thay thế chúng bằng các miền tương tự từ glycoprotein của virut gây bệnh mụn nước ở miệng (vesicular Stomatitis Virus glycoprotein - VSV-G), một protein virut khác đã biết để biểu hiện trên bề mặt tế bào. Trình tự tín hiệu của các gen nguyên thể của vỏ cũng được thay thế bằng trình tự tín hiệu từ chất hoạt hóa plasminogen của mô (tissue plasminogen activator - tPA), protein chế tiết đã được mô tả rõ, để thúc đẩy sự xâm nhập của các protein được cải biến vào quá trình chế tiết và sự biểu hiện cuối cùng trên bề mặt tế bào. Các chất đánh dấu epitop đặc hiệu cũng được cài xen vào trong mỗi trong số các protein được hướng đích lại để theo dõi sự biểu hiện và sự chuyển vị của các protein trong tế bào. Các chất đánh dấu epitop Myc, Flag và HA nằm bên sườn với các trình tự liên kết lần lượt được cài xen vào trong gp2, gp3 và gp4 (các Fig.5A-5D).

Sự biểu hiện bề mặt của các protein được hướng đích lại

Mỗi trong số các gen được hướng đích lại được tổng hợp toàn bộ và được tách dòng vào trong plasmit biểu hiện bằng trình tự khởi động CMV. Các plasmit này được chuyển nạp vào trong các tế bào HEK 293T và sự biểu hiện được phát hiện trong các tế bào cố định bằng thử nghiệm huỳnh quang miễn dịch (immunofluorescence assay - IFA) (Fig.6). Sự biểu hiện bề mặt tế bào và protein toàn phần dễ dàng được phát hiện trong các tế bào được chuyển nạp bằng cả hai gp3-Flag-VSV và gp4-HA-VSV. Tuy nhiên, sự biểu

hiện trong các tế bào được chuyển nạp bằng gp2-Myc-VSV chỉ được phát hiện sau quá trình thâm nhập của các tế bào, cho thấy các cải biến được đưa vào trong gp2 là không đủ để hướng đích lại protein đến bề mặt tế bào. Hơn nữa, khi thâm nhập, sự nhuộm màu đối với gp2-Myc-VSV khác rõ rệt với sự nhuộm màu của các protein được cải biến (được hướng đích lại) gp3 hoặc gp4. Trong trường hợp gp2-myc-VSV, sự nhuộm màu là tập trung và mạnh hơn, trong khi trong gp3-Flag-VSV và gp4-HA-VSV, nó khuếch tán trong toàn bộ tế bào. Điều này chứng tỏ rằng protein gp2-VSV-Myc được biểu hiện, nhưng có thể gấp cuộn không chính xác, trở nên bị giữ trong một số ngăn nhỏ của tế bào. Có thể có một số nguyên nhân cho việc không có khả năng gấp cuộn chính xác của gp2 được cải biến. Thứ nhất, đây có thể là yêu cầu của các phần khác của protein để gấp cuộn chính xác, như trình tự tín hiệu, đuôi xuyên màng hoặc tế bào chất mà đã được loại bỏ trong quá trình biến đổi để biểu hiện trên bề mặt. Thứ hai, cũng có thể là do sự loại bỏ chưa hoàn toàn các miền của gp2 mà vẫn chứa tín hiệu lưu giữ. Thứ ba, sự gấp cuộn sai có thể được tạo ra do sự có mặt của chất đánh dấu myc, mà không có mặt trong gp3 hoặc gp4 được cải biến. Thứ tư, đã thấy rằng sự biểu hiện không đủ của một trong số các protein thứ yếu làm mất sự kết hợp của toàn bộ các protein thứ yếu vào trong virion; do đó, gp2 có thể cần sự có mặt của gp3 và gp4 để đạt được sự gấp cuộn chính xác.

Các protein được hướng đích lại tương tác để tạo ra các oligome

Sự tương tác giữa các protein thứ yếu đã được ám chỉ bằng thử nghiệm chức năng và được minh họa trực tiếp bằng thử nghiệm sinh hóa. Các plasmit mã hóa đối với mỗi trong số các protein được hướng đích lại được đồng chuyển nạp vào các tế bào HEK-293T và sự tương tác giữa các protein thứ yếu được kiểm tra bằng thử nghiệm đồng kết tủa miễn dịch (co-immunoprecipitation - Co-IP) . Như được thể hiện trên Fig.7, kháng thể kháng HA đặc biệt kéo gp4-HA-VSV xuống (dải 3) nhưng không kéo gp3-Flag-VSV (dải 2) hoặc gp2-myc-VSV (dải 1) xuống. Tuy nhiên, khi toàn bộ các protein được cải biến được đồng chuyển nạp, kháng thể kháng HA giống như vậy kéo băng protein bổ sung xuống chứ không phải gp4-HA-VSV (dải 4, chấm nhỏ màu đỏ), chứng tỏ rằng protein bổ sung có tương tác trực tiếp với gp4-HA-VSV nhưng không tương tác với kháng thể kháng HA. Kích thước của băng này là tương tự với gp2-Myc-VSV (dải 6) hoặc gp3-Flag-VSV (dải 7), chứng tỏ rằng protein tương tác với gp4 này có thể là gp2, gp3 hoặc cả hai. Mẫu dò tiếp theo của băng bổ sung trong co-IP (dải 4) với kháng thể

kháng Flag hoặc kháng Myc chuyển sang dương tính đối với cả hai (không được thể hiện trên hình vẽ), chứng tỏ rằng băng này chứa cả hai protein gp2 và gp3. Do đó, kết luận từ thử nghiệm này và các thử nghiệm bổ sung là các cải biến được đưa vào để biểu hiện trên bề mặt của các gp không làm thay đổi cấu trúc bậc bốn của chúng.

Các protein được hướng đích lại duy trì sự tương tác với thụ thể CD163 sau khi cải biến

Bước tiếp theo trong việc bảo đảm việc gấp cuộn chính xác của protein được hướng đích lại là thể hiện rằng chúng vẫn duy trì khả năng tương tác với thụ thể, CD163 của lợn. Mỗi trong số các plasmit biểu hiện các protein được hướng đích lại được đồng chuyển nạp với các plasmit biểu hiện CD163 (các miền 4-9), trước đây đã được thể hiện là đủ làm trung gian cho sự xâm nhập của virut vào trong các tế bào đích. Một phần của dịch tan tế bào được kết tủa miễn dịch bằng kháng thể kháng VSV (đặc hiệu đối với các protein vỏ) và phần khác được kết tủa miễn dịch bằng kháng thể kháng CD163. Dịch tan đã được kết tủa bằng kháng thể kháng CD163 được dò bằng kháng thể kháng CD163 được tiếp hợp với Biotin để kiểm soát CD163 đầu vào trong mỗi phản ứng co-IP (Fig.8C). Dịch tan đã được kết tủa miễn dịch bằng kháng VSV được chạy hai lần và một màng được dò bằng kháng VSV-HRP (Fig.8A), để đo lượng gp được cải biến, và màng khác được dò bằng kháng CD163 (Fig.8B) để đo lượng CD163 được đồng kết tủa miễn dịch với các glycoprotein vỏ được cải biến.

Toàn bộ các glycoprotein vỏ thứ yếu được cải biến đều tương tác với CD163, còn gp5 được cải biến, glycoprotein chủ yếu được sử dụng làm đối chứng âm tính, có tương tác yếu hơn nhiều hoặc không phát hiện được với CD163.

Ví dụ 2 - Sự chủng ngừa động vật bằng các plasmit gộp biểu hiện gen của vỏ PRRSV

Ba mươi hai lợn 3 tuần tuổi được chia thành 4 nhóm, mỗi nhóm 8 lợn (bảng 2).

Bảng 2. Chi tiết nghiên cứu.

Nhóm	Số lượng lợn	Nhóm	Sự tạo miễn dịch (ngày)					Chết/ADN	Gây nhiễm
				0	14	28	42	63	84
1	8	Gp của PRRSV thể dại	1A	X	X	X	X	ADN (3)	X
			1B	X	X	X	X	Chết (5)	X
2	8	Gp của PRRSV tái tổ hợp	2A	X	X	X	X	ADN (3)	X
			2B	X	X	X	X	Chết (5)	X

3	8	Miễn dịch ADN giả (G bệnh dại)	3A	X	X	X	X	ADN (3)	X
			3B	X	X	X	X	Chết (3)	X
4	8	Không được chủng ngừa							X

Nhóm thể dại nhận gộp của 3 plasmit biểu hiện các gp không được hướng đích, nhóm tái tổ hợp nhận gộp của ba plasmit biểu hiện các gp được hướng đích lại (tức là các Fig.5B đến 5D), nhóm giả nhận plasmit mã hóa đối với glycoprotein bệnh dại, còn nhóm không được chủng ngừa chỉ nhận dung dịch đệm Tris-EDTA. Mỗi plasmit có nồng độ khoảng 1 µg/µl, và khoảng 400 µg của mỗi plasmit được dùng ở mức 200 µl trên mỗi thùy tai. Sau 4 lần tạo miễn dịch, mỗi nhóm được chia tiếp và được chủng ngừa tăng cường bằng vacxin chết, trong chất bổ trợ TS6 (US 7,371,395 B2, của Merial, và được kết hợp toàn bộ vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn), hoặc được nhận kỳ tạo miễn dịch ADN lần thứ 5.

Trong khi dường như có xu hướng về phía tăng sự bảo vệ khỏi tổn thương phổi ở các động vật được chủng ngừa bằng mỗi trong số các plasmit gộp, khi so với nhóm được chủng ngừa bằng G bệnh dại hoặc không được chủng ngừa, trung bình cộng giữa toàn bộ các nhóm là không khác biệt về mặt thống kê. Cũng không có sự khác biệt đáng kể giữa các nhóm nhận các plasmit được hướng đích so với các plasmit được hướng đích lại.

Do đó, tiếp theo Các tác giả sáng chế thiết đặt để đưa toàn bộ các gen vào trong một vectơ, để cho phép biểu hiện đồng thời trong một tế bào, để tạo thuận lợi cho sự tương tác/polyme hóa ở mức thấp của các protein vỏ của PRRSV.

Ví dụ 3 - Cấu trúc và kiểm tra các vectơ virut biểu hiện các gen của PRRSV

Các tế bào và môi trường. Các tế bào HEK 293 (ATCC) được duy trì trong MEM (Gibco #11095) với 10% huyết thanh thai bò (Moregate Batch #81827101) ở nhiệt độ 37°C trong 5% CO2. Các tế bào này được sử dụng để thu adenovirut tái tổ hợp (vAD3041, vAD3042, vAD3038, vAD3033, và vAD3067) và làm nguồn dự trữ virut.

Cấu trúc của các vectơ virut và các chất kháng nguyên

Các protein vỏ thứ yếu của PRRSV bao gồm gp2 (ORF2), gp3 (ORF3), gp4 (ORF4) và E (ORF2b). Trình tự ADN của mỗi trong số các protein này được thu từ Ngân hàng gen số lưu giữ # U87392 (VR2332, PRRSV typ II). VR2332 (chủng Bắc Mỹ) là một trong hai kiểu huyết thanh chính đã biết của PRRSV (Done và các đồng tác giả, 1996). Kiểu huyết thanh kia, sản phẩm mẫu Lelystad, là đại diện của ít nhất là hầu hết các

chủng mà đã được phân lập ở Tây Âu. Các trình tự được tối ưu hóa bộ ba mã hóa của mỗi protein khi được cấu trúc bằng trình tự khởi động thích hợp để biểu hiện toàn bộ các protein từ một vectơ virut (Fig.1). Trong mỗi trường hợp, các trình tự khởi động của SV40 (virut 40 ở khỉ) và CMV (cytomegalovirut) lần lượt điều khiển sự biểu hiện của gp2 và gp4, theo các hướng đối diện, như được biểu thị bằng các hình mũi tên. Thấy được rằng các trình tự khởi động này có thể được trao đổi, sao cho SV40 có thể điều khiển sự biểu hiện của gp4 và CMV có thể điều khiển sự biểu hiện của gp2. Các biến đổi như vậy sẽ là hiển nhiên đối với người có hiểu biết trung bình. Quan trọng là, do các protein thứ yếu của PRRSV được bộc lộ là đóng vai trò có tính quyết định trong việc gây đáp ứng miễn dịch an toàn và bảo vệ, các tác giả sáng chế hoàn toàn mong đợi các nghiên cứu sau để áp dụng một cách tương đương cho toàn bộ các chủng PRRSV. Do đó, các phiên bản được tối ưu hóa bộ ba mã hóa của các protein thứ yếu Lelystad có thể được tạo ra bằng các phương pháp thông thường, và các trình tự thu được được tách dòng vào trong các vectơ tái tổ hợp theo sáng chế.

Trong toàn bộ các cấu trúc Ad5 PRRSV, sự biểu hiện của glycoprotein vỏ thứ yếu gp3 được thúc đẩy bằng vị trí xâm nhập ribosom bên trong (Internal Ribosome Entry Site - IRES). Sự biểu hiện của glycoprotein vỏ thứ yếu E trong vAD3041 và vAD3067 (các Fig.1C & 1D) được kích hoạt bởi sự có mặt của peptit tự phân cắt (p2A), được đặt trong các cấu trúc Ad5 ngay tiếp theo vùng mã hóa gp2.

Hơn nữa, thời gian bán thải của sản phẩm phiên mã từ các trình tự khởi động SV40 và CMV được tăng cường bằng cách bổ sung các đuôi poly A (pA) từ SV40 hoặc thymidin kinaza (TK). Các vị trí attL1 và attL2 (xa bên trái và phải của mỗi đoạn xen được thể hiện trên Fig.1) được sử dụng để cài xen toàn bộ mảnh tổng hợp vào trong hệ gen adenovirut bằng cách tái tổ hợp LR, Gateway Technology (Invitrogen) (từ đó tạo ra vAD3042, vAD3038, vAD3041 và vAD3067. Các đoạn xen trên Fig.1 được tổng hợp hóa học (Genscript) để chứa các vị trí cắt giới hạn thích hợp để tạo dòng vào trong dòng vô tính biểu hiện để tạo ra Ad5 tái tổ hợp (Gateway Technology, Invitrogen). Một lần nữa, các biến đổi liên quan đến yếu tố thúc đẩy sự biểu hiện của gen PRRSV cụ thể được tính đến, và nằm trong phạm vi trình độ của người có hiểu biết trung bình khi đọc bản mô tả này.

Do đó, nhiều tổ hợp của các protein thứ yếu được lắp ráp để tái tổ hợp vào trong vectơ Ad5: một tổ hợp chỉ chứa ba trong số các protein thứ yếu mà không chứa E (vAD3042) (Fig.1A; SEQ ID NO.2); một tổ hợp chứa các protein *rtg*-gp2, *rtg*-gp3, *rtg*-gp4 mà không chứa E (vAD3038) (Fig.1B; SEQ ID NO.3); một tổ hợp chứa toàn bộ bốn protein thứ yếu được tối ưu hóa bộ ba mã hóa gp2, gp3, gp4 và E (vAD3041) (Fig.1C; SEQ ID NO.3); và một tổ hợp chứa toàn bộ bốn protein thứ yếu được tối ưu hóa bộ ba mã hóa *rtg*-gp2, *rtg*-gp3, *rtg*-gp4 và E (vAD3067) (Fig.1D; SEQ ID NO.4).

Bảng 3. Vị trí của các dấu hiệu trong các cấu trúc

Cấu trúc	Dấu hiệu	Vị trí
Đoạn xen vAD3041 (4662 bp)	attL1	1-96
	SV40 poly A	97-314 (bổ sung)
	E ORF	341-562 (bổ sung)
	P2A	568-633 (bổ sung)
	gp2 ORF	642-1412 (bổ sung)
	Trình tự khởi động SV40	1418-1785 (bổ sung)
	Trình tự khởi động CMV	1806-2393
	gp4 ORF	2406-2942
	IRES	2949-3511
	gp3 ORF	3518-4282
	TK poly A	4295-4566
	attL2	4567-4662
Đoạn xen vAD3042 (4662 bp)	attL1	1-96
	SV40 poly A	97-314 (bổ sung)
	gp2 ORF	341-1111 (bổ sung)
	Trình tự khởi động SV40	1117-1484 (bổ sung)
	Trình tự khởi động CMV	1505-2092
	gp4 ORF	2105-2641
	IRES	2648-3210
	gp3 ORF	3217-3981
	TK poly A	3994-4265
	attL2	4266-4361
Đoạn xen vAD3038 (vectơ được hướng đích lại)	attL1	1-96
	SV40 poly A	97-314 (bổ sung)
	gp2-Myc-VSV ORF	333-1151 (bổ sung)
	Trình tự khởi động SV40	1163-1530 (bổ sung)
	Trình tự khởi động CMV	1551-2138
	gp4-HA-VSV ORF	2148-2864
	IRES	2865-3427
	gp3-Flag-VSV ORF	3431-4192
	TK poly A	4199-4470
	attL2	4471-4566
Đoạn xen vAD3067 (Fig.1D)	attL1	1-96
	SV40 poly A	97-314 (bổ sung)
	E ORF	341-562 (bổ sung)
	P2A	568-633 (bổ sung)
	gp2-Myc-VSV ORF	642-1460 (bổ sung)
	Trình tự khởi động SV40	1472-1839 (bổ sung)
	Trình tự khởi động CMV	1860-2447

	gp4-HA-VSV ORF	2457-3173
	IRES	3174-3736
	gp3-Flag-VSV ORF	3740-4501
	TK poly A	4508-4779
	attL2	4480-4575
pAd/PL-DEST (Các đoạn xen băng gen chuyển nêu trên được đặt vào giữa các vị trí attR1 và attR2 của pAD/PL-DEST)	Trình tự adenovirut 5 của người	(1-458 thể dại; bao gồm 5'L-ITR và tín hiệu đóng gói): 1-458
	Vị trí attR1	512-636
	Vị trí attR2	2092-2216
	Trình tự adenovirut 5 của người	(3513-35935 thể dại; vùng E3 được loại bỏ, bao gồm 3'R-ITR): 2234-32782
	Vị trí cắt giới hạn PacI	32788 và 34862
	Vùng khung plasmit	32959-34705 bao gồm nguồn gốc pUC, gen kháng Ampicillin

Sản xuất virut

Các dòng biểu hiện được tạo ra bởi sự tái tổ hợp LR của vectơ tiếp nhận với vectơ đến bằng cách sử dụng công nghệ Gateway (Invitrogen). Adenovirut tái tổ hợp vAD3041, vAD3042 và vAD3038 được tạo ra bằng cách chuyển nạp các dòng biểu hiện được tạo mạch thẳng trong tế bào HEK 293 bằng chất chuyển nạp. Sau khi đạt được, mỗi virut được thu lại bằng chu trình kết đông-làm tan và làm trong mảnh tế bào vụn bằng cách ly tâm. Để cấy truyền, mỗi virut được gây nhiễm vào trong lớp đơn tế bào HEK 293 và khoảng 3-4 ngày sau khi gây nhiễm, virut được thu lại bằng chu trình kết đông-làm tan và làm trong bằng cách ly tâm. Ba lần cấy truyền được tiến hành để tạo ra nguồn dự trữ virut, mà được bảo quản ở nhiệt độ -80°C. Để làm đối chứng âm tính, gen hemaglutinin (HA) được tối ưu hóa bộ ba mã hóa của virut cúm lợn (Swine Influenza Virus - SIV) được lắp ráp một cách tương tự trong các vectơ virut Ad5 (vAD3033).

Hàm lượng virut. Các tế bào HEK 293 được đưa vào ở mật độ 7×10^5 tế bào mỗi đĩa trong ba đĩa 96 giếng với môi trường MEM (Gibco #11095) chứa 2% FBS (Moregate Batch #81827101), axit amin không thiết yếu (Gibco #11140), các kháng sinh-thuốc chống nấm (Gibco #15240). Vào ngày gây nhiễm, mỗi đĩa được gây nhiễm bằng 100 µl mỗi giếng của virut được pha loãng từ 10^{-3} đến 10^{-10}. Hàm lượng virut được đọc vào ngày 10 sau khi gây nhiễm và trung bình cộng của ba đĩa được sử dụng để tính hàm lượng. Hàm lượng dự trữ cấy truyền 3 của vAD3041 P.3 là $10^{9,03}$ $TCID_{50}$ trên mỗi ml, và của vAD3042 P.3 là $10^{8,90}$ $TCID_{50}$ trên mỗi ml. Hàm lượng dự trữ cấy truyền 3 của vAD3038 P.3 là $10^{9,93}$ $TCID_{50}$ trên mỗi ml, và của một mẻ khác của vAD3042 P.3 là $10^{9,97}$ $TCID_{50}$ trên mỗi ml.

ADN virut được chiết từ mỗi nguồn dự trữ virut và được khuếch đại bằng các đoạn mồi pAd xuôi (5'-GAC TTT GAC CGT TTA CGT GGA GAC-3') (SEQ ID NO.26) và pAd ngược (5'-CCT TAA GCC ACG CCC ACA CAT TTC-3') (SEQ ID NO.27) bằng cách sử dụng platinum PCR supermix High Fidelity (Invitrogen #12532) như được hướng dẫn. Các amplicon PCR có kích thước giống như mong đợi: ví dụ, 4709 bp đối với vAD3041; 4408 bp đối với vAD3042 (Fig.4). Các trình tự nucleotit của các amplicon PCR từ mỗi adenovirut tái tổ hợp là giống như được cấu trúc trong các vectơ tiếp nhận (được mô tả trên Fig.1), và không có sự thay đổi trong trình tự nucleotit của băng gen chuyển (các gen và trình tự khởi động và đuôi poly A của PRRSV).

Sự biểu hiện của các protein vỏ thứ yếu được hướng đích lại từ adenovirut tái tổ hợp

Sự biểu hiện đồng thời của mỗi trong số các protein vỏ được cải biến từ adenovirut tái tổ hợp trong một tế bào được xác nhận bằng cách sử dụng thử nghiệm huỳnh quang miễn dịch kép. vAD3038 tái tổ hợp được sử dụng để gây nhiễm lớp đơn HEK293 hợp dòng ở MOI cao và các tế bào được cố định sau 48 giờ và được làm hiện bằng IFA để biểu hiện các kháng nguyên tái tổ hợp. Toàn bộ các protein được chứng tỏ là biểu hiện tốt kể cả trên bề mặt tế bào (các Fig.9A & 9B).

Quan trọng là, sự biểu hiện của gp2, mà không hoàn toàn khi được biểu hiện riêng rẽ, thể hiện sớm dưới dạng sự biểu hiện nội bào tập trung cao mà không có sự biểu hiện trên bề mặt có thể phát hiện được, đã được cải thiện với sự biểu hiện nội bào khuếch tán và sự biểu hiện trên bề mặt tế bào riêng biệt (Fig.9C). Điều này chứng tỏ rằng việc gấp cuộn chính xác và vận chuyển của gp2 được cải biến có thể phụ thuộc vào sự đồng biểu hiện của gp3 và/hoặc gp4. Kết quả này gợi ý sự tạo ra của epitop trung hòa cần tạo ra cấu trúc bậc cao hơn bởi sự tương tác giữa các protein thứ yếu.

Ví dụ 4 - Thử nghiệm lâm sàng kiểm tra độ an toàn và hiệu lực của các vacxin Ad5 PRRSV

Sáu mươi (60) lợn được chia ngẫu nhiên thành 4 nhóm, mỗi nhóm chứa 15 con (bảng 3). Nhóm 1 nhận vAD3038, mà chỉ biểu hiện gp2, gp3 và gp3, còn nhóm 2 nhận vAD3041, mà còn biểu hiện E. Nhóm 3 nhận vAD3042, mà biểu hiện gp2, gp3 và gp4 được hướng đích lại, và nhóm 4 nhận vAD3033 mà biểu hiện SIV HA (đối chứng âm tính). Các nhóm mà nhận các vacxin adenovirut được chủng ngừa cơ bản bằng cách dùng

1 ml chế phẩm trong mỗi giếng mũi, tổng cộng 2 ml, xấp xỉ ở nồng độ 10^{8-9} $TCID_{50}$/ml. Các nhóm này được chủng ngừa tăng cường sau 21 ngày bằng cùng chế phẩm này được dùng trong cơ. Sau 42 ngày bắt đầu thử nghiệm, toàn bộ các lợn được gây nhiễm bằng chủng PRRSV NADC20 dùng trong mũi. Toàn bộ các lợn được làm chết sau 2 tuần gây nhiễm và được kiểm tra về các tổn thương trong phổi và các mẫu được gom lại để phân tích hàm lượng virut trong các mô và huyết thanh, như được biểu thị trên Fig.9.

Bảng 3. Sơ đồ thử nghiệm chủng ngừa

Nhóm #	**# /nhóm**	**Cơ bản**	**Tăng cường**	**Gây nhiễm**
		Ngày 0	Ngày 21	Ngày 42
1	15	vAD3038	vAD3038	NADC20
2	15	vAD3041	vAD3041	NADC20
3	15	vAD3042	vAD3042	NADC20
4	15	vAD3033	vAD3033	NADC20

Nói chung, dữ liệu này chứng tỏ rằng trong khi sự chủng ngừa bằng một vectơ mã hóa các protein vỏ thứ yếu gp2, gp3 và gp4 (vAD3042) không đem lại ưu điểm đáng kể bất kỳ so với đối chứng âm tính, thì việc bổ sung protein thứ yếu E (vAD3041) tạo ra sự khác biệt đáng kể trong việc bảo vệ khỏi tổn thương phổi từ việc gây nhiễm PRRSV. Hơn nữa, việc *hướng đích lại* của các protein thứ yếu (vAD3038) cũng tạo ra sự chênh lệch đáng kể (Fig.11).

Do đó, dữ liệu và các kết quả được bộc lộ trong bản mô tả này chứng minh mô hình có thể áp dụng chung, trong đó sự bảo vệ chống sự gây nhiễm PRRSV được tạo ra bởi các kháng thể được định hướng chống một trong số các protein bề mặt (ví dụ, gp2), hoặc cấu trúc oligome của bề mặt được tạo ra và được thể hiện bởi cấu trúc/sự sắp xếp bậc ba/bậc bốn của các protein. Như vậy, các kháng thể bảo vệ này có chức năng, ít nhất một phần, nhờ phong bế sự gây nhiễm PRRSV bằng cách gây cản trở việc gắn kết của các protein virut với (các) thụ thể tế bào.

Trước sáng chế này, sự tương tác của protein E với phần còn lại của các protein thứ yếu hoặc các protein khác trong virion chưa được biết là điều kiện tiên quyết để gây ra sự miễn dịch bảo vệ. Do đó, thử nghiệm chủng ngừa theo sáng chế đã phát hiện ra vai trò ngạc nhiên và bất ngờ đối với protein thứ yếu E, riêng rẽ hoặc kết hợp với một hoặc nhiều protein gp2, gp3 và gp4, trong việc gây ra sự bảo vệ cao hơn đáng kể chống sự gây nhiễm PRRSV có tính độc cho các lợn.

Các tác giả sáng chế thấy rằng, ví dụ, epitop trung hòa có thể, ví dụ, được bố trí trực tiếp trên protein E, hoặc nó có thể gây ra bởi protein thứ yếu bất kỳ hoặc tổ hợp các protein thứ yếu với sự có mặt của protein E. Xét về các tài liệu giải pháp kỹ thuật, phát hiện này là hoàn toàn bất ngờ và ngạc nhiên. Do đó, khám phá ngẫu nhiên này không chỉ xác định chế phẩm kháng nguyên bảo vệ PRRSV, mà có chức năng làm cơ sở để phát triển vacxin không chứa PRRSV sống, mà còn mở ra lĩnh vực nghiên cứu mới về PRRSV để làm rõ các tương tác protein-protein / virut-thụ thể tế bào.

Xét về mặt dữ liệu và các kết quả, các tác giả sáng chế thấy rằng các tổ hợp khác của E + protein thứ yếu (ví dụ, E + gp2; E + gp2 + gp3; E + gp2 + gp4; và các tổ hợp tương tự) tương tự sẽ khắc phục vấn đề về việc trình diện "epitop trung hòa" (được xác định trong bản mô tả này là epitop mà có khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch bảo vệ ở động vật, bao gồm sự sản xuất các kháng thể trung hòa virut) đối với hệ miễn dịch của động vật. Hơn nữa, các kết quả này biểu thị rằng việc *hướng đích lại* của các protein thứ yếu của PRRSV gây ra sự miễn dịch an toàn và bảo vệ bất ngờ tương tự.

Do đó, các tác giả sáng chế đã phát hiện hai nguyên cứu chính, không liên quan, để khắc phục sự không có khả năng của gp2, gp3, và gp4 được biểu hiện một cách riêng rẽ để trình diện epitop trung hòa virut với hệ miễn dịch của động vật chủ, và gây ra đáp ứng miễn dịch bảo vệ chống sự gây nhiễm PRRSV có tính độc.

Hơn nữa, bảng mô tả này bộc lộ, lần đầu tiên, rằng khả năng sinh miễn dịch của các protein thứ yếu của vỏ PRRSV có thể được tăng cường một cách đầy đủ để gây ra đáp ứng miễn dịch bảo vệ. Các nghiên cứu theo sáng chế được thấy là có khả năng áp dụng rộng đối với các virut khác, đặc biệt là trong đó sự xác định vị trí tế bào đóng vai trò trong việc ngăn cản các epitop virut trung hòa khỏi bị trình diện với hệ miễn dịch của vật chủ.

Ví dụ 4 - Thử nghiệm lâm sàng kiểm tra độ an toàn và hiệu lực của các vacxin Ad5 PRRSV

Một nghiên cứu khác được thực hiện bằng cách sử dụng các phương pháp được bộc lộ trong ví dụ 3, và bảng 4 đưa ra sự khái quát. Các vectơ adenovirut có các đoạn xen sau đây: vAD3038 (Gp234-Rtrg); vAD3067 (Gp234-Rtrg+E-opt); vAD3064 (M-gp5-gp5a-Rtrg); vAD3041 (Gp234E); vAD3069 (Np-M-gp5-gp5a); vAD3046 (SIV-HA).

Bảng 4. Sơ đồ thử nghiệm chủng ngừa (IM=trong cơ; IN=trong mũi)

Nhóm #	# trên mỗi nhóm	Cơ bản	Tăng cường	Vacxin chết
		Ngày 0	Ngày 14	Ngày 28
1	12	vAD3038 (IN)	vAD3038 (IM)	Có
2	8	vAD3067 (IM)	vAD3067 (IM)	Có
3	12	vAD3067 (IN)	vAD3067 (IM)	Có
4	12	(vAD3067+vAD3064) (IN)	(vAD3067+vAD3064) (IM)	Có
5	12	(vAD3041+vAD3069) (IN)	(vAD3041+vAD3069) (IM)	Có
6	12	vAD3038 (IN)	vAD3038 (IM)	Không
7	12	vAD3046 (IN)	vAD3046 (IM)	Không

Dữ liệu này chứng tỏ rằng các protein vỏ thứ yếu của PRRSV được biểu hiện bằng vectơ, được hướng đích lại được tăng cường bằng vacxin chết làm giảm tải lượng virut trong huyết thanh ở loài lợn và tạo ra sự bảo vệ đáng kể khỏi tổn thương phổi (các Fig.18 & 19). Dữ liệu này không thể dự đoán được trước nghiên cứu này, thậm chí xét về dữ liệu được thể hiện trong ví dụ 3. Giờ đây nghiên cứu này đã được thực hiện, các tác giả sáng chế thấy rằng sự bảo vệ bất ngờ khỏi tổn thương phổi và sự giảm tải lượng virut trong huyết thanh có thể là do tác dụng mồi mạnh của các protein vỏ thứ yếu được hướng đích lại (Fig.20). Cũng không thể dự đoán được phát hiện rằng việc bổ sung E vào các protein vỏ thứ yếu *được hướng đích lại* thể hiện sự bảo vệ không đáng kể khỏi tổn thương phổi (các Fig.21 & 22), trái với kết quả ngược lại được bộc lộ trong ví dụ 3 (tức là việc dùng cấu trúc adeno chứa các protein vỏ thứ yếu E+Wt làm giảm đáng kể tổn thương phổi). Xét dữ liệu về sự tương tác được minh họa trên các Fig.23 & 24, các tác giả sáng chế thấy rằng sự giảm bảo vệ khỏi tổn thương phổi này có thể được gây ra bởi sự tương tác tiêu cực của E thể dại với các protein vỏ thứ yếu được hướng đích lại (tức là do các miền TM & CT được biến đổi, có mặt trong các protein được hướng đích lại).

Mặc dù sáng chế theo các phương án được ưu tiên đã được mô tả một cách chi tiết trên đây, cần phải hiểu rằng sáng chế được mô tả bởi các phương án này không bị giới hạn ở các chi tiết cụ thể nêu trong phần mô tả trên do có thể có nhiều biến thể hiển nhiên của các phương án này mà không vượt quá ý tưởng hoặc phạm vi của sáng chế. Toàn bộ các tài liệu được trích dẫn hoặc viện dẫn trong các tài liệu được trích dẫn trong đơn, và toàn bộ các tài liệu được trích dẫn hoặc viện dẫn trong bản mô tả này ("các tài liệu được trích dẫn trong bản mô tả này"), và toàn bộ các tài liệu được trích dẫn hoặc viện dẫn trong các tài liệu được trích dẫn trong đó, cùng với bất kỳ hướng dẫn của nhà sản xuất, mô tả, đặc điểm kỹ thuật sản phẩm, và tờ rơi sản phẩm đối với các sản phẩm bất kỳ được

nêu trong bản mô tả này hoặc trong tài liệu bất kỳ được hợp nhất trong đó bằng cách viện dẫn, được hợp nhất vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn, và có thể được dùng để thực hiện sáng chế này.

Tài liệu tham khảo

Changhee Lee, D. Y. (2006). The small envelope protein of porcine reproductive and respiratory syndrome virus possesses ion channel protein-like properties. *Virology* , 30-43.

Charerntantanakul, W. (2012). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccines: Immunogenicity, efficacy and safety aspects. *World Journal of Virology*, 23-30.

Dea S, G. C. (2000). Current knowledge on the structural proteins of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus: comparison of the North American and European isolates. *Archives of Virology*, 659-688.

Dea, B. P. (1998). Immune response in pigs vaccinated with plasmid DNA mã hóa ORF5 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of General Virology*, 989-999.

Derald J. Holtkamp, J. K. (2013). Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on united States Pork producers. *Journal of Swine Health and production*, 72-84.

Dokland, T. (2010). The structural biology of PRRSV. *Virus Reserach*, 86-97.

F. A. Osorio, J. A. (2002). Passive Transfer of Virus-Specific Antibodies Confers Protection against Reproductive Failure Induced by a Virulent Strain of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus and Establishes Sterilizing Immunity. *Virology*, 9-20.

Jazmina L.G. Cruza, S. Z. (2010). Vectored vaccines to protect against PRRSV. *Virus Research* , 150-160.

Jing-Qiang Ren, W.-C. S.-J.-B.-L.-X.-P.-W.-Y. (2014). Construction and immunogenicity of a DNA vaccine coexpressing GP3 và GP5 of genotype-I porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *BMC Veterinary Research*, 1-11.

Juan Li, M. P. (2012). Dissociation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus neutralization from antibodies specific to major envelope protein surface epitopes. *Virology*, 367-376.

Lu Z1, Z. J. (2012). Chimeric viruses containing the N-terminal ectodomains of GP5 and M proteins of porcine reproductive and respiratory syndrome virus do not change the cellular tropism of equine arteritis virus. *Virology*, 99-109.

Maorong Yua, X. L. (2010). Subcellular localization and topology of porcine reproductive and respiratory syndrome virus E protein. *Virus Reserach*, 104-114.

Meng, X. (2000). Heterogeneity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: implications for current vaccine ef®cacy and future vaccine development. *Veterinary Microbiology 74 (2000) 309±329*, 309-329.

O. J. Lopez, M. F. (2007). Protection against Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) Infection through Passive Transfer of PRRSV-Neutralizing Antibodies Is Dose Dependent. *linical and Vaccine Immunology*, 269-275.

Phani B. Das, P. D. (2010). The Minor Envelope Glycoproteins GP2a and GP4 of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Interact with the Receptor CD163. *Journal of Virology*, 1731-1740.

Randall S. Prather, R. R. (2013). An Intact Sialoadhesin (Sn/SIGLEC1/CD169) Is Not Required for Attachment/Internalization of the Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus. *Journal of Virology*, 9538-9546.

Sakthivel Subramaniam, P. P. (2014). In vivo targeting of porcine reproductive and respiratory syndrome virus antigen through porcine DC-SIGN to dendritic cells elicits antigen-specific CD4T cell immunity in pigs. *Vaccine*, 6768-6775.

Tian D, W. Z.-D. (2012). Arterivirus minor envelope proteins are a major determinant of viral tropism in cell culture. *Journal of Virology*, 3701-3712.

Tjeerd G. Kimman, L. A.-Z. (2009). Challenges for porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccinology. *Vaccine*, 3704-3718.

Yijun Du, F. A. (2010). Myristoylation of the small envelope protein of porcine reproductive and respiratory syndrome virus is non-essential for virus infectivity but promotes its growth. *Virus Research*, 294-299.

Z.S. WANG, X. X. (2011). Immunogenicity of the envelope GP3 protein of porcine reproductive and respiratory syndrome virus displayed on baculovirus. *Acta Virologica*, 139-146.

Zhang, J. H. (2012). Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Vaccines: Current Status and Strategies to a Universal Vaccine. *Transboundary and Emerging Diseases*, 109-120.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm miễn dịch chứa:

a. một hoặc nhiều vectơ virut tái tổ hợp, chứa một hoặc nhiều polynucleotit không tương đồng, mã hóa một hoặc nhiều kháng nguyên, hoặc miền ngoại bào gp2, gp3, hoặc gp4 được hướng đích lại của virut gây hội chứng sinh sản và hô hấp ở lợn (porcine reproductive and respiratory syndrome virus - PRRSV);

b. trong đó khi kháng nguyên gp2 được hướng đích lại được mã hóa, thì ít nhất một trong số các kháng nguyên gp3 được hướng đích lại hoặc kháng nguyên gp4 được hướng đích lại, cũng được mã hóa; và

c. trong đó kháng nguyên hoặc miền ngoại bào được hướng đích lại bằng cách thay thế trình tự định vị tế bào hiện có của polypeptit bằng trình tự xác định biểu hiện bề mặt tế bào tương ứng từ gen không tương đồng.

2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa chất mang dược dụng hoặc được chấp nhận dùng trong thú y, và trong đó một hoặc nhiều vectơ bao gồm vectơ adenovirut 5 PRRSV tái tổ hợp (Ad5-PRRSV), vectơ baculovirut PRRSV tái tổ hợp, vectơ cytomegalovirut PRRSV tái tổ hợp của lợn hoặc vectơ poxvirut PRRSV tái tổ hợp.

3. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó một hoặc nhiều vectơ chứa hỗn hợp của hai vectơ, vectơ thứ nhất biểu hiện các protein thứ yếu của PRRSV được hướng đích lại, và vectơ thứ hai biểu hiện các protein chủ yếu của PRRSV được hướng đích lại.

4. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó các vectơ tái tổ hợp chứa polynucleotit mã hóa polypeptit có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 90% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO.14, SEQ ID NO.16 hoặc SEQ ID NO.18.

5. Chế phẩm theo điểm 4, trong đó vectơ PRRSV tái tổ hợp là vectơ Ad5-PRRSV.

6. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa một hoặc hai vectơ Ad5-PRRSV tái tổ hợp.

7. Chế phẩm theo điểm 6, trong đó vectơ Ad5-PRRSV tái tổ hợp biểu hiện một trong số mỗi hoặc tổ hợp của một hoặc nhiều kháng nguyên, polypeptit hoặc miền ngoại bào của PRRSV sau: a. rtg-gp2, rtg-gp3 và rtg-gp4; b. rtg-gp2 và rtg-gp3; c. rtg-gp2 và rtg-gp4; d. rtg-gp3; e. rtg-gp4; và f. rtg-gp3 và rtg-4.

8. Chế phẩm theo điểm 6, trong đó:

a. vectơ Ad5-PRRSV tái tổ hợp chứa polynucleotit mã hóa kháng nguyên, polypeptit hoặc miền ngoại bào có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 90% so với trình tự SEQ ID NO.14, SEQ ID NO.16 hoặc SEQ ID NO.18; hoặc

b. vectơ Ad5-PRRSV tái tổ hợp chứa polynucleotit có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 90% so với trình tự như nêu trong SEQ ID NO.13, SEQ ID NO.15 hoặc SEQ ID NO.17.

9. Vectơ Ad5-PRRSV tái tổ hợp như được định nghĩa trong điểm 6, trong đó vectơ Ad5-PRRSV này chứa polynucleotit mã hóa kháng nguyên, polypeptit, hoặc miền ngoại bào gp2 được hướng đích lại của PRRSV có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 90% so với trình tự SEQ ID NO.14.

10. Vectơ Ad5-PRRSV tái tổ hợp như được định nghĩa trong điểm 6, trong đó vectơ Ad5-PRRSV này chứa polynucleotit mã hóa kháng nguyên, polypeptit, hoặc miền ngoại bào gp4 được hướng đích lại của PRRSV có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 90% so với trình tự SEQ ID NO.18.

11. Vectơ Ad5-PRRSV tái tổ hợp như được định nghĩa trong điểm 6, trong đó vectơ Ad5-PRRSV này chứa polynucleotit mã hóa kháng nguyên, polypeptit, hoặc miền ngoại bào gp3 được hướng đích lại của PRRSV có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 90% so với trình tự SEQ ID NO.16.

12. Vectơ Ad5-PRRSV tái tổ hợp như được định nghĩa trong điểm 6, trong đó vectơ Ad5-PRRSV này chứa các polynucleotit mã hóa các kháng nguyên, polypeptit hoặc miền ngoại bào gp2 được hướng đích lại và gp4 được hướng đích lại của PRRSV có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 90% so với trình tự các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.14 (protein gp2 được hướng đích lại) và SEQ ID NO.18 (protein gp4 được hướng đích lại).

13. Vectơ Ad5-PRRSV tái tổ hợp như được định nghĩa trong điểm 6, trong đó vectơ Ad5-PRRSV này chứa các polynucleotit mã hóa các kháng nguyên, polypeptit hoặc miền ngoại bào gp2 được hướng đích lại và gp3 được hướng đích lại của PRRSV có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 90% so với trình tự các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.14 (protein gp2 được hướng đích lại) và SEQ ID NO.16 (protein gp3 được hướng đích lại).

14. Vectơ Ad5-PRRSV tái tổ hợp như được định nghĩa trong điểm 6, trong đó vectơ Ad5-PRRSV này chứa các polynucleotit mã hóa các kháng nguyên hoặc miền ngoại bào gp3 được hướng đích lại và gp4 được hướng đích lại của PRRSV có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 90% so với trình tự các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.16 (protein gp3 được hướng đích lại) và SEQ ID NO.18 (protein gp4 được hướng đích lại).

15. Vectơ Ad5-PRRSV tái tổ hợp như được định nghĩa trong điểm 6, trong đó vectơ Ad5-PRRSV này chứa các polynucleotit mã hóa ba kháng nguyên hoặc miền ngoại bào của PRRSV có độ tương đồng trình tự ít nhất bằng 90% so với trình tự các trình tự như nêu trong SEQ ID NO.14 (protein gp2 được hướng đích lại), SEQ ID NO.16 (protein gp3 được hướng đích lại) và SEQ ID NO.18 (protein gp4 được hướng đích lại).

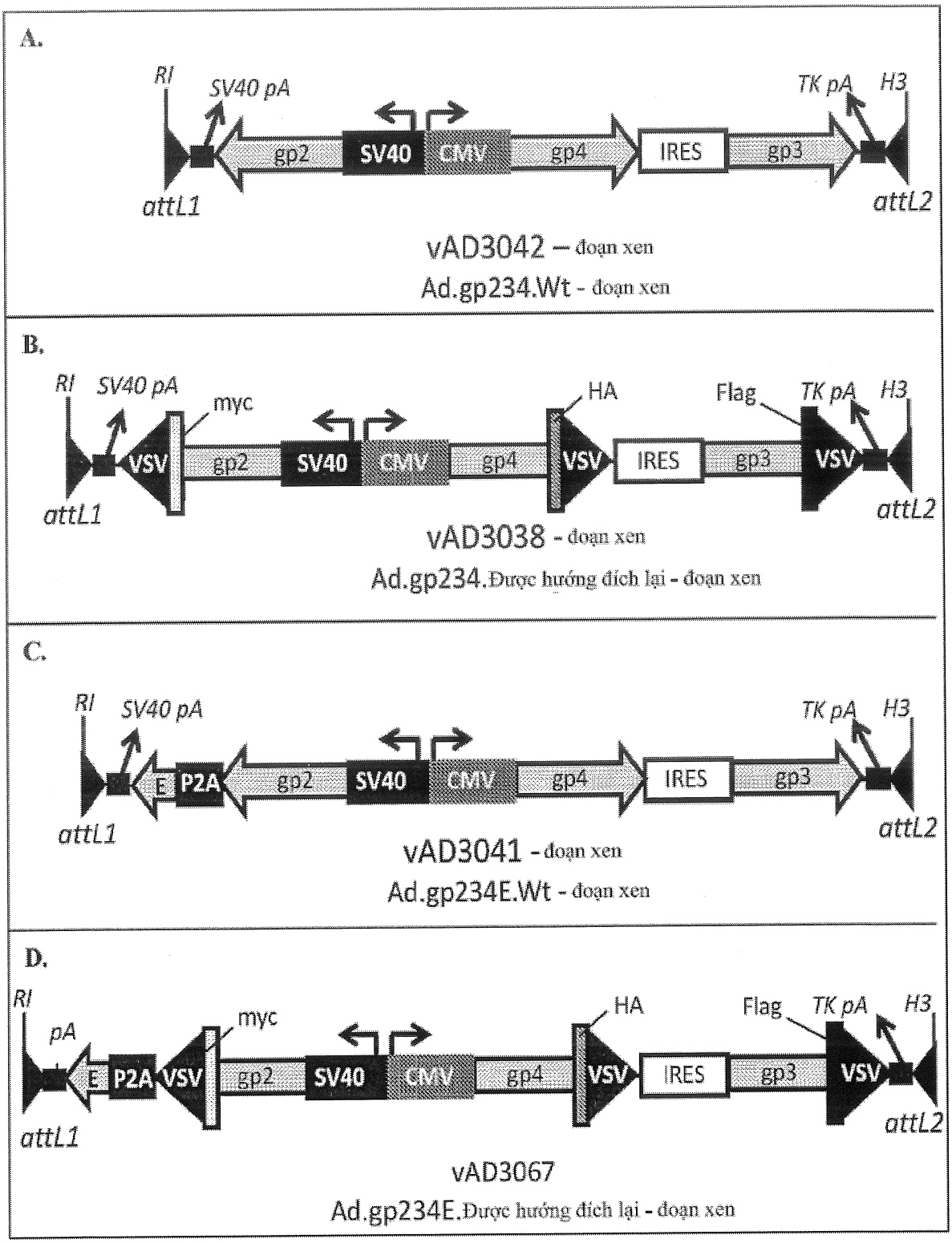
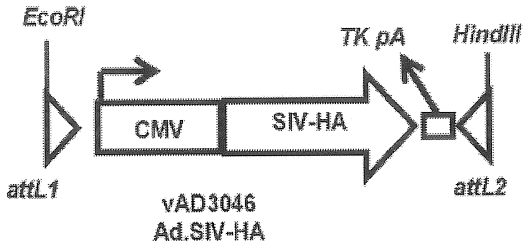
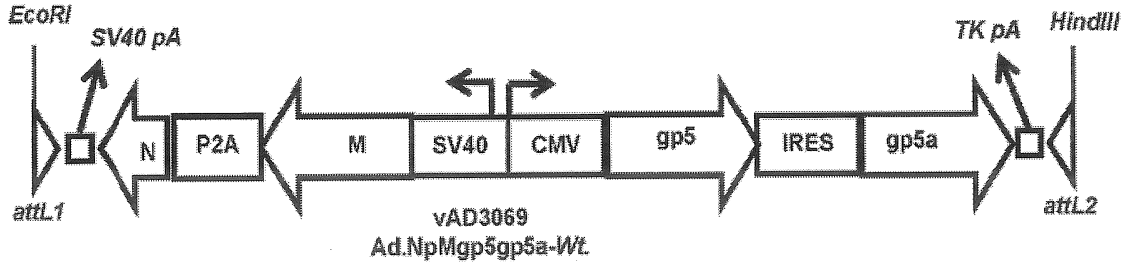

A.
RI
SV40 pA
TK pA
H3
gp2
SV40
CMV
gp4
IRES
gp3
attL1
attL2
vAD3042 – đoạn xen
Ad.gp234.Wt - đoạn xen
B.
RI
SV40 pA
myc
HA
Flag
TK pA
H3
VSV
gp2
SV40
CMV
gp4
VSV
IRES
gp3
VSV
attL1
attL2
vAD3038 - đoạn xen
Ad.gp234.Được hướng đích lại - đoạn xen
C.
RI
SV40 pA
TK pA
H3
E
P2A
gp2
SV40
CMV
gp4
IRES
gp3
attL1
attL2
vAD3041 - đoạn xen
Ad.gp234E.Wt - đoạn xen
D.
RI
pA
myc
HA
Flag
TK pA
H3
E
P2A
VSV
gp2
SV40
CMV
gp4
VSV
IRES
gp3
VSV
attL1
attL2
vAD3067
Ad.gp234E.Được hướng đích lại - đoạn xen

Fig.1

E.



F.



G.

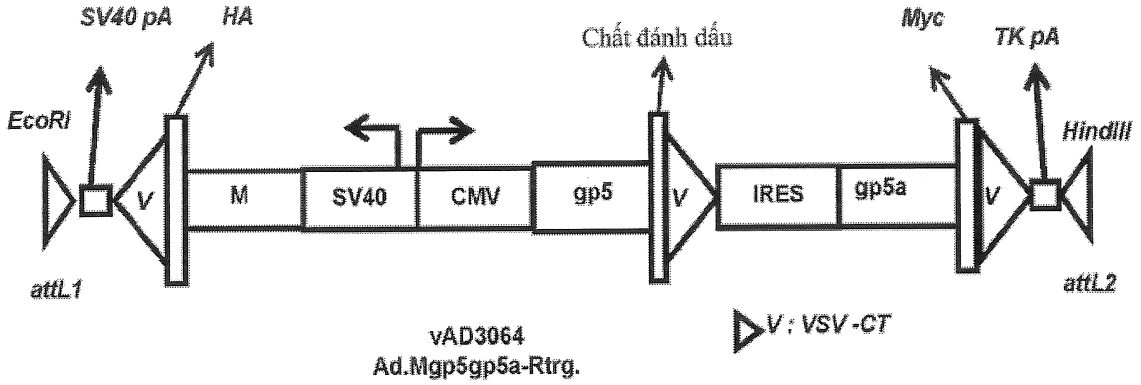


Fig.1 (tiếp theo)

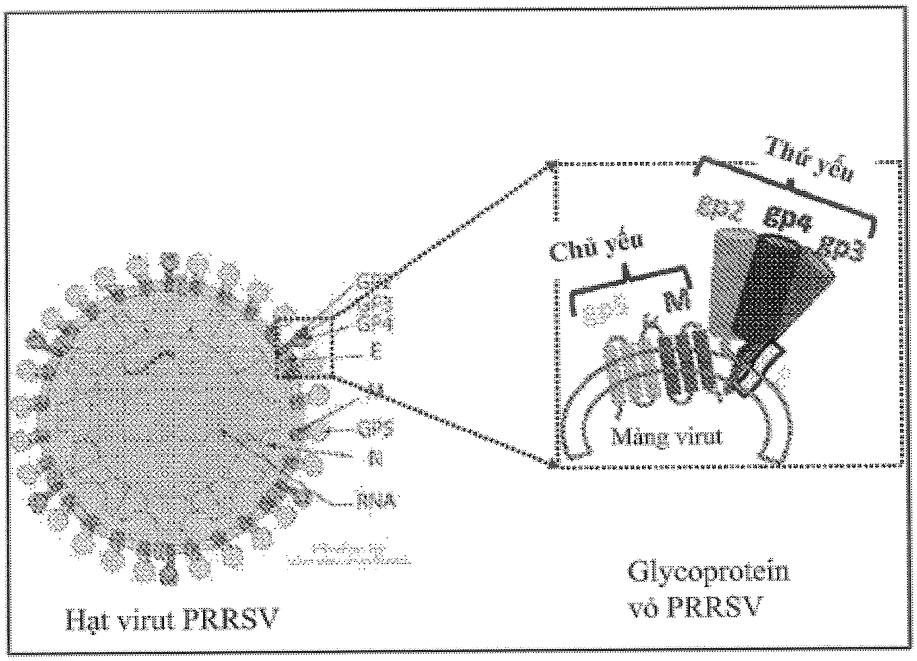

Thứ yếu
gp2
ep4
gp3
Chủ yếu
gp5
M
Màng virut
GP4
E
GP5
M
RNA
Hạt virut PRRSV
Glycoprotein
vỏ PRRSV

Fig.2

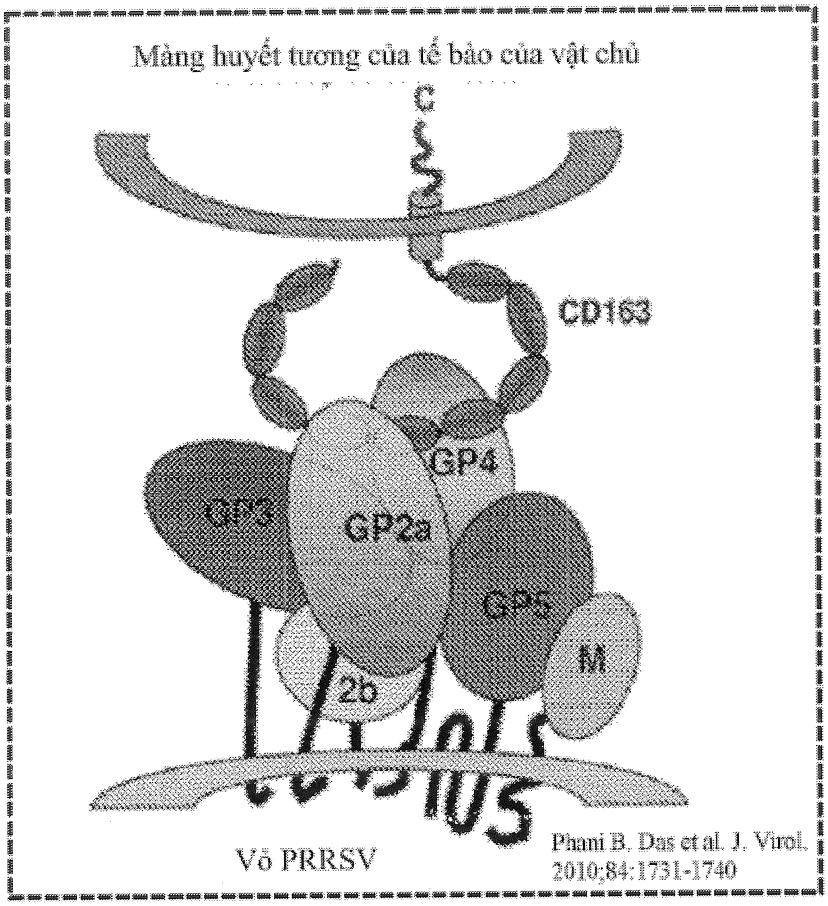

Màng huyết tương của tế bào của vật chủ
C
CD163
GP4
GP3
GP2a
GP5
M
2b
Vỏ PRRSV
Phani B. Das et al. J. Virol. 2010;84:1731-1740

Fig.3

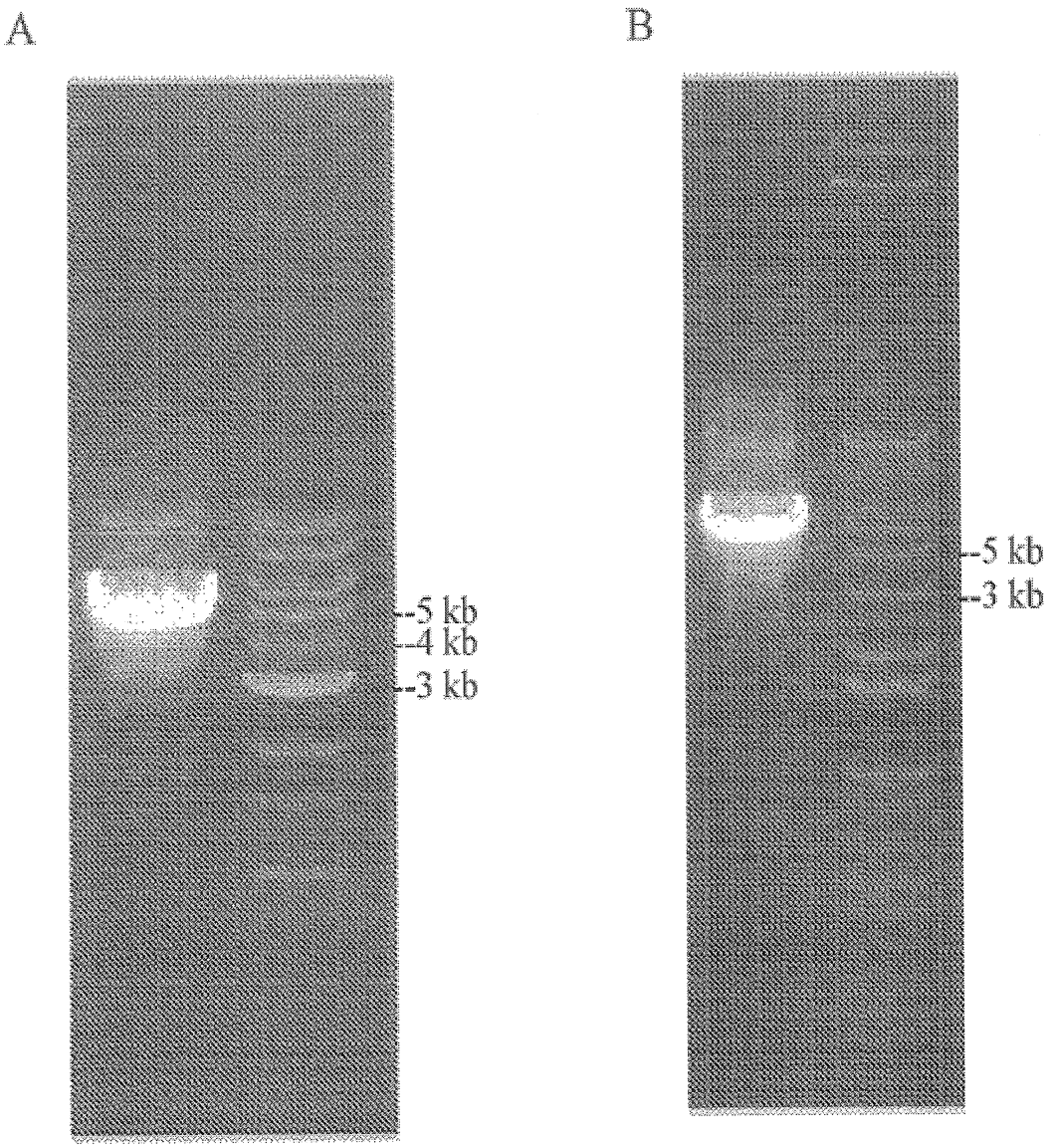


Fig.4

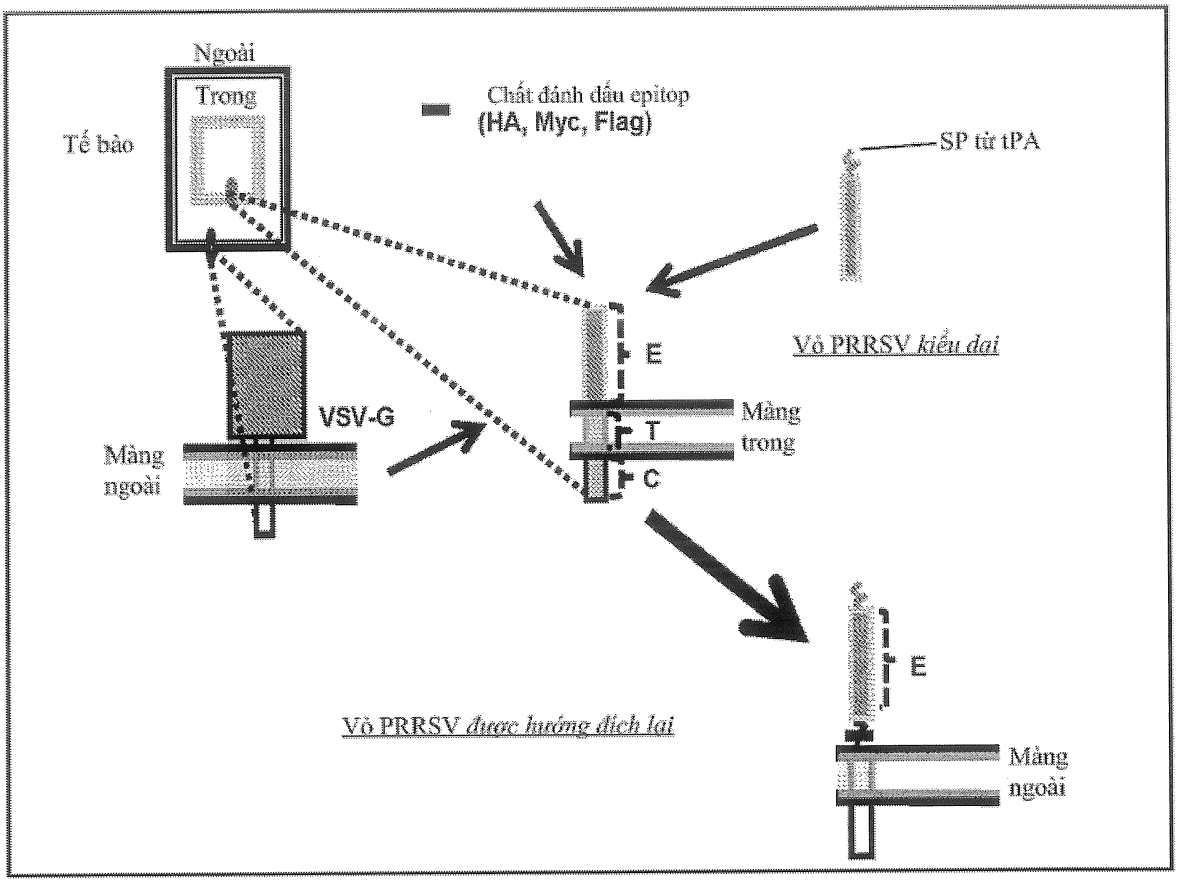

Ngoài
Trong
Tế bào
Chất đánh dấu epitop
(HA, Myc, Flag)
SP từ tPA
Vỏ PRRSV *kiểu dại*
E
VSV-G
Màng
ngoài
T
Màng
trong
C
E
Vỏ PRRSV *được hướng dịch lại*
Màng
ngoài

Fig.5A

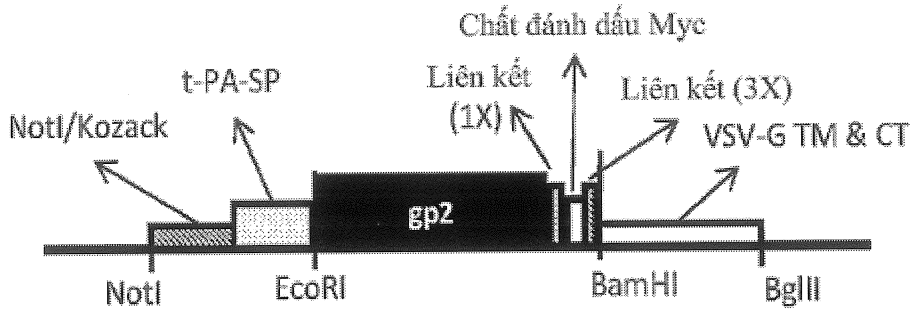


Fig.5B

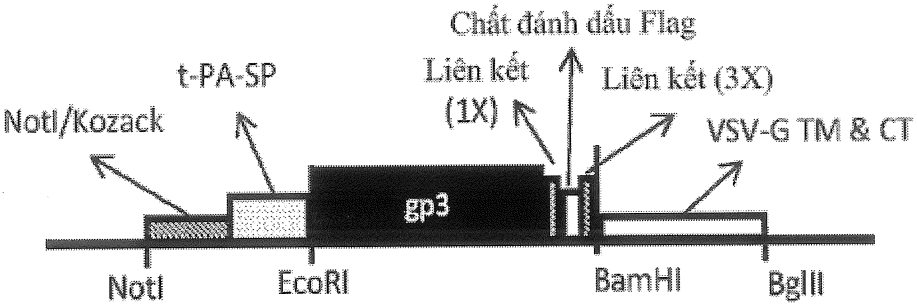


Fig.5C

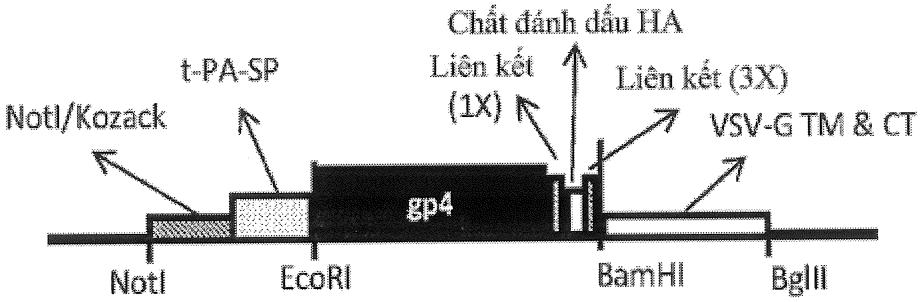


Fig.5D

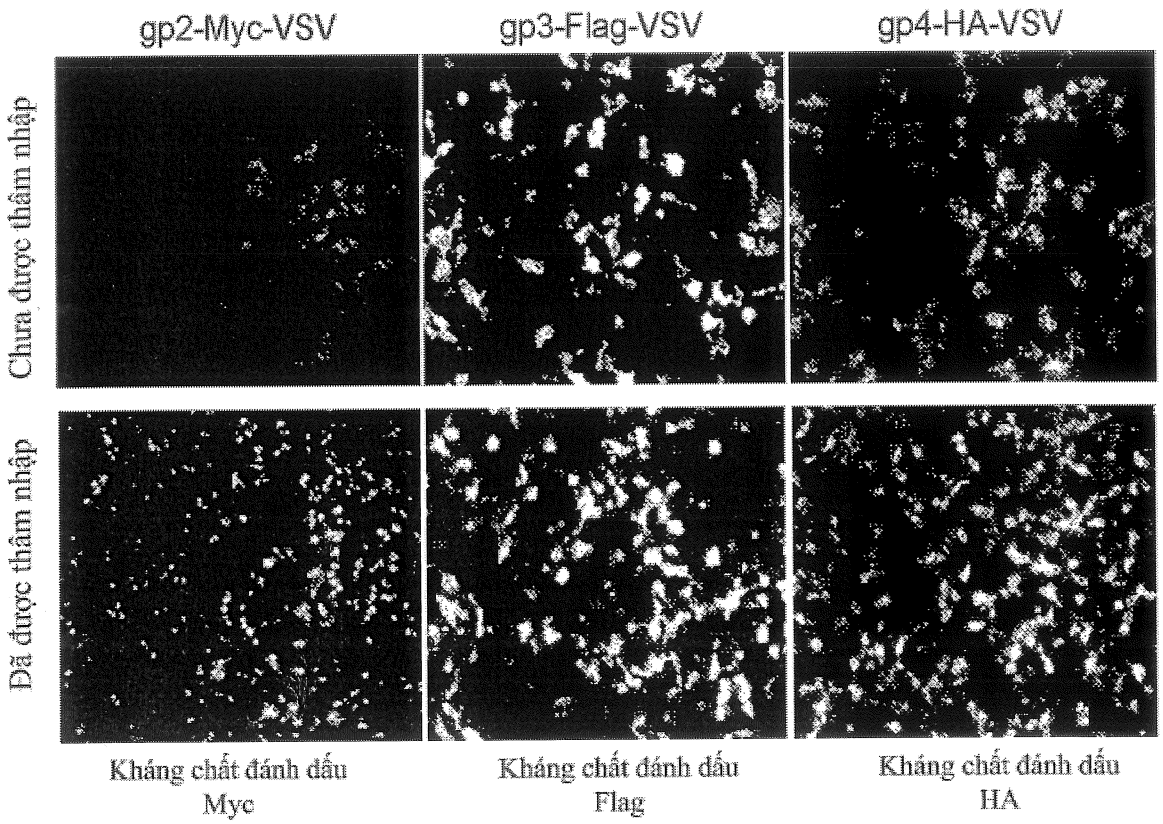

gp2-Myc-VSV
gp3-Flag-VSV
gp4-HA-VSV
Chưa được thâm nhập
Đã được thâm nhập
Kháng chất đánh dấu Myc
Kháng chất đánh dấu Flag
Kháng chất đánh dấu HA

Fig.6

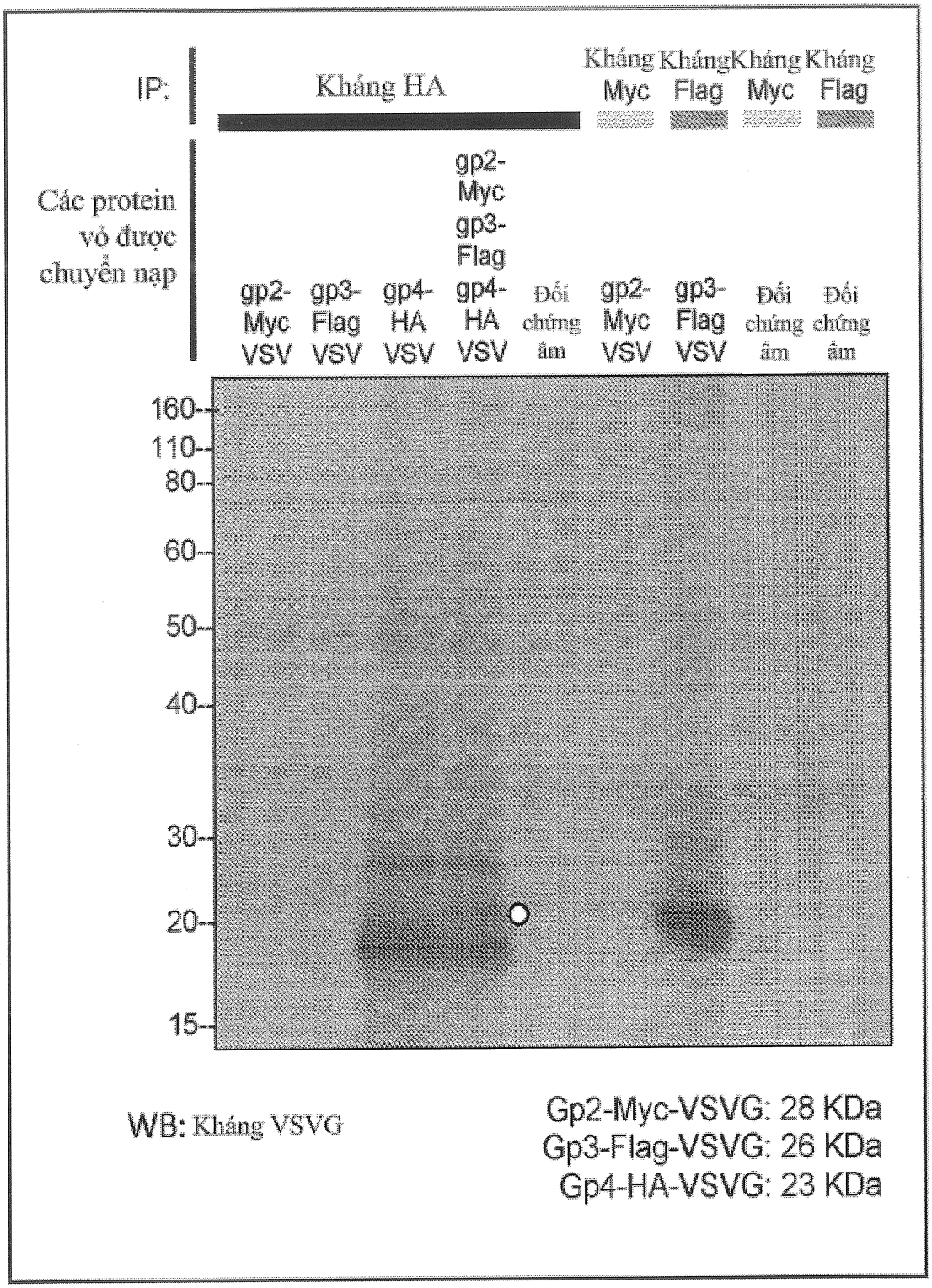

IP:
Kháng HA
Kháng Myc
Kháng Flag
Kháng Myc
Kháng Flag
Các protein vỏ được chuyển nạp
gp2-Myc VSV
gp3-Flag VSV
gp4-HA VSV
gp2-Myc gp3-Flag gp4-HA VSV
Đối chứng âm
gp2-Myc VSV
gp3-Flag VSV
Đối chứng âm
Đối chứng âm
160
110
80
60
50
40
30
20
15
WB: Kháng VSVG
Gp2-Myc-VSVG: 28 KDa
Gp3-Flag-VSVG: 26 KDa
Gp4-HA-VSVG: 23 KDa

Fig.7

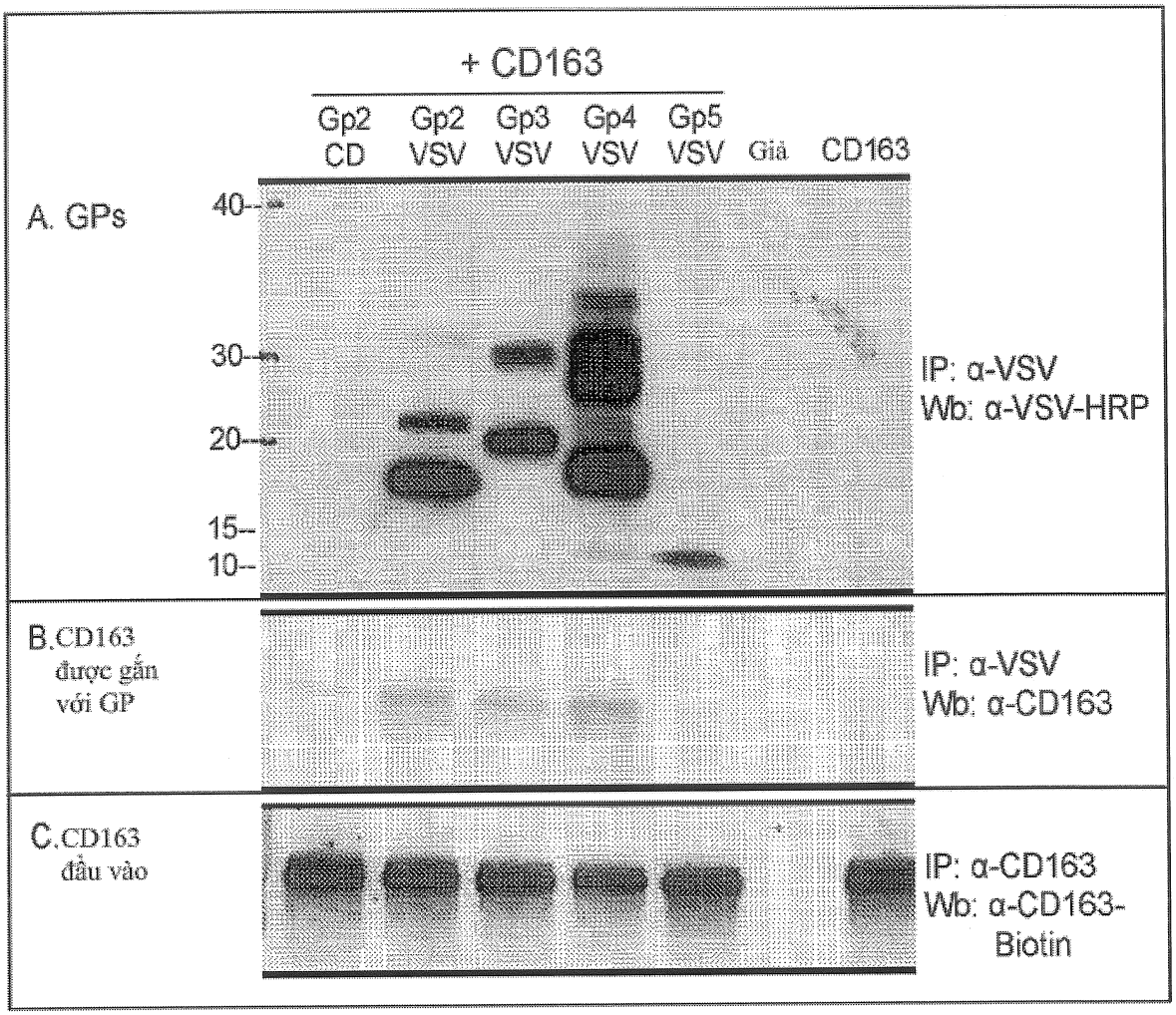

+ CD163
Gp2 CD
Gp2 VSV
Gp3 VSV
Gp4 VSV
Gp5 VSV
Giả
CD163
A. GPs
40--
30--
20--
15--
10--
IP: α-VSV
Wb: α-VSV-HRP
B.CD163 được gắn với GP
IP: α-VSV
Wb: α-CD163
C.CD163 đầu vào
IP: α-CD163
Wb: α-CD163-Biotin

Fig.8

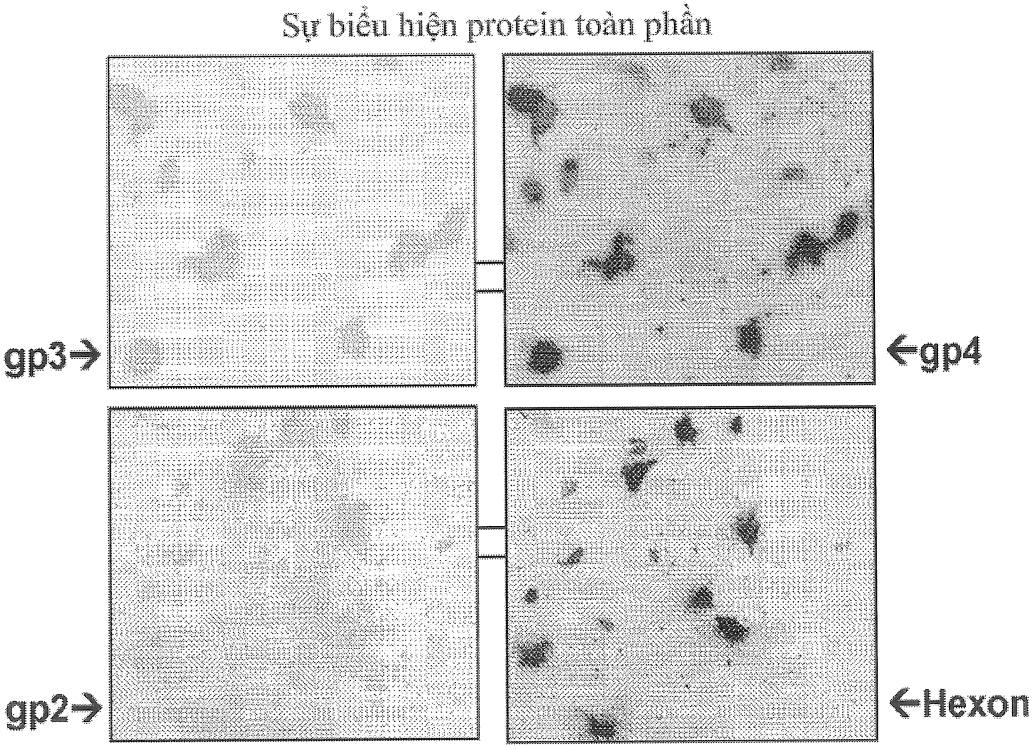

Sự biểu hiện protein toàn phần
gp3→
←gp4
gp2→
←Hexon

Fig.9A

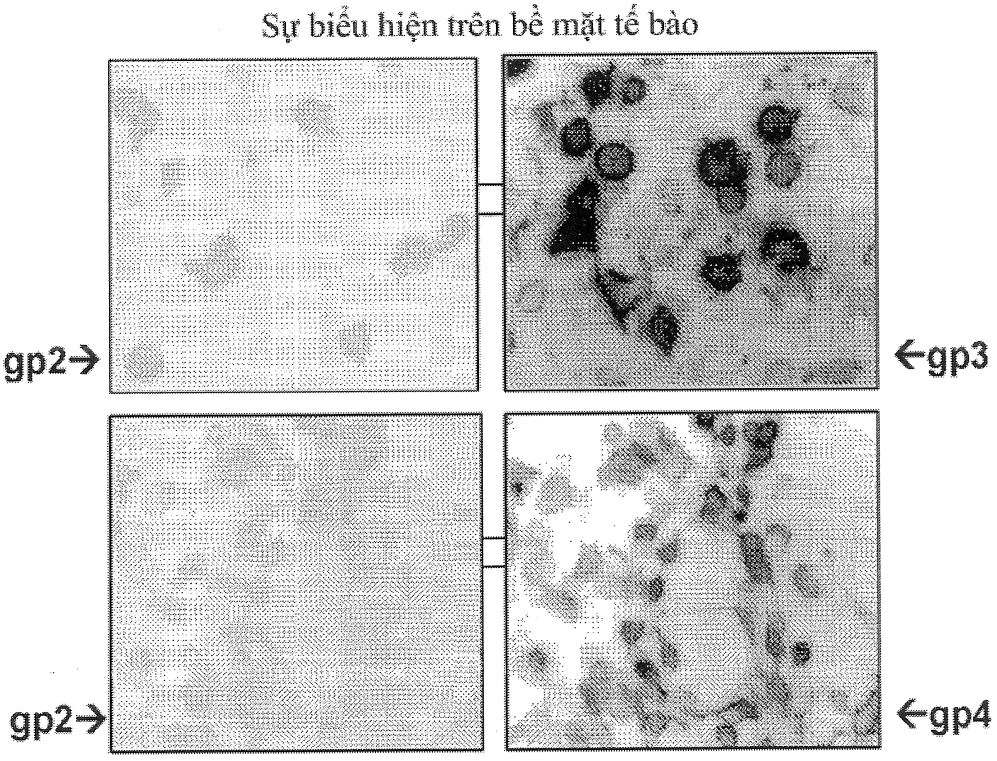

Sự biểu hiện trên bề mặt tế bào
gp2→
←gp3
gp2→
←gp4

Fig.9B

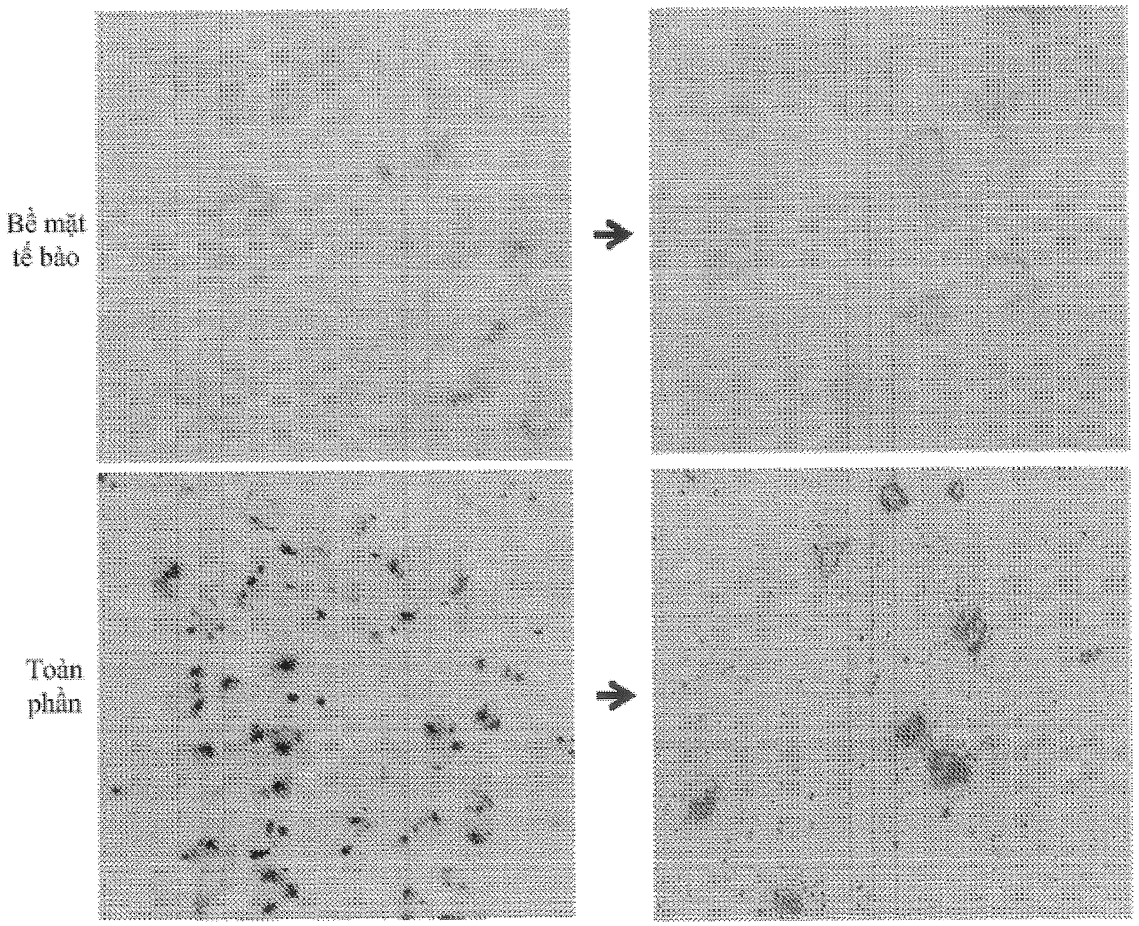

Bề mặt tế bào
Toàn phần
rtg-Gp2 riêng rẽ
rtg-Gp2/3/4 được đồng biểu hiện (vAD3038)

Fig.9C

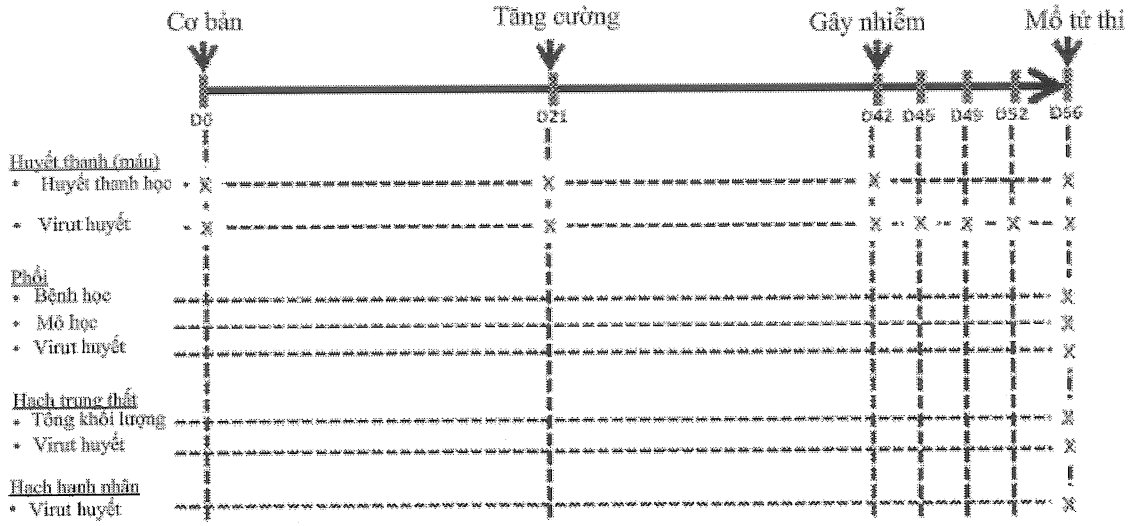

Cơ bản
Tăng cường
Gây nhiễm
Mổ tử thi
D0
D21
D42
D46
D49
D52
D56
Huyết thanh (máu)
Huyết thanh học
Virut huyết
Phổi
Bệnh học
Mô học
Virut huyết
Hạch trung thất
Tổng khối lượng
Virut huyết
Hạch hạnh nhân
Virut huyết

Fig.10

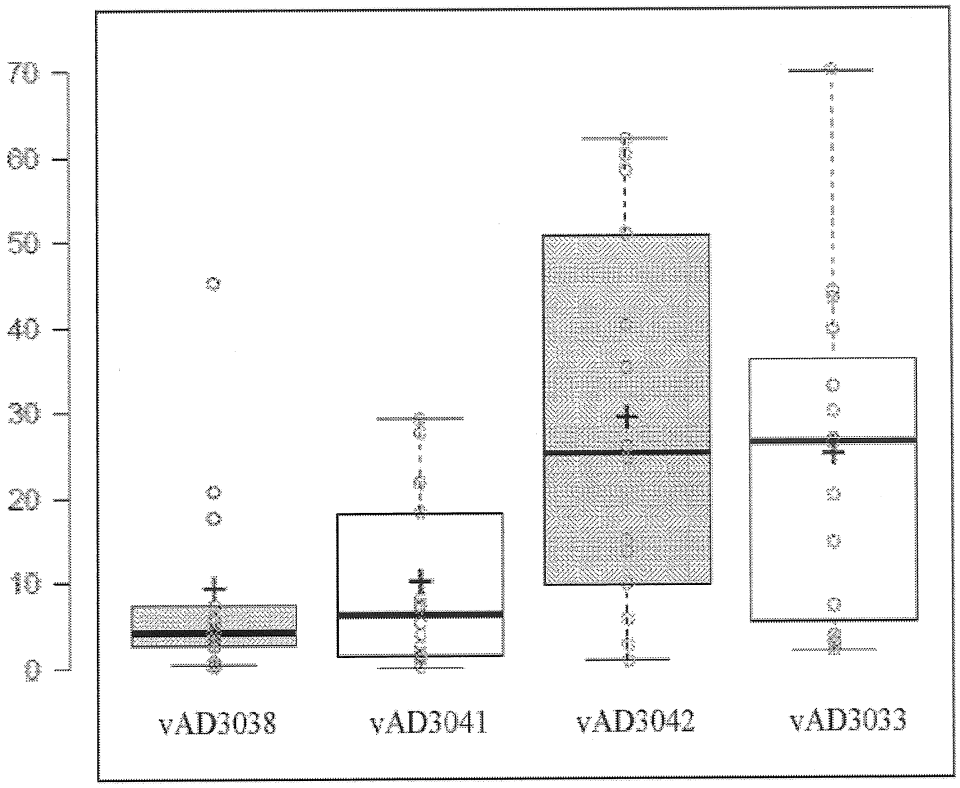

70
60
50
40
30
20
10
0
vAD3038
vAD3041
vAD3042
vAD3033

Fig.11

SEQ ID #	Loại	Mô tả
1	Polypeptit	Polypeptit gp2 của PRRSV, từ VR2332, PRRSV Typ II (toàn bộ trình tự virut được cung cấp với số lưu giữ #:U87392.3, được kết hợp toàn bộ bằng cách viện dẫn)
2	ADN/ARN	VR2332 PRRSV gp2 (12073..12843 của VR2332)
3	Polypeptit	VR2332 PRRSV gp3 polypeptit
4	ADN/ARN	VR2332 PRRSV gp3 (12696..13460 của VR2332)
5	Polypeptit	VR2332 PRRSV gp4 polypeptit
6	ADN/ARN	VR2332 PRRSV gp4 (13241..13777 của VR2332)
7	Polypeptit	VR2332 PRRSV E polypeptit
8	ADN/ARN	VR2332 PRRSV E (12078..12299 của VR2332)
9	ADN/ARN	VR2332 PRRSV gp2 (được tối ưu hóa codon)
10	ADN/ARN	VR2332 PRRSV gp3 (được tối ưu hóa codon)
11	ADN/ARN	VR2332 PRRSV gp4 (được tối ưu hóa codon)
12	ADN/ARN	VR2332 PRRSV E (được tối ưu hóa codon)
13	ADN/ARN	VR2332 PRRSV *rtg*-gp2 DNA (được tối ưu hóa codon, được hướng đích lại)
14	Polypeptit	VR2332 PRRSV *rtg*-gp2 polypeptit (gp2-myc-VSV)
15	ADN/ARN	VR2332 PRRSV *rtg*-gp3 DNA (được tối ưu hóa codon, được hướng đích lại)
16	Polypeptit	VR2332 PRRSV *rtg*-gp3 polypeptit (gp3-Flag-VSV)
17	ADN/ARN	VR2332 PRRSV *rtg*-gp4 DNA (được tối ưu hóa codon, được hướng đích lại)
18	Polypeptit	VR2332 PRRSV *rtg*-gp4 polypeptit (gp4-HA-VSV)
19	ADN/ARN	VR2332 PRRSV *rtg*-E (được tối ưu hóa codon, được hướng đích lại)
20	Polypeptit	VR2332 PRRSV *rtg*-E polypeptit
21	ADN/ARN	Đoạn xen tiền tái tổ hợp vAD3038
22	ADN/ARN	Đoạn xen tiền tái tổ hợp vAD3041
23	ADN/ARN	Đoạn xen tiền tái tổ hợp vAD3042
24	ADN/ARN	Đoạn xen tiền tái tổ hợp vAD-*rtg*-gp234-E
25	ADN/ARN	Đoạn xen tiền tái tổ hợp vAD3033
26	ADN/ARN	Đoạn mồi xuôi pAd5
27	ADN/ARN	Đoạn mồi ngược pAd5
28	ADN/ARN	Trình tự toàn bộ VR2332, PRRSV Typ II
29	ADN/ARN	Trình tự toàn bộ Lelystad PRRSV (Ngân hàng gen: A26843.1)
30	ADN/ARN	Vectơ pAd/PL-DEST; vị trí attR1: 512-636; vị trí attR2: 2092-2216
31	Polypeptit	PRRSV gp5a
32	Polypeptit	VR2332 PRRSV M (protein nền)
33	Polypeptit	VR2332 PRRSV N (protein nucleocapsit)

Fig.12

SEQ ID #	Loại	Mô tả
34	Polypeptit	ABO40192.1 PRRSV gp2
35	Polypeptit	ACF93748.1 PRRSV gp2
36	Polypeptit	AHA83141.1 PRRSV gp2
37	Polypeptit	CAA01838.1 PRRSV gp2
38	Polypeptit	AAE74522.1 PRRSV gp2
39	Polypeptit	AAB54503.1 PRRSV gp2
40	Polypeptit	AAE68461.1 PRRSV gp3
41	Polypeptit	AAQ51784.1 PRRSV gp3
42	Polypeptit	AAE74530.1 PRRSV gp3
43	Polypeptit	CAA01839.1 PRRSV gp3
44	Polypeptit	ABH73414.1 PRRSV gp3
45	Polypeptit	AAE74526.1 PRRSV gp3
46	Polypeptit	AAE74537.1 PRRSV gp4
47	Polypeptit	AAE74538.1 PRRSV gp4
48	Polypeptit	AAE74533.1 PRRSV gp4
49	Polypeptit	CAA01840.1 PRRSV gp4
50	Polypeptit	ABH73415.1 PRRSV gp4
51	Polypeptit	AAE68462.1 PRRSV gp4
52	Polypeptit	AGX46781.1 PRRSV E
53	Polypeptit	AED17147.1 PRRSV E
54	Polypeptit	AED17148.1 PRRSV E
55	Polypeptit	AGX46783.1 PRRSV E
56	Polypeptit	AED17156.1 PRRSV E
57	Polypeptit	AIS76359.1 PRRSV E
58	Polypeptit	ABU49670.1 PRRSV E
59	Polypeptit	VR2332 PRRSV gp5
60	Polypeptit	CAA01841.1 PRRSV gp5
61	Polypeptit	ADA15222.1 PRRSV gp5
62	Polypeptit	AFS30909.1 PRRSV gp5a
63	Polypeptit	AGK45334.1 PRRSV gp5a
64	Polypeptit	AFU75332.1 PRRSV gp5a
65	Polypeptit	AGW23843.1 PRRSV gp5a
66	Polypeptit	*rtg*-gp5 của VR2332 PRRSV
67	ADN/ARN	*rtg*-gp5 của VR2332 PRRSV
68	Polypeptit	*rtg*-M của VR2332 PRRSV
69	ADN/ARN	*rtg*-M của VR2332 PRRSV

Fig.12 (tiếp theo)

SEQ ID #	Loại	Mô tả
70	ADN/ARN	Gp2 của PRRSV; chủng Lelystad (một phần của Ngân hàng gen M96262.2)
71	Polypeptit	Gp2 của PRRSV; chủng Lelystad
72	ADN/ARN	Gp3 của PRRSV; chủng Lelystad (một phần của Ngân hàng gen M96262.2)
73	Polypeptit	Gp3 của PRRSV; chủng Lelystad
74	ADN/ARN	Gp4 của PRRSV; chủng Lelystad (một phần của Ngân hàng gen M96262.2)
75	Polypeptit	Gp4 của PRRSV; chủng Lelystad
76	ADN/ARN	Gp4 của PRRSV; chủng Lelystad (một phần của Ngân hàng gen M96262.2)
77	Polypeptit	Gp4 của PRRSV; chủng Lelystad
78	ADN/ARN	M của PRRSV; chủng Lelystad (một phần của Ngân hàng gen M96262.2)
79	Polypeptit	M của PRRSV; chủng Lelystad
80	Polypeptit	Gp2 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
81	Polypeptit	Gp2 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
82	Polypeptit	Gp2 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
83	Polypeptit	Gp2 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
84	Polypeptit	Gp2 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
85	Polypeptit	Gp2 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
86	Polypeptit	Gp2 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
87	Polypeptit	Gp2 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
88	Polypeptit	Gp2 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
89	Polypeptit	Gp2 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
90	Polypeptit	Gp3 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
91	Polypeptit	Gp3 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
92	Polypeptit	Gp3 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
93	Polypeptit	Gp3 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
94	Polypeptit	Gp3 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
95	Polypeptit	Gp3 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
96	Polypeptit	Gp3 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
97	Polypeptit	Gp3 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
98	Polypeptit	Gp3 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
99	Polypeptit	Gp3 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
100	Polypeptit	Gp4 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
101	Polypeptit	Gp4 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
102	Polypeptit	Gp4 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
103	Polypeptit	Gp4 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad

Fig.12 (tiếp theo)

SEQ ID #	Loại	Mô tả
104	Polypeptit	Gp4 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
105	Polypeptit	Gp4 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
106	Polypeptit	Gp4 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
107	Polypeptit	Gp4 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
108	Polypeptit	Gp4 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
109	Polypeptit	Gp4 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
110	Polypeptit	Gp5 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
111	Polypeptit	Gp5 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
112	Polypeptit	Gp5 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
113	Polypeptit	Gp5 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
114	Polypeptit	Gp5 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
115	Polypeptit	Gp5 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
116	Polypeptit	Gp5 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
117	Polypeptit	Gp5 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
118	Polypeptit	Gp5 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
119	Polypeptit	Gp5 của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
120	Polypeptit	M của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
121	Polypeptit	M của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
122	Polypeptit	M của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
123	Polypeptit	M của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
124	Polypeptit	M của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
125	Polypeptit	M của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
126	Polypeptit	M của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
127	Polypeptit	M của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
128	Polypeptit	M của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
129	Polypeptit	M của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
130	Polypeptit	E của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
131	Polypeptit	E của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
132	Polypeptit	E của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
133	Polypeptit	E của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
134	Polypeptit	E của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
135	Polypeptit	E của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
136	Polypeptit	E của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
137	Polypeptit	E của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
138	Polypeptit	E của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad
139	Polypeptit	E của PRRSV có liên quan đến chủng Lelystad

Fig.12 (tiếp theo)

Bắt cặp ClustalW của các trình tự polypeptit gp2 của PRRSV

```
34 MKWGLCKAFSTKLANFLWMLSRNFWCPLLISSYFWPFCLASQSQVGWWSSVSDWFAPRYS 60
36 MKWGPYKAFLTKLANFLWMLSRSSWCPLLISLYFWPFCLASPSPVGWWSFASDWFAPRYS 60
35 MKWGLCKASLTKLANFLWMLSRNFWCPLLISSYFWPFCLASPSPVGWWSFASDWFAPRYS 60
38 MQWGPCKAFLTRSVNFLWMLSRSSWCPLLISSYFWPFCLASPLPAGWWSFASDWFAPRYS 60
37 MQWGHCG----VKSASCSWTPSLSSLLVWLILPFSLPYCLGSPSQDGYWSFFSEWFAPRFS 57
39 MQWGHCG----VKSASCSWTPSLSSLLVWLILXFSLPYCLGSPSQDGYWSFFSEWFAPRFS 57
   *:**       .: ..  *  *  .     **  :  *:**.*    *:**  *:*****:*

34 VRALPFTLSNYRRSYEAFLSQCQVDIPTWGTKHPLGMFWHHKVSTLIDEMVSRRMYRIME 120
36 VRALPFTLSNYRRSYEAFLSQCQVDIPTWGTKHPLGMFWHHKVSTLIDEMVSRRMYRIME 120
35 VRALPFTLSNYRRSYEAFLSQCQVDIPTWGFKHPLGMLWHHKVSTLIDEMVSRRMYRTME 120
38 VRALPFTLSNYRRSYEAFLSQCQVDIPAWGTRHPLGMLWHHKVSTLIDEMVSRRMYRIME 120
37 VRALPFTLPNYRRSYEGLLPNCRPDVPQFAVKHPLGMFWHMRVSHLIDEMVSRRIYQTME 117
39 VRALPFTLPNYRRSYEGLLPNCRPDVPQFAVKHPLKMFWHMRVSHLIDEKVSRRIYQTME 117
   ********.*******.:*.:*: *:* :. :**** *:** :** **** ****:*: **

34 KAGQAAWKQVVSEATLSRISSLDVVAHFQHLAAIEAETCKYLASRLPMLHNLRMTGSNVT 180
36 KAGQAAWKQVVSEATLSRISSLDVVAHFQHLAAIEAETCKYLASRLPMLHNLRMTGSNVT 180
35 KAGQAAWKQVVSEATLSRISGLDVVAHFQHLAAIEAETCKYLASRLPMLHNLRMTGSNVT 180
38 KAGQAAWKQVVSEATLSRISGLDVVAHFQHLAAIEAETCKYLASRLPMLHNLRITGSNVT 180
37 HSGQAAWKQVVGEATLTKLSGLDIVTHFQHLAAVEADSCRFLSSRLVMLKNLAVG--NVS 175
39 HSGQAAWKQVVGEATLTKLSGLDIVTHFQHLAAVEADSCRFLSSRLVMLKNLAVG--NVS 175
   ::*********.****:::*.**:*:*******:**:::*::*:*** **:** :   **:

34 IVYNSTLEQVVAIFPTPGSRPKLHDFQQWLIAVHSSIFSSVAASCTLFVVLWLRIPMLRT 240
36 IVYNSTLSQVFAIFPTPGSRPKLHDFQQWLIAVHSSIFSSVAASCTLFVVLWLRVPILHT 240
35 IVYNSTSNQVFAIFPTPGSRPKRHDFQQWLIAVHSSIFSSVAASCTLFVVLWLRIPMLRS 240
38 IVHNSTLNQVFAIFPTPGSRPKLHDFQQWLIAVHSSISSSVAASCTLFVVLWLRMPMLRS 240
37 LQYNTTLDRVELIFPTPGTRPKLTDFRQWLISVHASIFSSVASSVTLFIVLWLRIPALRY 235
39 LQYNTTLDRVELIFPTPGTRPKLTDFRQWLISVHASIFSSVASSVTLFIVLWLRIPALRY 235
   : :*:* .:*  ******:***  **:****:**:** ****:* ***:*****:* *:

34 VFGFHWLGAIFLSNSQ 256
36 VFGFRWLGAIFLSNSQ 256
35 VFGFRWLGAIFLLNSR 256
38 VFGFRWLGAIFPSSSW 256
37 VFGFHWPTATHHSS-- 249
39 VFGFHWPTATHHSS-- 249
   ****:*  * .  .

(34:36) Aligned. Score: 92.97
(34:35) Aligned. Score: 93.75
(34:38) Aligned. Score: 61.85
(34:37) Aligned. Score: 88.67
(34:39) Aligned. Score: 61.04
(36:35) Aligned. Score: 92.58
(36:38) Aligned. Score: 61.45
(36:37) Aligned. Score: 90.23
(36:39) Aligned. Score: 60.64
(35:38) Aligned. Score: 59.84
(35:37) Aligned. Score: 91.02
(35:39) Aligned. Score: 59.44
(38:37) Aligned. Score: 61.85
(38:39) Aligned. Score: 98.80
(37:39) Aligned. Score: 61.04
```

Fig.13

Bắt cặp ClustalW của các trình tự polypeptit gp3 của PRRSV

```
40 MVNSCTFLHIFLCCSFLYSLCCAVVAGSNTTYCFWFPLVRGNFSFELTVNYTVCPPCLTR 60
45 MANSCTFLYIFLCCSFLYSFCCAVVAGSNATYCFWFPLVRGNFSFELTVNYTVCPPCLTR 60
41 MANSCTFLYIFLCCSFLYSFCCAVVAGSNATYCFWFPLVRGNFSFELTVNYTVCPPCLTR 60
42 MANSCTFLHILLCCSFLYSFCCVVVTDANATFCFWFPLVRGNFSFEIMVNYTVCPPCLTR 60
43 MAHQCARFHFFLCGFICYLVHSALASNSSSTLCFWFPLAHGNTSFELTINYTTICMPCSTS 60
44 MAHQCARFHFFLCGFICYFVHSALASNSSSTLCFWFPLAHGNTSFELTINYTVCMPCPTS 60
   *.:.*: ::::**  : * . ..:.:.:.:* ******.:** **** :***:* ** *

40 QAAAEAYEPGRSLWCRIGYDRCGEDDHDELGFMVPSGLSSEGHLTSVYAWLAFLSFSYTA 120
45 QAATEAYEPGRSLWCRIGYDRCGEDDHDELGFVVPSGLSSEGHLTSVYAWLAFLSFSYTA 120
41 QAAAEAYEPGRSLWCRIGHDRCGEDDHDELGFVVPSGLSSEGHLTSAYAWLASLSFSYTA 120
42 QAAAQIYEPNRSLWCRIGNDRCGEDDHDELGFTVPPGLSKEVHLTSVYAWLAFLSFSYTA 120
43 QAARQRLEPGRNMWCKIGHDRCEERDHDELLMSIPSGYG-QLKLEGYYAWLAFLSFSYAA 119
44 QAALQRLEPGRNMWCKIGHDRCEERDQDELLMSIPSGYD-NLKLEGYYAWLAFLSFSYAA 119
   *** :  **.*.:**:** *** * *:*** : :*.* . : :* . ***** *****:*

40 QFHPEIFGIGNVSRVYVDIEHQLICAEHDGQNTTLPRHDNISAVFQTYYQHQVDGGNWFH 180
45 QFHPEIFGIGNVSQVYVDIRHQFICAVHDGQNATLPRHDNISAVFQTYYQHQVDGGNWFH 180
41 QFHPEIFGIGNVSRVYVDIKHQFICAVHDGQNTTLPHHDNISAVLQTYYQHQVDGGNWFH 180
42 QFHPEIFGIGNVSKVYVDINHQLICAVHDGQNTTLPRHDNISAVFQTYYQHQVDGGNWFH 180
43 QFHPELFGIGNVSRVFVDKRHQFICAEHDGHNSTVSTGHNISALYAAYYHHQIDGGNWFH 179
44 QFHPELFGIGNVSRVFVDKWHQFICAEHDGSNSTVSTGHNISALYAAYYHHQIDGGNWFH 179
   *****:*******:*:**  **:*** *** *:*:. .****:  :**:**:*******

40 LEWLRPFFSSWLVLNVSWFLRRSPANHVSVRVLQTLRPTPPQRQALLSSKTSVALGIATR 240
45 LEWLRPFFSSWLVLNVSWFLRRSPASHVSVRVLQTLRPTPPQRQALLSSKTSVALGIATR 240
41 LEWVRPFFSSWLVLNVSWFLRRSPASHVSVRVFQTSRPTPPQRQALLSSKTSVALGIATR 240
42 LEWLRPFFSSWLVLNVSWFLRRSPASHVSVRVFQTSRPTPPRQQISLSSRTSAALGMATR 240
43 LEWLRPLFSSWLVLNISWFLRRSPVSPVSRRIYQILRPTRPRLPVSWSFRTSIVSDLTGS 239
44 LEWLRPFFSSWLVLNISWFLRRSPVSPVSRRIYQILRPTRPQLPVSWSFRTSIVSDLMRS 239
   ***:**:********:********.. ** *: *  *** *:     * :** . .:

40 PLRR--FAKS----------LSAVRR 254
45 PLRR--FAKS----------LSVVRR 254
41 PLRR--FAKS----------LSAARR 254
42 PLRR--FAKS----------LSAARR 254
43 QQRKRKFPSESRPNVVKPSVLPSTSR 265
44 QQRKGKFPSGSRPNAVKPSALPNISR 265
     *:  *..           *.   *
```

```
Sequences (1:2) Aligned. Score: 92.91
Sequences (1:3) Aligned. Score: 87.40
Sequences (1:4) Aligned. Score: 56.30
Sequences (1:5) Aligned. Score: 57.09
Sequences (1:6) Aligned. Score: 94.88
Sequences (2:3) Aligned. Score: 87.80
Sequences (2:4) Aligned. Score: 55.91
Sequences (2:5) Aligned. Score: 56.69
Sequences (2:6) Aligned. Score: 94.49
Sequences (3:4) Aligned. Score: 55.12
Sequences (3:5) Aligned. Score: 55.12
Sequences (3:6) Aligned. Score: 87.40
Sequences (4:5) Aligned. Score: 92.83
Sequences (4:6) Aligned. Score: 56.69
```

Fig.14

```
Sequences (5:6) Aligned. Score: 57.09
```

Bắt cặp ClustalW của các trình tự polypeptit gp4 của PRRSV

```
 47 MAASLLFLMVGFKCLLVSQAFACKPCFSSSLADIKTNTTAAASFAVLQDISCLR-HRNSA 59
 51 MAASLLFLMVGFKCLLVSQAFACKPCFSSSLADIKTNTTAAASFAVLQDISCLR-HRNSA 59
 46 MASSLLFLMVGFKCLLVSQAFACKPCFSSSLADIKTNTTAAASFAVLQDIGCLR-HRDSA 59
 48 MGASLLFLLVGFKCLLVSQAFACKPCFSSSLSDIKTNTTAAAGFAVLQDISCLR-HRNSA 59
 49 MAAATLFFLAGAQHIMVSEAFACKPCFSTHLSDIETNTTAAAGFMVLQDINCFRPHGVSA 60
 50 MAAAILFLLAGAQHIMVSEAFACKPCFSTHLSDIKTNTTAAAGFMVLQDINCFRPHEVSA 60
    *.:: **::.* : ::**:********: *:**:*******.* *****.*:* *  **

 47 SE---AIRKIPQCRTAIGTPMYITITANVTDENYLHSSDLLMLSSCLFYASEMSEKGFEV 116
 51 SE---AIRKIPQCRTAIGTPVYITTTANVTDENYLHSSDLLMLSSCLFYASEMSEKGFKV 116
 46 SE---AIRKIPQCRTAIGTPVYITITANVTDENYLHSSDLLMLSSCLFYASEMSEKGFKV 116
 48 SE---AIRKVPQCRTAIGTPVYITVTANVTDENYLHSSDLLMLSSCLFYASEMSEKGFKV 116
 49 AQEKISFGKSSQCREAVGTPQYITITANVTDESYLYNADLLMLSACLFYASEMSEKGFKV 120
 50 TQREIPFRKSSQCREAVGTPQYITITANVTDESYLYNADLLMLSACLFYASEMSEKGFKV 120
    ::   .: * .*** *:*** *** *******.**:.:******:**************:*

 47 VFGNVSGIVAVCVNFTSYVQHVREFTQR-SLMVDHVRLLHFMTPETMRWATVLACLFAIL 175
 51 VFGNVSGIVAVCVNFTSYVQHVREFTQR-SLMVDHVRLLHFMTPETMRWATVLACLFAIL 175
 46 VFGNVSGIVAVCVNFTSYVQHVREFTQR-SLVVDHVRLLHFMTPETMRWATVLACLFAIL 175
 48 VFGNVSGIVAVCVNFTSYVQHVKEFTQR-SLVVDHVRLLHFMTPETMRWATVLACLFTIL 175
 49 IFGNVSGVVSACVNFTDYVAHVTQHTQQHHLVIDHIRLLHFLTPSAMRWATTIACLFAIL 180
 50 IFGNVSGVVSACVNFTDYVAHVTQHTQQHHLVIDHIRLLHFLTPSTMRWATTIACLFAIL 180
    :******:*:.*****.** ** :.**:  *::**:*****:**.:*****.:****:**

 47 LAI 178
 51 LAI 178
 46 LAI 178
 48 LAI 178
 49 LAI 183
 50 LAI 183
    ***

Sequences (1:2) Aligned. Score: 96.63
Sequences (1:3) Aligned. Score: 93.82
Sequences (1:4) Aligned. Score: 67.42
Sequences (1:5) Aligned. Score: 69.66
Sequences (1:6) Aligned. Score: 97.19
Sequences (2:3) Aligned. Score: 93.82
Sequences (2:4) Aligned. Score: 66.85
Sequences (2:5) Aligned. Score: 69.10
Sequences (2:6) Aligned. Score: 98.31
Sequences (3:4) Aligned. Score: 67.98
Sequences (3:5) Aligned. Score: 70.22
Sequences (3:6) Aligned. Score: 94.94
Sequences (4:5) Aligned. Score: 94.54
Sequences (4:6) Aligned. Score: 66.85
Sequences (5:6) Aligned. Score: 69.10
```

Fig.15

Bắt cặp ClustalW của các trình tự polypeptit E của PRRSV

```
53 MGSIQSLFDKIGQLFVDAFTEFLVSIVDIIIFLAILFGFTIAGWLVVFCIRLVCSAVFRA 60
54 MGSIQSLFDKIGQLFVDAFTEFLVSIVDIIIFLAILFGFTIAGWLVVFCIRLVSSAVFRA 60
52 MGSMQSLFDKIGQLFVDAFTEFLVSIVDIIIFLAILFGFTIAGWLVVFCIRLVCSAILRT 60
55 MGSMQSLFDKIGQLFVDAFTEFLVSIVDIIIFLAILFGFTIAGWLVVFCIRLVCSALRRP 60
57 MGSMQSLFDKIGQLFVDAFTEFLVSIVDIIIFLAILFGFTVAGWLVVFCIRLVFSAVLRA 60
56 MG---SLWSKISQLFVDAFTEFLVSVVDIAIFLAILFGFTVAGWLLVFLLRVVCSALLRS 57
58 MG---SLWSKISQLFVDAFTEFLVSVVDIVIFLAILFGFTVAGGLLVFFLRVVCSAILRS 57
   **    **:.**.*************:*** **********:** *:** :*:* **: *.

53 RPAIHPEQLQKIL 73
54 RPAIHPEQLQKIL 73
52 RPAIHPEQLQKIL 73
55 ---AH-EQLQKIL 69
57 RSTVHPEQLQKIL 73
56 RSAIHSPELSKVL 70
58 RSAIHSPELSKIL 70
       *  :*.*:*
```

```
Sequences (1:2) Aligned. Score: 94.52
Sequences (1:3) Aligned. Score: 93.15
Sequences (1:4) Aligned. Score: 82.61
Sequences (1:5) Aligned. Score: 72.86
Sequences (1:6) Aligned. Score: 90.41
Sequences (1:7) Aligned. Score: 74.29
Sequences (2:3) Aligned. Score: 98.63
Sequences (2:4) Aligned. Score: 81.16
Sequences (2:5) Aligned. Score: 70.00
Sequences (2:6) Aligned. Score: 90.41
Sequences (2:7) Aligned. Score: 70.00
Sequences (3:4) Aligned. Score: 79.71
Sequences (3:5) Aligned. Score: 68.57
Sequences (3:6) Aligned. Score: 90.41
Sequences (3:7) Aligned. Score: 68.57
Sequences (4:5) Aligned. Score: 63.77
Sequences (4:6) Aligned. Score: 89.86
Sequences (4:7) Aligned. Score: 60.87
Sequences (5:6) Aligned. Score: 71.43
Sequences (5:7) Aligned. Score: 92.86
Sequences (6:7) Aligned. Score: 71.43
```

Fig.16

Bắt cặp ClustalW của các trình tự polypeptit gp5a của PRRSV

```
63 MFKYVGELLDRGLLLAIAFFVVYRAVLFYCARQRQRKQQLLLPVDLQLDAM 51
64 MFKYVGEMLDRGLLLAIAFFVVYRAVLFHCARRRQRQQQLSSAIDLQLDAM 51
62 MFKYVGEVLDRVLLLAIAFFVVYRAVLSCCARQRQQQQQLSYSVDL------ 46
65 MFKYVGEMLDRGLLLTIAFFVVYRAVLVCCARQSRKRQQLPLTVDI------ 46
   *******:*** ***:**********  ***: :::***  .:*:
```

```
Sequences (1:2) Aligned. Score: 80.43
Sequences (1:3) Aligned. Score: 80.43
Sequences (1:4) Aligned. Score: 73.91
Sequences (2:3) Aligned. Score: 84.31
Sequences (2:4) Aligned. Score: 76.09
Sequences (3:4) Aligned. Score: 71.74
```

Fig.17

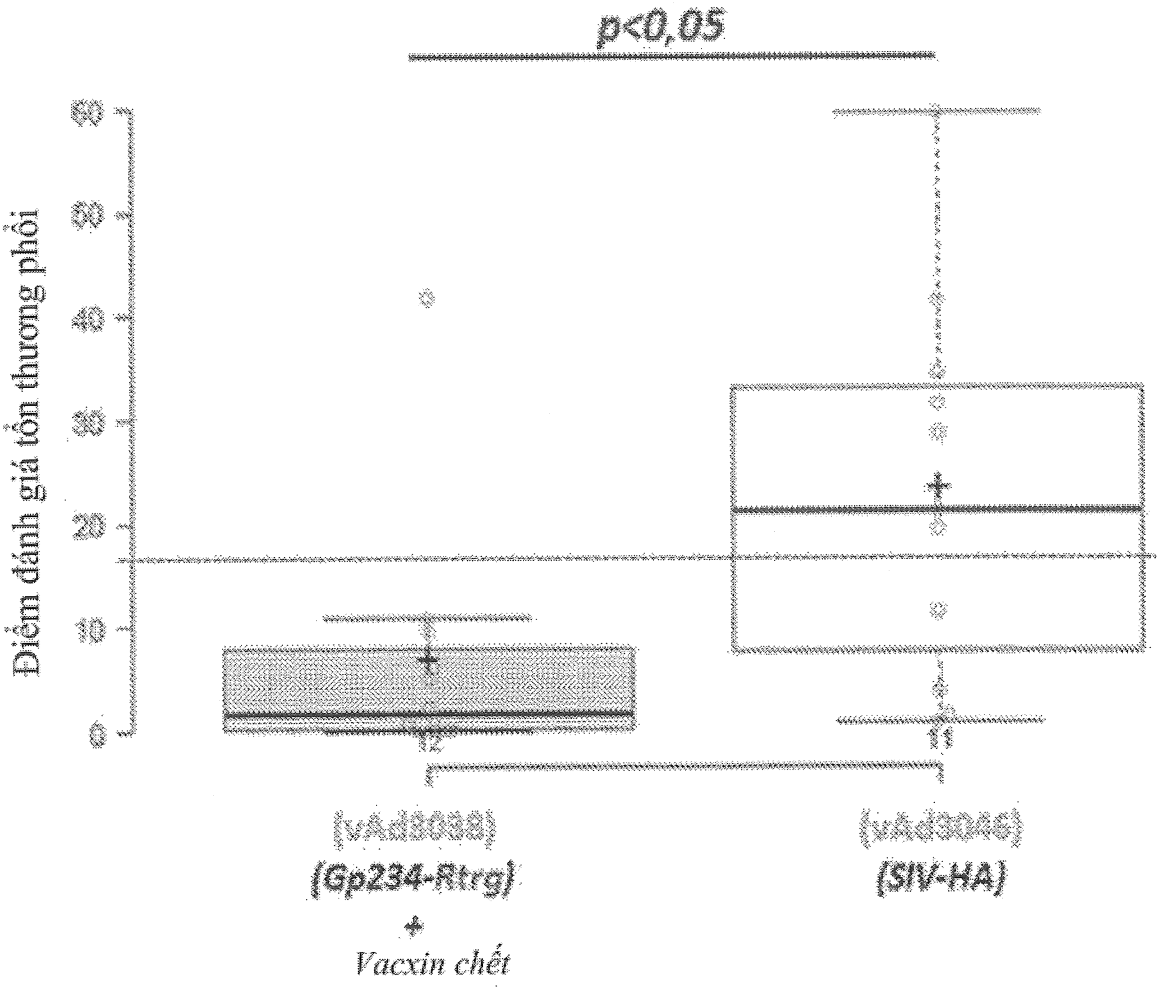

p<0,05
Điểm đánh giá tổn thương phổi
60
50
40
30
20
10
0
(vAd3033)
(Gp234-Rtrg)
+
Vacxin chết
(vAd3046)
(SIV-HA)

Fig.18

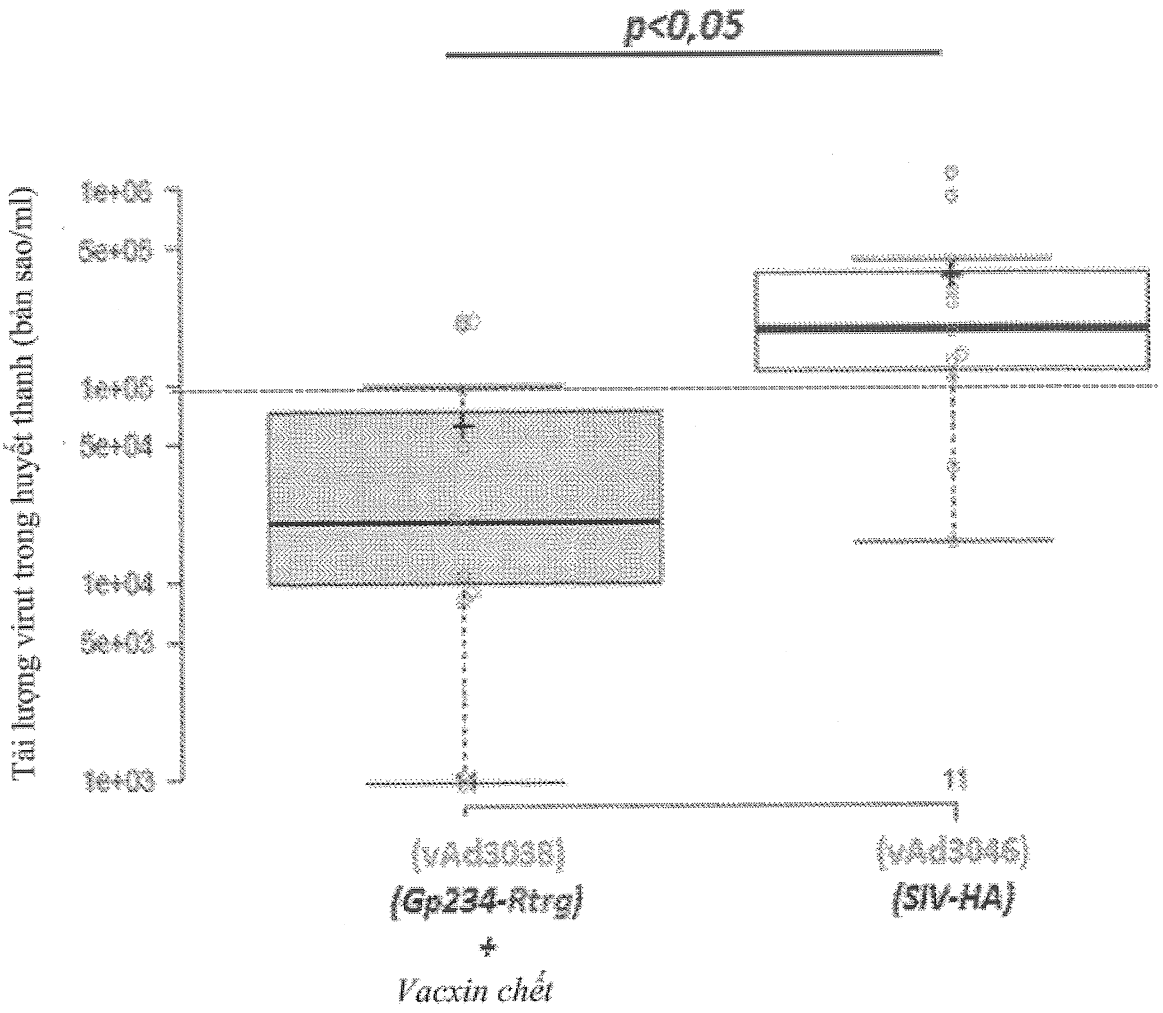

p<0,05
Tải lượng virut trong huyết thanh (bản sao/ml)
1e+06
5e+05
1e+05
5e+04
1e+04
5e+03
1e+03
11
(vAd3038)
(Gp234-Rtrg)
+
Vacxin chết
(vAd3046)
(SIV-HA)

Fig.19

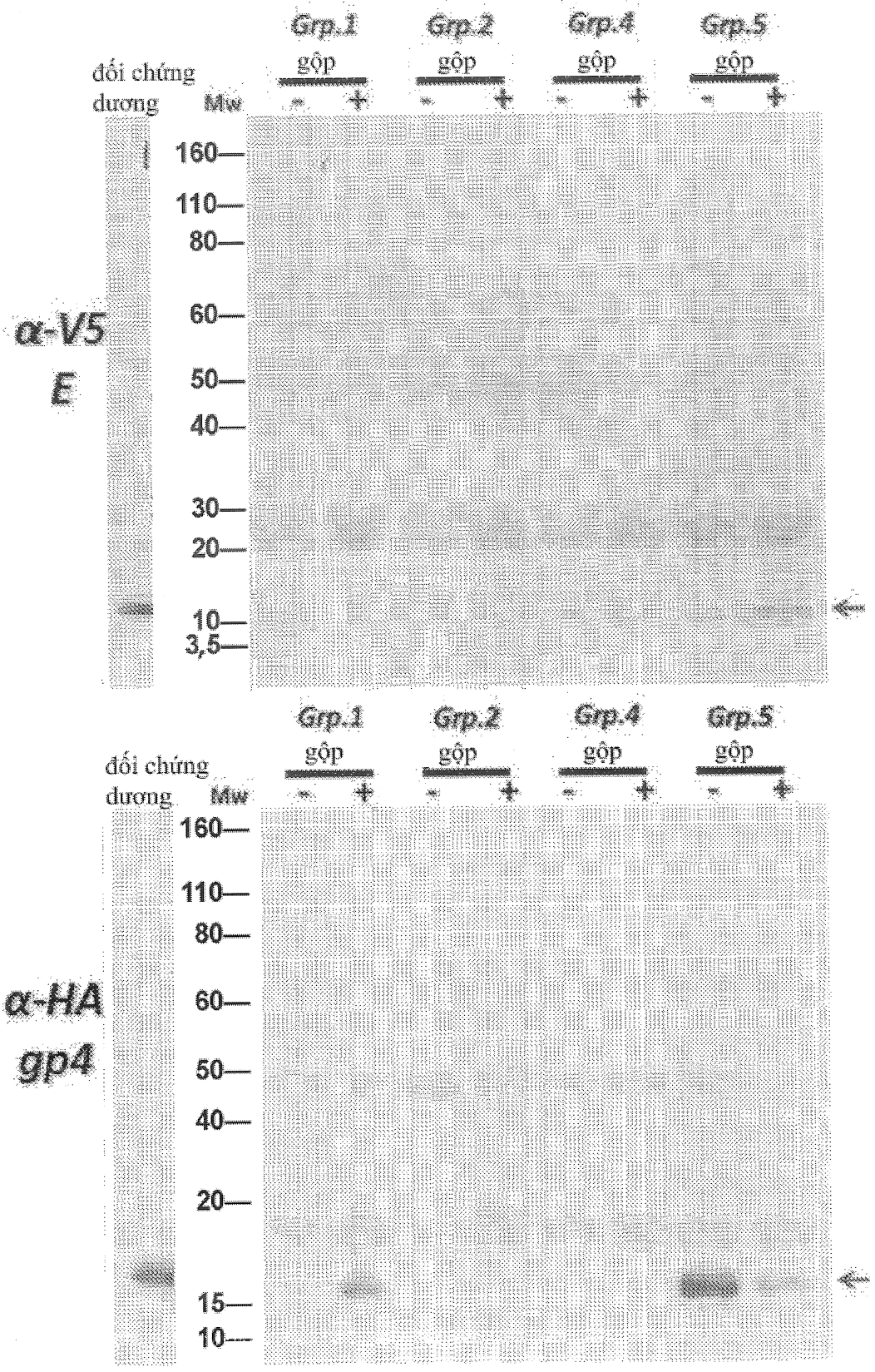
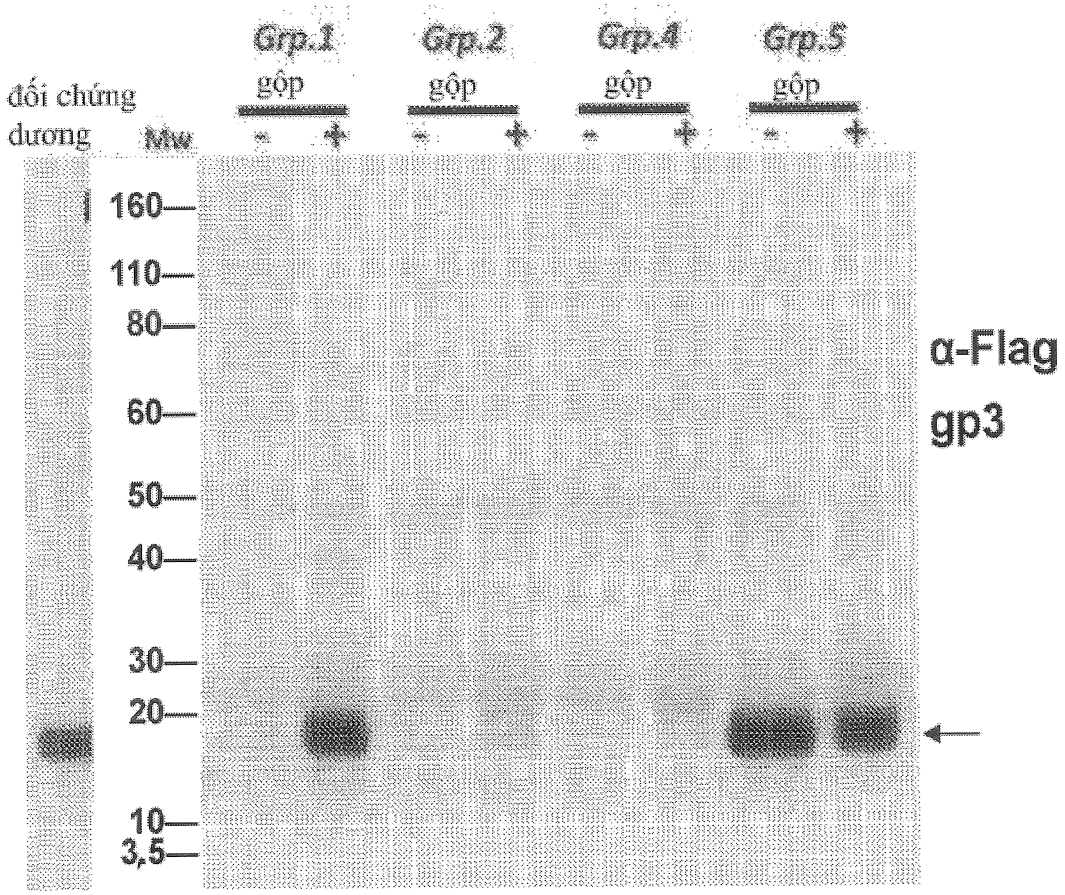

Grp.1
Grp.2
Grp.4
Grp.5
gộp
đối chứng dương
Mw
- +
160
110
80
60
50
40
30
20
10
3,5
α-V5 E
α-HA gp4
15

Fig.20



Grp.1 → Gp234-Rtrg.
Grp.1 → Gp234-Rtrg.
Grp.1 → Gp234-Rtrg.
Grp.1 → Gp234-Rtrg.

- : trước khi gây nhiễm

+ : sau khi gây nhiễm

Dịch tan tế bào (HEK-293T) được đồng chuyển nạp với sgp2, sgp3, sgp4 và E-v5 được kết tủa miễn dịch bằng huyết thanh gộp (50 µl/ml dịch tan) và được dò bằng các kháng thể kháng chất đánh dấu

Fig.20 (tiếp theo)

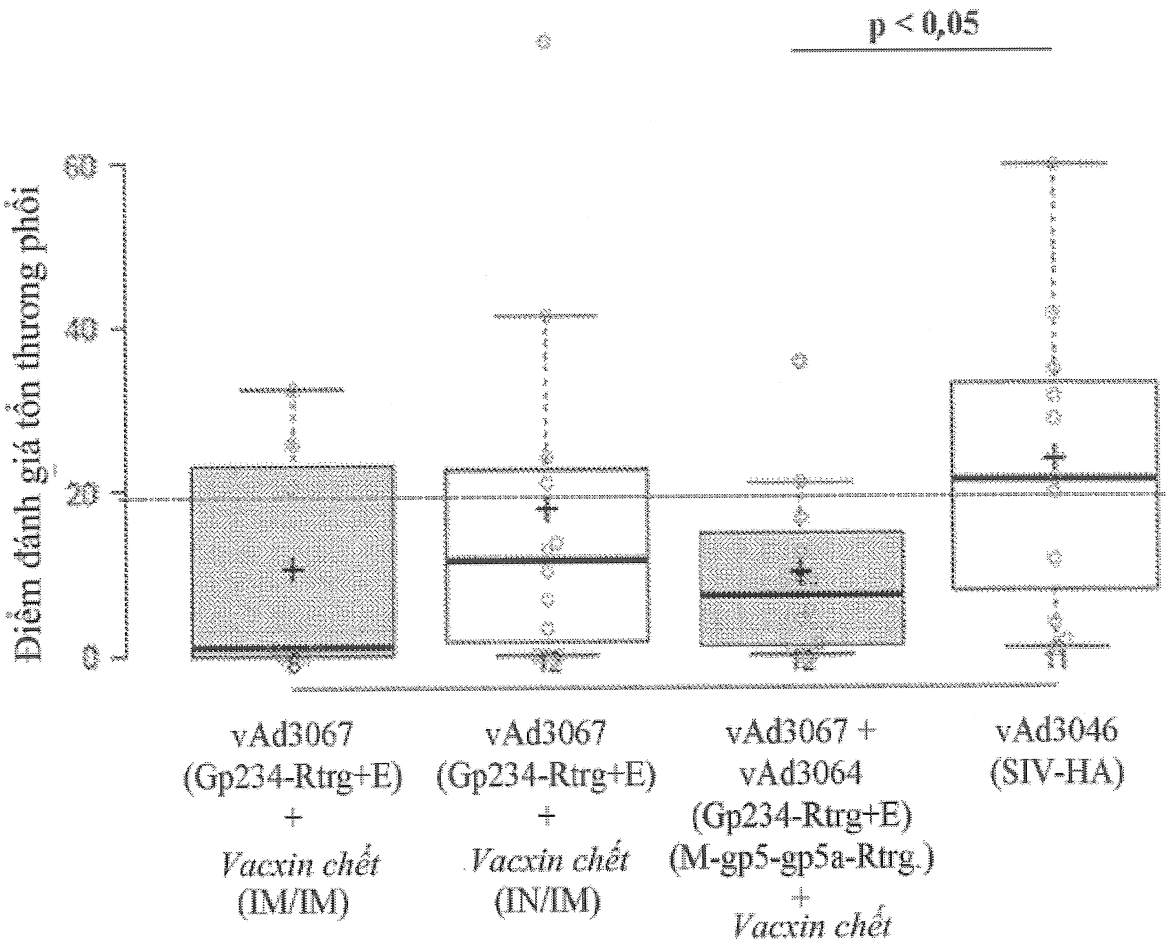

p < 0,05
Điểm đánh giá tổn thương phổi
60
40
20
0
vAd3067 (Gp234-Rtrg+E) + Vacxin chết (IM/IM)
vAd3067 (Gp234-Rtrg+E) + Vacxin chết (IN/IM)
vAd3067 + vAd3064 (Gp234-Rtrg+E) (M-gp5-gp5a-Rtrg.) + Vacxin chết
vAd3046 (SIV-HA)

Fig.21

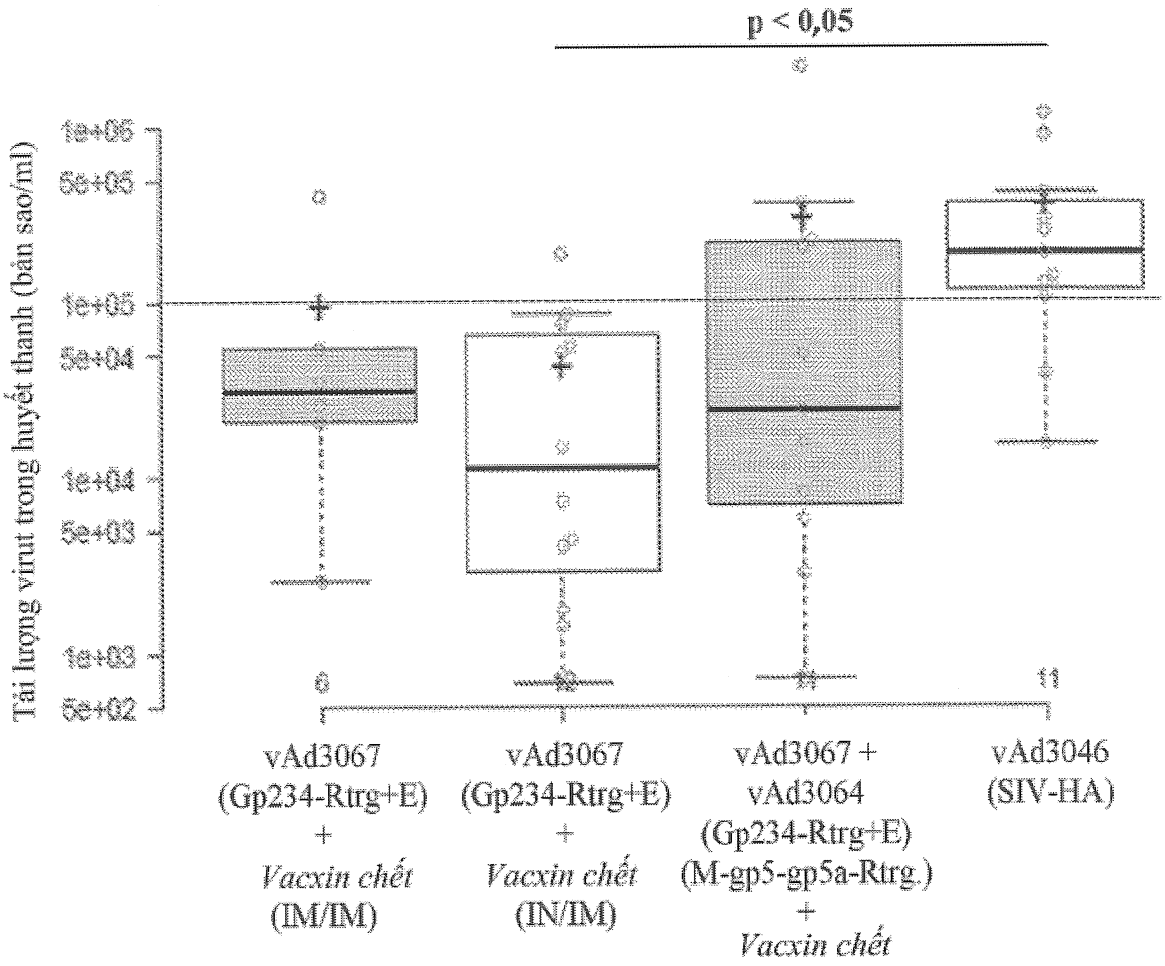

p < 0,05
Tải lượng virut trong huyết thanh (bản sao/ml)
1e+06
5e+05
1e+05
5e+04
1e+04
5e+03
1e+03
5e+02
6
11
vAd3067 (Gp234-Rtrg+E) + Vacxin chết (IM/IM)
vAd3067 (Gp234-Rtrg+E) + Vacxin chết (IN/IM)
vAd3067 + vAd3064 (Gp234-Rtrg+E) (M-gp5-gp5a-Rtrg.) + Vacxin chết
vAd3046 (SIV-HA)

Fig.22

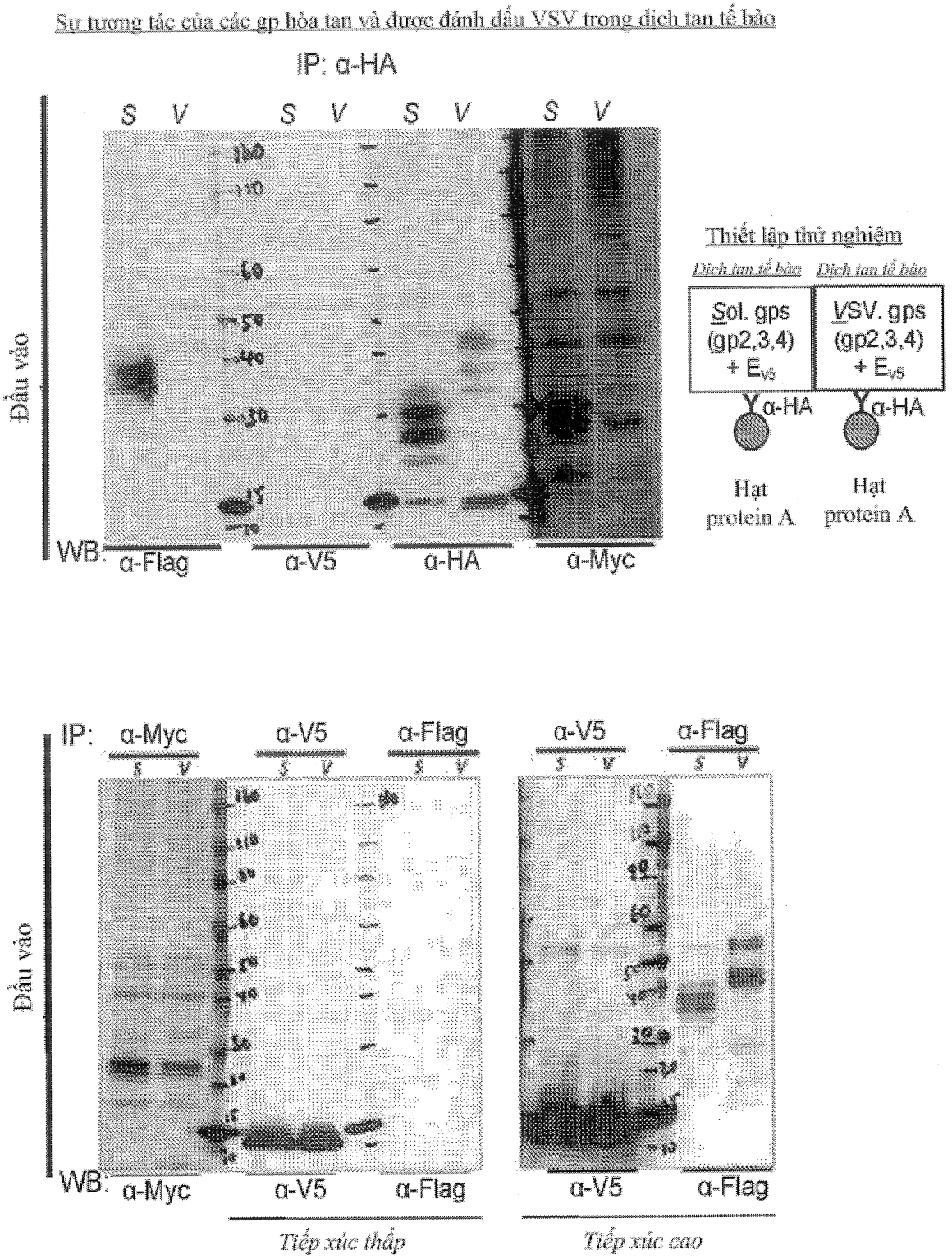

Sự tương tác của các gp hòa tan và được đánh dấu VSV trong dịch tan tế bào
IP: α-HA
S V S V S V S V
Đầu vào
WB:
α-Flag
α-V5
α-HA
α-Myc
Thiết lập thử nghiệm
Dịch tan tế bào
Dịch tan tế bào
Sol. gps (gp2,3,4) + Ev5
VSV. gps (gp2,3,4) + Ev5
α-HA
α-HA
Hạt protein A
Hạt protein A
IP: α-Myc α-V5 α-Flag
α-V5 α-Flag
Đầu vào
WB: α-Myc α-V5 α-Flag
α-V5 α-Flag
Tiếp xúc thấp
Tiếp xúc cao

Fig.23

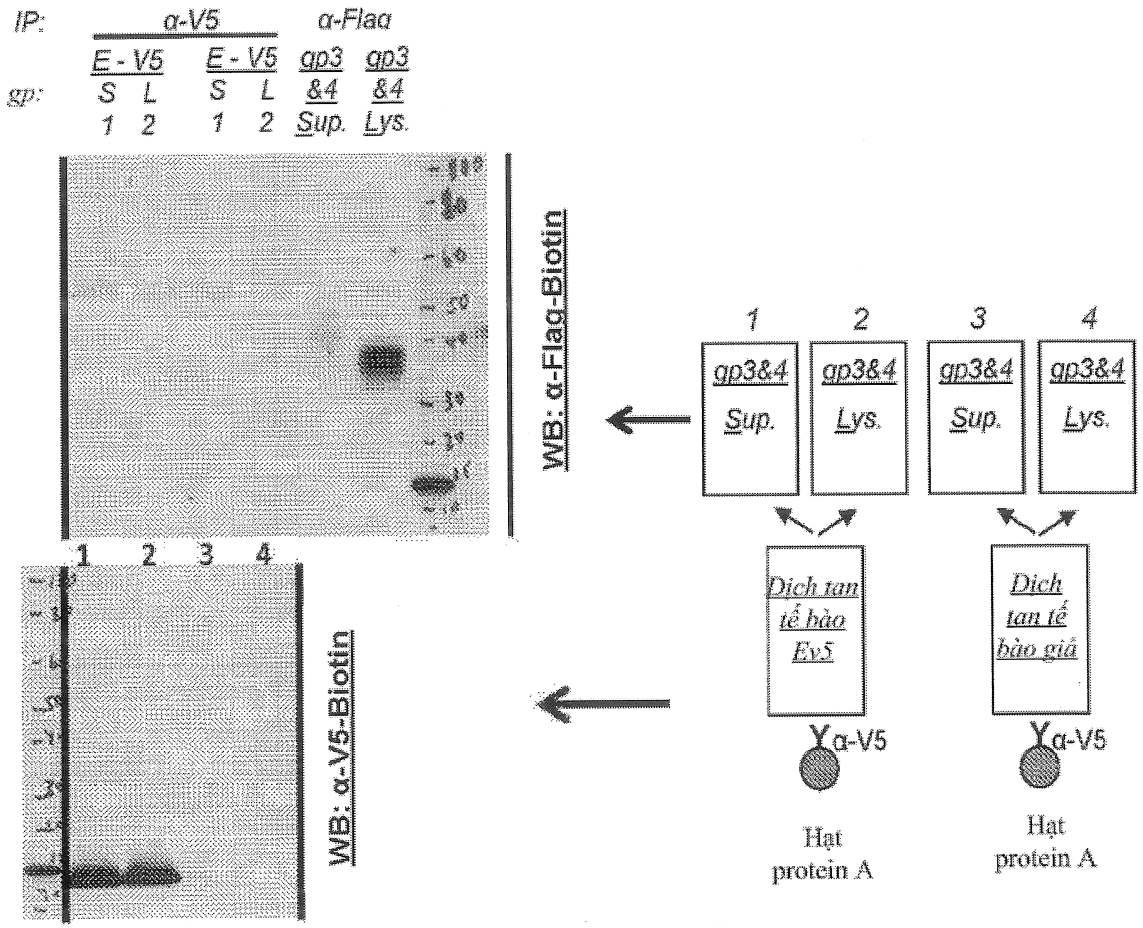

IP:
α-V5
α-Flag
E - V5
E - V5
gp3
gp3
gp:
S
L
S
L
&4
&4
1
2
1
2
Sup.
Lys.
WB: α-Flag-Biotin
1
2
3
4
gp3&4
Sup.
gp3&4
Lys.
gp3&4
Sup.
gp3&4
Lys.
Dịch tan tế bào Ev5
Dịch tan tế bào giả
α-V5
α-V5
Hạt protein A
Hạt protein A
1
2
3
4
WB: α-V5-Biotin

Fig.24

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> MERIAL, INC.
<120> CHẾ PHẨM MIỄN DỊCH VÀ VECTƠ Ad5-PRRSV TÁI TỔ HỢP
<130> MER 15-265
<150> USSN 62/183,410
<151> 2015-06-23
<160> 139
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 256
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> PRRS gp2
<400> 1

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

<210> 2
<211> 768
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VR2332 PRRSV gp2
<400> 2

```
atgaaatggg gtccatgcaa agccttttg acaaaattgg ccaacttttt gtggatgctt       60
tcacggagtt cttggtgtcc attgttgata tcattatatt tttggccatt ttgtttggct      120
tcaccatcgc cggttggctg gtggtctttt gcatcagatt ggtttgctcc gcgatactcc      180
gtacgcgccc tgccattcac tctgagcaat tacagaagat cttatgaggc ctttctttcc      240
cagtgccaag tggacattcc cacctgggga actaaacatc ctttggggat gctttggcac      300
cataaggtgt caaccctgat tgatgaaatg gtgtcgcgtc gaatgtaccg catcatggaa      360
aaagcagggc aggctgcctg gaaacaggtg gtgagcgagg ctacgctgtc tcgcattagt      420
agtttggatg tggtggctca ttttcagcat ctagccgcca ttgaagccga gacctgtaaa      480
tatttggcct cccggctgcc catgctacac aacctgcgca tgacagggtc aaatgtaacc      540
atagtgtata atagcacttt gaatcaggtg tttgctattt ttccaacccc tggttcccgg      600
ccaaagcttc atgattttca gcaatggtta atagctgtac attcctccat attttcctct      660
gttgcagctt cttgtactct ttttgttgtg ctgtggttgc gggttccaat actacgtact      720
gtttttggtt tccgctggtt aggggcaatt tttctttcga actcacag                  768
```

<210> 3
<211> 254
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> PRRSV gp3
<400> 3

```
Met Val Asn Ser Cys Thr Phe Leu His Ile Phe Leu Cys Cys Ser Phe
1               5                  10                  15
Leu Tyr Ser Phe Cys Cys Ala Val Val Ala Gly Ser Asn Thr Thr Tyr
            20                  25                  30
```

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

<210> 4
<211> 762
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VR2332 PRRSV gp3 (12696..13460 của VR2332)
<400> 4

```
atggttaata gctgtacatt cctccatatt ttcctctgtt gcagcttctt gtactctttt      60
tgttgtgctg tggttgcggg ttccaatact acgtactgtt tttggtttcc gctggttagg     120
ggcaattttt ctttcgaact cacagtgaat tacacggtgt gtccaccttg cctcacccgg     180
caagcagcca cagagatcta cgaacccggt aggtctcttt ggtgcaggat agggtatgac     240
cgatgtgggg aggacgatca tgacgagcta gggtttatga taccgcctgg cctctccagc     300
gaaggccact tgactggtgt ttacgcctgg ttggcgttct tgtccttcag ctacacggcc     360
cagttccatc ccgagatatt cgggataggg aatgtgagtc gagtttatgt tgacatcaaa     420
catcaactca tctgcgccga acatgacggg cagaacacca ccttgcctcg tcatgacaac     480
atttcagccg tgtttcagac ctattaccaa catcaagtcg acggcggcaa ttggtttcac     540
ctagaatggc ttcgtccctt cttttcctcg tggttggttt taaatgtctc ttggtttctc     600
aggcgttcgc ctgcaaacca tgtttcagtt cgagtcttgc agatattaag accaacacca     660
ccgcagcggc aagctttgct gtcctccaag acatcagttg ccttaggcat cgcgactcgg     720
cctctgaggc gattcgcaaa atccctcagt gccgtacggc ga                        762
```

<210> 5
<211> 178
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> PRRSV gp4 polypeptit (VR2332)
<400> 5

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

<210> 6

<211> 534
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VR2332 PRRSV gp4 (13241..13777 của VR2332)
<400> 6
atggcttcgt cccttctttt cctcgtggtt ggttttaaat gtctcttggt ttctcaggcg 60
ttcgcctgca aaccatgttt cagttcgagt cttgcagata ttaagaccaa caccaccgca 120
gcggcaagct ttgctgtcct ccaagacatc agttgcctta ggcatcgcga ctcggcctct 180
gaggcgattc gcaaaatccc tcagtgccgt acggcgatag ggacacccgt gtatgttacc 240
atcacagcca atgtgacaga tgagaattat ttacattctt ctgatctcct catgctttct 300
tcttgccttt tctatgcttc tgagatgagt gaaaagggat ttaaggtggt atttggcaat 360
gtgtcaggca tcgtggctgt gtgtgtcaat tttaccagct acgtccaaca tgtcaaggag 420
tttacccaac gctccctggt ggtcgaccat gtgcggttgc tccatttcat gacacctgag 480
accatgaggt gggcaactgt tttagcctgt ctttttgcca ttctgttggc aatt 534
<210> 7
<211> 73
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> PRRSV E polypeptit (VR2332)
<400> 7
Met Gly Ser Met Gln Ser Leu Phe Asp Lys Ile Gly Gln Leu Phe Val
1 5 10 15
Asp Ala Phe Thr Glu Phe Leu Val Ser Ile Val Asp Ile Ile Ile Phe
20 25 30
Leu Ala Ile Leu Phe Gly Phe Thr Ile Ala Gly Trp Leu Val Val Phe
35 40 45
Cys Ile Arg Leu Val Cys Ser Ala Ile Leu Arg Thr Arg Pro Ala Ile
50 55 60
His Ser Glu Gln Leu Gln Lys Ile Leu
65 70
<210> 8
<211> 219
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VR2332 PRRSV E (12078..12299 của VR2332)
<400> 8
atggggtcca tgcaaagcct ttttgacaaa attggccaac tttttgtgga tgctttcacg 60
gagttcttgg tgtccattgt tgatatcatt atatttttgg ccattttgtt tggcttcacc 120
atcgccggtt ggctggtggt cttttgcatc agattggttt gctccgcgat actccgtacg 180
cgccctgcca ttcactctga gcaattacag aagatctta 219
<210> 9
<211> 768
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VR2332 PRRSV gp2 (được tối ưu hóa bộ ba mã hóa)
<400> 9
atgaaatggg gaccctgtaa ggctttcctg actaaactcg caaacttcct ctggatgctc 60
tcacgatctt cctggtgccc tctgctcatc tctctctact tctggccatt ttgcctggcc 120
tccccctctc cagtgggatg gtggtcattc gccagtgact ggtttgctcc ccgatattca 180
gtgcgggctc tcccattcac tctgagcaac taccggcgct cctatgaggc atttctgagc 240
cagtgtcagg tggacatccc aacctggggc acaaagcacc ctctgggaat gctctggcac 300
cataaagtga gtacactgat cgatgagatg gtcagcagga gaatgtacag aattatggaa 360
aaggctggcc aggccgcttg gaaacaggtg gtctctgaag caaccctctc acgaatcagc 420
tccctggacg tggtcgccca cttccagcat ctcgcagcca ttgaggcaga aacatgcaag 480
tacctggcca gccgcctgcc tatgctccat aacctgagga tgactgggtc caatgtgacc 540
atcgtctata actctacact gaatcaggtg ttcgctattt ttcctactcc cggcagcagg 600
cccaaactcc acgatttcca gcagtggctg atcgccgtgc attcttcaat tttcagtagc 660
gtcgctgcat cctgtaccct gtttgtggtc ctgtggctcc gggtgcccat cctccgcaca 720
gtgttcgggt ttcggtggct gggggctatt ttcctctcca actcacag 768
<210> 10
<211> 762
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VR2332 PRRSV gp3 (được tối ưu hóa bộ ba mã hóa)
<400> 10
atggtcaatt cctgtacctt cctccacatc ttcctctgtt gttcattcct ctattccttc 60
tgttgcgctg tcgtcgctgg gtcaaacacc acatactgct tctggtttcc actggtgaga 120
ggaaacttct cctttgagct cacagtcaat tataccgtgt gccctccatg tctgacccga 180
caggcagcta cagaaatcta cgaacctggc aggtctctgt ggtgcagaat tggctatgac 240
cgatgtggag aggacgatca cgatgaactg gggttcatga tccctcccgg cctgagctcc 300
gaaggacatc tcacaggggt ctacgcatgg ctggccttcc tctccttttc ttatactgcc 360
cagttccacc ccgaaatctt cgggattggc aacgtgtcca gggtgtacgt cgacatcaag 420
caccagctga tttgtgccga acatgacggc cagaacacta ccctgcctcg gcatgataat 480
atcagcgccg tgttccagac ctactatcag caccaggtgg atggcggaaa ttggtttcat 540

ctggagtggc tccggccctt cttttcttca tggctggtcc tcaacgtgtc atggttcctg 600
cggcgcagtc ccgccaatca cgtgagcgtc cgggtgctgc agattctccg cccaactcca 660
cctcagaggc aggctctgct cagtagcaaa acctcagtgg cactgggcat cgctacacga 720
cctctcagac ggttcgctaa gtccctctca gcagtcagaa gg 762
<210> 11
<211> 534
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VR2332 PRRSV gp4 (được tối ưu hóa bộ ba mã hóa)
<400> 11
atggcttcat ctctcctctt cctcgtcgtg ggattcaaat gtctgctcgt gtctcaggcc 60
ttcgcttgta aaccctgctt ttccagtagc ctggctgaca tcaagactaa caccacagcc 120
gctgcatcat tcgcagtgct gcaggacatt agttgcctcc gacaccgaga tagtgccagc 180
gaggctatca ggaaaattcc ccagtgtaga acagcaatcg ggactccagt gtacgtcact 240
attaccgcca acgtgacaga cgaaaattat ctgcatagct ccgatctgct catgctgtct 300
tcatgcctct tctacgcttc cgagatgtct gaaaagggct tcaaagtggt ctttggcaac 360
gtctctggaa tcgtggccgt gtgcgtgaat ttcaccagct atgtccagca cgtgaaggag 420
tttacacagc gatccctggt ggtcgatcac gtgcgcctgc tccacttcat gacccctgaa 480
accatgcggt gggctactgt cctcgcctgc ctgttcgcca ttctcctcgc tatt 534
<210> 12
<211> 219
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VR2332 PRRSV E (được tối ưu hóa bộ ba mã hóa)
<400> 12
atggggtcta tgcagtcact gtttgataag attgggcagc tctttgtgga cgcctttacc 60
gagttcctgg tcagcattgt ggacatcatc attttcctgg ccatcctctt cggctttacc 120
attgctggat ggctggtggt cttttgcatc cggctcgtgt gtagcgccat cctcagaaca 180
agacctgcca tccactccga acagctccag aaaatcctc 219
<210> 13
<211> 816
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VR2332 PRRSV rtg-gp2 ADN (được tối ưu hóa bộ ba mã hóa, được hướng đích lại)
<400> 13
atggatgcta tgaaacgggg actctgttgc gtgctgctgc tgtgcggagc cgtctttgtc 60
tcaccttcct caccaagccc tgtcgggtgg tggtcctttg cttctgactg gttcgcacca 120
cgatactccg tgcgggcact gccttttact ctctccaact accggcgctc ttatgaggcc 180
ttcctgtctc agtgccaggt ggacatccct acctggggaa caaagcaccc cctcgggatg 240
ctgtggcacc ataaagtgtc tacactgatc gatgagatgg tctcaaggag aatgtataga 300
attatggaaa aggcaggcca ggccgcttgg aaacaggtgg tctcagaagc caccctgagt 360
cgaatcagct ccctcgatgt ggtcgctcac tttcagcatc tggcagccat tgaggccgaa 420
acctgtaagt acctcgctag ccgcctcccc atgctgcaca acctcaggat gactggcagt 480
aatgtgacca tcgtctataa cagcacactg aatcaggtgt ttgctatttt ccccactcca 540
ggaagcaggc caaagctgca tgacttccag ggcggaagcg agcagaaact gatctccgag 600
gaggacctgg gaggatcagg aggaagtgga ggatccgagc tggtggaagg gtggttttct 660
tcatggaaga gtagcatcgc ctccttcttt ttcatcattg ggctgatcat tggcctgttc 720
ctcgtgctgc gggtcggaat ccatctgtgc atcaagctga aacatacaaa gaaacgacag 780
atttacactg acattgagat gaatagactg ggcaaa 816
<210> 14
<211> 272
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VR2332 PRRSV rtg-gp2 polypeptit (gp2-myc-VSV)
<400> 14

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

```
Asn Val Thr Ile Val Tyr Asn Ser Thr Leu Asn Gln Val Phe Ala Ile
                165                 170                 175
Phe Pro Thr Pro Gly Ser Arg Pro Lys Leu His Asp Phe Gln Gly Gly
            180                 185                 190
Ser Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Gly Ser Gly Gly
        195                 200                 205
Ser Gly Gly Ser Glu Leu Val Glu Gly Trp Phe Ser Ser Trp Lys Ser
    210                 215                 220
Ser Ile Ala Ser Phe Phe Phe Ile Ile Gly Leu Ile Ile Gly Leu Phe
225                 230                 235                 240
Leu Val Leu Arg Val Gly Ile His Leu Cys Ile Lys Leu Lys His Thr
                245                 250                 255
Lys Lys Arg Gln Ile Tyr Thr Asp Ile Glu Met Asn Arg Leu Gly Lys
            260                 265                 270
```

<210> 15
<211> 759
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VR2332 PRRSV rtg-gp3 ADN (được tối ưu hóa bộ ba mã hóa, được hướng đích lại)
<400> 15

```
atggatgcta tgaaacgggg gctctgctgc gtcctcctcc tgtgcggggc tgtcttcgtc       60
tcaccctcct caaatacaac ctactgcttt tggttcccac tcgtgagagg caactttagc      120
ttcgagctga ctgtgaatta caccgtctgc cctccatgtc tgacccgaca ggccgctgca      180
gaaatctacg aacctggacg gtccctgtgg tgccgcattg ggtatgacag gtgtgaggaa      240
gacgatcacg atgagctggg ctttatggtg cctcctggac tcagctccga aggacatctg      300
acatcagtct acgcctggct cgcttttctg tccttctctt atactgctca gtttcacccc      360
gaaatcttcg gaattgggaa cgtgtctcgg gtgtacgtcg acatcaagca ccagctcatt      420
tgcgcagaac atgacggcca gaacaccaca ctgccaaggc acgataatat ctccgccgtg      480
ttccagacat actatcagca tcaggtcgac ggcggagggg gctctgatta taaggacgat      540
gacgataaag gagggtcagg cggaagtggg ggatccgagc tggtggaagg ctggttttct      600
tcatggaaga gtagcatcgc cagcttcttt ttcatcattg gcctcatcat tggactgttc      660
ctcgtgctgc gcgtcggaat ccacctgtgc atcaagctga agcatactaa gaagcggcag      720
atttacaccg acattgagat gaacagactg gggaaatga                              759
```

<210> 16
<211> 252
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VR2332 PRRSV rtg-gp3 polypeptit (gp3-Flag-VSV)
<400> 16

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

<210> 17
<211> 714
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VR2332 PRRSV rtg-gp4 ADN (được tối ưu hóa bộ ba mã hóa, được hướng đích lại)

<400> 17
atggatgcta tgaaacgggg actgtgctgc gtgctgctgc tctgtggggc tgtcttcgtg 60
tcaccttctt gtaaaccttg cttttccagc tccctggctg acatcaagac taacaccaca 120
gccgctgcat cttttgcagt gctccaggac atttcatgcc tgcgacaccg agatagcgcc 180
tccgaggcta tcaggaaaat tcctcagtgt agaacagcaa tcggcactcc cgtgtacgtc 240
actattaccg ccaacgtgac agacgaaaat tatctgcatt ctagcgacct gctcatgctc 300
agtagctgcc tgttctacgc ctctgagatg tcagaaaagg gctttaaagt ggtcttcggg 360
aacgtgagcg gcatcgtggc cgtgtgcgtg aacttcacca gctatgtcca gcacgtgaag 420
gagttcacac agcgatccct ggtggtcgat cacgtccgcc tgctccatgg cggatcttac 480
ccctatgacg tgccagatta cgcaggagga agtggaggaa gcggaggatc cgagctggtg 540
gaaggatggt tttcctcttg gaagtcaagt atcgccagct tctttttcat cattggactc 600
atcattgggc tgttcctcgt cctgcgggtg ggaatccatc tgtgcatcaa gctgaagcat 660
acaaagaagc ggcagattta cactgacatt gagatgaata gactgggcaa atga 714
<210> 18
<211> 237
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VR2332 PRRSV rtg-gp4 polypeptit (gp4-HA-VSV)
<400> 18
Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15
Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Cys Lys Pro Cys Phe Ser Ser Ser Leu
20 25 30
Ala Asp Ile Lys Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Ser Phe Ala Val Leu
35 40 45
Gln Asp Ile Ser Cys Leu Arg His Arg Asp Ser Ala Ser Glu Ala Ile
50 55 60
Arg Lys Ile Pro Gln Cys Arg Thr Ala Ile Gly Thr Pro Val Tyr Val
65 70 75 80
Thr Ile Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Asn Tyr Leu His Ser Ser Asp
85 90 95
Leu Leu Met Leu Ser Ser Cys Leu Phe Tyr Ala Ser Glu Met Ser Glu
100 105 110
Lys Gly Phe Lys Val Val Phe Gly Asn Val Ser Gly Ile Val Ala Val
115 120 125
Cys Val Asn Phe Thr Ser Tyr Val Gln His Val Lys Glu Phe Thr Gln
130 135 140
Arg Ser Leu Val Val Asp His Val Arg Leu Leu His Gly Gly Ser Tyr
145 150 155 160
Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
165 170 175
Ser Glu Leu Val Glu Gly Trp Phe Ser Ser Trp Lys Ser Ser Ile Ala
180 185 190
Ser Phe Phe Phe Ile Ile Gly Leu Ile Ile Gly Leu Phe Leu Val Leu
195 200 205
Arg Val Gly Ile His Leu Cys Ile Lys Leu Lys His Thr Lys Lys Arg
210 215 220
Gln Ile Tyr Thr Asp Ile Glu Met Asn Arg Leu Gly Lys
225 230 235
<210> 19
<211> 10
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Duy trì vị trí cho: VR2332 PRRSV rtg-E (được tối ưu hóa bộ ba mã hóa, được hướng đích lại)
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (1)..(10)
<223> n là a, c, g, t hoặc u
<400> 19
nnnnnnnnnn 10
<210> 20
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Duy trì vị trí cho: VR2332 PRRSV rtg-E polypeptit
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (1)..(10)
<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên
<400> 20
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10
<210> 21
<211> 4566
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Băng cài xen vAD3038
<400> 21
aaataatgat tttattttga ctgatagtga cctgttcgtt gcaacacatt gatgagcaat 60
gctttttat aatgccaact ttgtacaaaa aagcaggtcg actctagagg atccgaaaaa 120
acctcccaca cctccccctg aacctgaaac ataaaatgaa tgcaattgtt gttgttaact 180
tgtttattgc agcttataat ggttacaaat aaagcaatag catcacaaat ttcacaaata 240
aagcattttt ttcactgcat tctagttgtg gtttgtccaa actcatcaat gtatcttatc 300
atgtctggat ccccaagctt ctcgagaccg gttcatttgc ccagtctatt catctcaatg 360
tcagtgtaaa tctgtcgttt ctttgtatgt ttcagcttga tgcacagatg gattccgacc 420
cgcagcacga ggaacaggcc aatgatcagc ccaatgatga aaaagaagga ggcgatgcta 480
ctcttccatg aagaaaacca cccttccacc agctcggatc ctccacttcc tcctgatcct 540
cccaggtcct cctcggagat cagtttctgc tcgcttccgc cctggaagtc atgcagcttt 600
ggcctgcttc ctggagtggg gaaaatagca aacacctgat tcagtgtgct gttatagacg 660
atggtcacat tactgccagt catcctgagg ttgtgcagca tggggaggcg gctagcgagg 720
tacttacagg tttcggcctc aatggctgcc agatgctgaa agtgagcgac cacatcgagg 780
gagctgattc gactcagggt ggcttctgag accacctgtt tccaagcggc ctggcctgcc 840
ttttccataa ttctatacat tctccttgag accatctcat cgatcagtgt agacacttta 900
tggtgccaca gcatcccgag ggggtgcttt gttccccagg tagggatgtc cacctggcac 960
tgagacagga aggcctcata agagcgccgg tagttggaga gagtaaaagg cagtgcccgc 1020
acggagtatc gtggtgcgaa ccagtcagaa gcaaaggacc accacccgac agggcttggt 1080
gaggaaggtg agacaaagac ggctccgcac agcagcagca cgcaacagag tccccgtttc 1140
atagcatcca tggtttaatt aaagcttttt gcaaaagcct aggcctccaa aaaagcctcc 1200
tcactacttc tggaatagct cagaggccga ggcggcctcg gcctctgcat aaataaaaaa 1260
aattagtcag ccatggggcg gagaatgggc ggaactgggc ggagttaggg gcgggatggg 1320
cggagttagg ggcgggacta tggttgctga ctaattgaga tgcatgcttt gcatacttct 1380
gcctgctggg gagcctgggg actttccaca cctggttgct gactaattga gatgcatgct 1440
ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg ggactttcca caccctaact gacacacatt 1500
ccacagccaa gctgtaccga gctcgaattc gctagcatcg atgcggccgc gttgacattg 1560
attattgact agttattaat agtaatcaat tacggggtca ttagttcata gcccatatat 1620
ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgcct ggctgaccgc ccaacgaccc 1680
ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag ggactttcca 1740
ttgacgtcaa tgggtggact atttacggta aactgcccac ttggcagtac atcaagtgta 1800
tcatatgcca agtacgcccc ctattgacgt caatgacggt aaatggcccg cctggcatta 1860
tgcccagtac atgaccttat gggactttcc tacttggcag tacatctacg tattagtcat 1920
cgctattacc atggtgatgc ggttttggca gtacatcaat gggcgtggat agcggtttga 1980
ctcacgggga tttccaagtc tccaccccat tgacgtcaat gggagtttgt tttggcacca 2040
aaatcaacgg gactttccaa aatgtcgtaa caactccgcc ccattgacgc aaatgggcgg 2100
taggcgtgta cggtgggagg tctatataag cagagctctc tagaaccatg gatgctatga 2160
aacggggact gtgctgcgtg ctgctgctct gtggggctgt cttcgtgtca ccttcttgta 2220
aaccttgctt ttccagctcc ctggctgaca tcaagactaa caccacagcc gctgcatctt 2280
ttgcagtgct ccaggacatt tcatgcctgc gacaccgaga tagcgcctcc gaggctatca 2340
ggaaaattcc tcagtgtaga acagcaatcg gcactcccgt gtacgtcact attaccgcca 2400
acgtgacaga cgaaaattat ctgcattcta gcgacctgct catgctcagt agctgcctgt 2460
tctacgcctc tgagatgtca gaaaagggct ttaaagtggt cttcgggaac gtgagcggca 2520
tcgtggccgt gtgcgtgaac ttcaccagct atgtccagca cgtgaaggag ttcacacagc 2580
gatccctggt ggtcgatcac gtccgcctgc tccatggcgg atcttacccc tatgacgtgc 2640
cagattacgc aggaggaagt ggaggaagcg gaggatccga gctggtggaa ggatggtttt 2700
cctcttggaa gtcaagtatc gccagcttct ttttcatcat tggactcatc attgggctgt 2760
tcctcgtcct gcgggtggga atccatctgt gcatcaagct gaagcataca aagaagcggc 2820
agatttacac tgacattgag atgaatagac tgggcaaatg atgacccccc cccctaacgt 2880
tactggccga agccgcttgg aataaggccg gtgtgcgttt gtctatatgt tattttccac 2940
catattgccg tcttttggca atgtgagggc ccggaaacct ggccctgtct tcttgacgag 3000
cattcctagg ggtctttccc ctctcgccaa aggaatgcaa ggtctgttga atgtcgtgaa 3060
ggaagcagtt cctctggaag cttcttgaag acaaacaacg tctgtagcga ccctttgcag 3120
gcagcggaac ccccacctg gcgacaggtg cctctgcggc caaaagccac gtgtataaga 3180
tacacctgca aaggcggcac aaccccagtg ccacgttgtg agttggatag ttgtggaaag 3240
agtcaaatgg ctctcctcaa gcgtattcaa caaggggctg aaggatgccc agaaggtacc 3300
ccattgtatg ggatctgatc tggggcctcg gtgcacatgc tttacatgtg tttagtcgag 3360
gttaaaaaac gtctaggccc cccgaaccac ggggacgtgg ttttcctttg aaaaacacga 3420
tgataatacc atggatgcta tgaaacgggg gctctgctgc gtcctcctcc tgtgcggggc 3480
tgtcttcgtc tcaccctcct caaatacaac ctactgcttt tggttcccac tcgtgagagg 3540
caactttagc ttcgagctga ctgtgaatta caccgtctgc cctccatgtc tgacccgaca 3600
ggccgctgca gaaatctacg aacctggacg gtccctgtgg tgccgcattg ggtatgacag 3660
gtgtgaggaa gacgatcacg atgagctggg ctttatggtg cctcctggac tcagctccga 3720
aggacatctg acatcagtct acgcctggct cgcttttctg tccttctctt atactgctca 3780
gtttcacccc gaaatcttcg gaattgggaa cgtgtctcgg gtgtacgtcg acatcaagca 3840
ccagctcatt tgcgcagaac atgacggcca gaacaccaca ctgccaaggc acgataatat 3900
ctccgccgtg ttccagacat actatcagca tcaggtcgac ggcggagggg gctctgatta 3960
taaggacgat gacgataaag gagggtcagg cggaagtggg ggatccgagc tggtggaagg 4020
ctggttttct tcatggaaga gtagcatcgc cagcttcttt ttcatcattg gcctcatcat 4080
tggactgttc ctcgtgctgc gcgtcggaat ccacctgtgc atcaagctga agcatactaa 4140
gaagcggcag atttacaccg acattgagat gaacagactg gggaaatgat gaggtaccgg 4200
gggaggctaa ctgaaacacg gaaggagaca ataccggaag gaacccgcgc tatgacggca 4260
ataaaaagac agaataaaac gcacgggtgt tgggtcgttt gttcataaac gcggggttcg 4320
gtcccagggc tggcactctg tcgatacccc accgagaccc cattggggcc aatacgcccg 4380
cgtttcttcc ttttccccac cccacccccc aagttcgggt gaaggcccag ggctcgcagc 4440
caacgtcggg gcggcaggcc ctgccatagc cagctttctt gtacaaagtt ggcattataa 4500

gaaagcattg cttatcaatt tgttgcaacg aacaggtcac tatcagtcaa aataaaatca 4560
ttattt 4566
<210> 22
<211> 4662
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Băng gen chuyển pAD3041
<400> 22
aaataatgat tttattttga ctgatagtga cctgttcgtt gcaacacatt gatgagcaat 60
gctttttat aatgccaact ttgtacaaaa aagcaggtcg actctagagg atccgaaaaa 120
acctcccaca cctccccctg aacctgaaac ataaaatgaa tgcaattgtt gttgttaact 180
tgtttattgc agcttataat ggttacaaat aaagcaatag catcacaaat ttcacaaata 240
aagcattttt ttcactgcat tctagttgtg gtttgtccaa actcatcaat gtatcttatc 300
atgtctggat ccccaagctt ctcgagaccg gtcctgcagg tcagaggatt ttctggagct 360
gttcggagtg gatggcaggt cttgttctga ggatggcgct acacacgagc cggatgcaaa 420
agaccaccag ccatccagca atggtaaagc cgaagaggat ggccaggaaa atgatgatgt 480
ccacaatgct gaccaggaac tcggtaaagg cgtccacaaa gagctgccca atcttatcaa 540
acagtgactg catagacccc atggtggagg tccagggttc tcctccacgt ctccagcctg 600
cttcagcagg ctgaagttag tagctccgct tcccctgcag gtcactgtga gttggagagg 660
aaaatagccc ccagccaccg aaacccgaac actgtgcgga ggatgggcac ccggagccac 720
aggaccacaa acagggtaca ggatgcagcg acgctactga aaattgaaga atgcacggcg 780
atcagccact gctggaaatc gtggagtttg ggcctgctgc cgggagtagg aaaaatagcg 840
aacacctgat tcagtgtaga gttatagacg atggtcacat tggacccagt catcctcagg 900
ttatggagca taggcaggcg gctggccagg tacttgcatg tttctgcctc aatggctgcg 960
agatgctgga agtgggcgac cacgtccagg gagctgattc gtgagagggt tgcttcagag 1020
accacctgtt tccaagcggc ctggccagcc ttttccataa ttctgtacat tctcctgctg 1080
accatctcat cgatcagtgt actcacttta tggtgccaga gcattcccag agggtgcttt 1140
gtgccccagg ttgggatgtc cacctgacac tggctcagaa atgcctcata ggagcgccgg 1200
tagttgctca gagtgaatgg gagagcccgc actgaatatc ggggagcaaa ccagtcactg 1260
gcgaatgacc accatcccac tggagagggg gaggccaggc aaaatggcca gaagtagaga 1320
gagatgagca gagggcacca ggaagatcgt gagagcatcc agaggaagtt tgcgagttta 1380
gtcaggaaag ccttacaggg tccccatttc atggtggagc tttttgcaaa agcctaggcc 1440
tccaaaaaag cctcctcact acttctggaa tagctcagag gccgaggcgg cctcggcctc 1500
tgcataaata aaaaaaatta gtcagccatg gggcggagaa tgggcggaac tgggcggagt 1560
taggggcggg atgggcggag ttaggggcgg gactatggtt gctgactaat tgagatgcat 1620
gctttgcata cttctgcctg ctggggagcc tggggacttt ccacacctgg ttgctgacta 1680
attgagatgc atgctttgca tacttctgcc tgctggggag cctggggact ttccacaccc 1740
taactgacac acattccaca gccaagctgt accgagctcg aattcgctag catcgatgcg 1800
gccgcgttga cattgattat tgactagtta ttaatagtaa tcaattacgg ggtcattagt 1860
tcatagccca tatatggagt tccgcgttac ataacttacg gtaaatggcc cgcctggctg 1920
accgcccaac gacccccgcc cattgacgtc aataatgacg tatgttccca tagtaacgcc 1980
aatagggact ttccattgac gtcaatgggt ggactattta cggtaaactg cccacttggc 2040
agtacatcaa gtgtatcata tgccaagtac gccccctatt gacgtcaatg acggtaaatg 2100
gcccgcctgg cattatgccc agtacatgac cttatgggac tttcctactt ggcagtacat 2160
ctacgtatta gtcatcgcta ttaccatggt gatgcggttt tggcagtaca tcaatgggcg 2220
tggatagcgg tttgactcac ggggatttcc aagtctccac cccattgacg tcaatgggag 2280
tttgttttgg caccaaaatc aacgggactt tccaaaatgt cgtaacaact ccgccccatt 2340
gacgcaaatg ggcggtaggc gtgtacggtg ggaggtctat ataagcagag ctctctagaa 2400
ccaccatggc ttcatctctc ctcttcctcg tcgtgggatt caaatgtctg ctcgtgtctc 2460
aggccttcgc ttgtaaaccc tgcttttcca gtagcctggc tgacatcaag actaacacca 2520
cagccgctgc atcattcgca gtgctgcagg acattagttg cctccgacac cgagatagtg 2580
ccagcgaggc tatcaggaaa attccccagt gtagaacagc aatcgggact ccagtgtacg 2640
tcactattac cgccaacgtg acagacgaaa attatctgca tagctccgat ctgctcatgc 2700
tgtcttcatg cctcttctac gcttccgaga tgtctgaaaa gggcttcaaa gtggtctttg 2760
gcaacgtctc tggaatcgtg gccgtgtgcg tgaatttcac cagctatgtc cagcacgtga 2820
aggagtttac acagcgatcc ctggtggtcg atcacgtgcg cctgctccac ttcatgaccc 2880
ctgaaaccat gcggtgggct actgtcctcg cctgcctgtt cgccattctc ctcgctattt 2940
gaagatctcc ccccccccta acgttactgg ccgaagccgc ttggaataag gccggtgtgc 3000
gtttgtctat atgttatttt ccaccatatt gccgtctttt ggcaatgtga gggcccggaa 3060
acctggccct gtcttcttga cgagcattcc taggggtctt tcccctctcg ccaaaggaat 3120
gcaaggtctg ttgaatgtcg tgaaggaagc agttcctctg gaagcttctt gaagacaaac 3180
aacgtctgta gcgacccttt gcaggcagcg gaaccccca cctggcgaca ggtgcctctg 3240
cggccaaaag ccacgtgtat aagatacacc tgcaaaggcg gcacaacccc agtgccacgt 3300
tgtgagttgg atagttgtgg aaagagtcaa atggctctcc tcaagcgtat tcaacaaggg 3360
gctgaaggat gcccagaagg taccccattg tatgggatct gatctggggc ctcggtgcac 3420
atgctttaca tgtgtttagt cgaggttaaa aaacgtctag gccccccgaa ccacggggac 3480
gtggttttcc tttgaaaaac acgatgataa taccaccatg gtcaattcct gtaccttcct 3540
ccacatcttc ctctgttgtt cattcctcta ttccttctgt tgcgctgtcg tcgctgggtc 3600
aaacaccaca tactgcttct ggtttccact ggtgagagga aacttctcct ttgagctcac 3660
agtcaattat accgtgtgcc ctccatgtct gacccgacag gcagctacag aaatctacga 3720
acctggcagg tctctgtggt gcagaattgg ctatgaccga tgtggagagg acgatcacga 3780
tgaactgggg ttcatgatcc ctcccggcct gagctccgaa ggacatctca caggggtcta 3840
cgcatggctg gccttcctct ccttttctta tactgcccag ttccaccccg aaatcttcgg 3900
gattggcaac gtgtccaggg tgtacgtcga catcaagcac cagctgattt gtgccgaaca 3960
tgacggccag aacactaccc tgcctcggca tgataatatc agcgccgtgt tccagaccta 4020
ctatcagcac caggtggatg gcggaaattg gtttcatctg gagtggctcc ggcccttctt 4080
ttcttcatgg ctggtcctca acgtgtcatg gttcctgcgg cgcagtcccg ccaatcacgt 4140
gagcgtccgg gtgctgcaga ttctccgccc aactccacct cagaggcagg ctctgctcag 4200

tagcaaaacc tcagtggcac tgggcatcgc tacacgacct ctcagacggt tcgctaagtc 4260
cctctcagca gtcagaaggt gaagatctgg taccggggga ggctaactga aacacggaag 4320
gagacaatac cggaaggaac ccgcgctatg acggcaataa aaagacagaa taaaacgcac 4380
gggtgttggg tcgtttgttc ataaacgcgg ggttcggtcc cagggctggc actctgtcga 4440
taccccaccg agaccccatt ggggccaata cgcccgcgtt tcttcctttt ccccacccca 4500
ccccccaagt tcgggtgaag gcccagggct cgcagccaac gtcggggcgg caggccctgc 4560
catagccagc tttcttgtac aaagttggca ttataagaaa gcattgctta tcaatttgtt 4620
gcaacgaaca ggtcactatc agtcaaaata aaatcattat tt 4662

<210> 23
<211> 4361
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Băng gen chuyển vAD3042
<400> 23

aaataatgat tttattttga ctgatagtga cctgttcgtt gcaacacatt gatgagcaat 60
gctttttttat aatgccaact ttgtacaaaa aagcaggtcg actctagagg atccgaaaaa 120
acctcccaca cctccccctg aacctgaaac ataaaatgaa tgcaattgtt gttgttaact 180
tgtttattgc agcttataat ggttacaaat aaagcaatag catcacaaat ttcacaaata 240
aagcattttt ttcactgcat tctagttgtg gtttgtccaa actcatcaat gtatcttatc 300
atgtctggat ccccaagctt ctcgagaccg gtcctgcagg tcactgtgag ttggagagga 360
aaatagcccc cagccaccga aacccgaaca ctgtgcggag gatgggcacc cggagccaca 420
ggaccacaaa cagggtacag gatgcagcga cgctactgaa aattgaagaa tgcacggcga 480
tcagccactg ctggaaatcg tggagtttgg gcctgctgcc gggagtagga aaaatagcga 540
acacctgatt cagtgtagag ttatagacga tggtcacatt ggacccagtc atcctcaggt 600
tatggagcat aggcaggcgg ctggccaggt acttgcatgt ttctgcctca atggctgcga 660
gatgctggaa gtgggcgacc acgtccaggg agctgattcg tgagagggtt gcttcagaga 720
ccacctgttt ccaagcggcc tggccagcct tttccataat tctgtacatt ctcctgctga 780
ccatctcatc gatcagtgta ctcactttat ggtgccagag cattcccaga gggtgctttg 840
tgccccaggt tgggatgtcc acctgacact ggctcagaaa tgcctcatag gagcgccggt 900
agttgctcag agtgaatggg agagcccgca ctgaatatcg gggagcaaac cagtcactgg 960
cgaatgacca ccatcccact ggagaggggg aggccaggca aaatggccag aagtagagag 1020
agatgagcag agggcaccag gaagatcgtg agagcatcca gaggaagttt gcgagtttag 1080
tcaggaaagc cttacagggt ccccatttca tggtggagct ttttgcaaaa gcctaggcct 1140
ccaaaaaagc ctcctcacta cttctggaat agctcagagg ccgaggcggc ctcggcctct 1200
gcataaataa aaaaaattag tcagccatgg ggcggagaat gggcggaact gggcggagtt 1260
aggggcggga tgggcggagt taggggcggg actatggttg ctgactaatt gagatgcatg 1320
ctttgcatac ttctgcctgc tggggagcct ggggactttc cacacctggt tgctgactaa 1380
ttgagatgca tgctttgcat acttctgcct gctggggagc ctggggactt tccacaccct 1440
aactgacaca cattccacag ccaagctgta ccgagctcga attcgctagc atcgatgcgg 1500
ccgcgttgac attgattatt gactagttat taatagtaat caattacggg gtcattagtt 1560
catagcccat atatggagtt ccgcgttaca taacttacgg taaatggccc gcctggctga 1620
ccgcccaacg acccccgccc attgacgtca ataatgacgt atgttcccat agtaacgcca 1680
atagggactt tccattgacg tcaatgggtg gactatttac ggtaaactgc ccacttggca 1740
gtacatcaag tgtatcatat gccaagtacg ccccctattg acgtcaatga cggtaaatgg 1800
cccgcctggc attatgccca gtacatgacc ttatgggact ttcctacttg gcagtacatc 1860
tacgtattag tcatcgctat taccatggtg atgcggtttt ggcagtacat caatgggcgt 1920
ggatagcggt ttgactcacg gggatttcca agtctccacc ccattgacgt caatgggagt 1980
ttgttttggc accaaaatca acgggacttt ccaaaatgtc gtaacaactc cgccccattg 2040
acgcaaatgg gcggtaggcg tgtacggtgg gaggtctata taagcagagc tctctagaac 2100
caccatggct tcatctctcc tcttcctcgt cgtgggattc aaatgtctgc tcgtgtctca 2160
ggccttcgct tgtaaaccct gcttttccag tagcctggct gacatcaaga ctaacaccac 2220
agccgctgca tcattcgcag tgctgcagga cattagttgc ctccgacacc gagatagtgc 2280
cagcgaggct atcaggaaaa ttccccagtg tagaacagca atcgggactc cagtgtacgt 2340
cactattacc gccaacgtga cagacgaaaa ttatctgcat agctccgatc tgctcatgct 2400
gtcttcatgc ctcttctacg cttccgagat gtctgaaaag ggcttcaaag tggtctttgg 2460
caacgtctct ggaatcgtgg ccgtgtgcgt gaatttcacc agctatgtcc agcacgtgaa 2520
ggagtttaca cagcgatccc tggtggtcga tcacgtgcgc ctgctccact tcatgacccc 2580
tgaaaccatg cggtgggcta ctgtcctcgc ctgcctgttc gccattctcc tcgctatttg 2640
aagatctccc ccccccctaa cgttactggc cgaagccgct tggaataagg ccggtgtgcg 2700
tttgtctata tgttattttc caccatattg ccgtcttttg gcaatgtgag ggcccggaaa 2760
cctggccctg tcttcttgac gagcattcct aggggtcttt cccctctcgc caaaggaatg 2820
caaggtctgt tgaatgtcgt gaaggaagca gttcctctgg aagcttcttg aagacaaaca 2880
acgtctgtag cgacccttttg caggcagcgg aacccccccac ctggcgacag gtgcctctgc 2940
ggccaaaagc cacgtgtata agatacacct gcaaaggcgg cacaacccca gtgccacgtt 3000
gtgagttgga tagttgtgga aagagtcaaa tggctctcct caagcgtatt caacaagggg 3060
ctgaaggatg cccagaaggt accccattgt atgggatctg atctggggcc tcggtgcaca 3120
tgctttacat gtgttagtc gaggttaaaa aacgtctagg cccccgaac cacggggacg 3180
tggttttcct ttgaaaaaca cgatgataat accaccatgg tcaattcctg taccttcctc 3240
cacatcttcc tctgttgttc attcctctat tccttctgtt gcgctgtcgt cgctgggtca 3300
aacaccacat actgcttctg gtttccactg gtgagaggaa acttctcctt tgagctcaca 3360
gtcaattata ccgtgtgccc tccatgtctg acccgacagg cagctacaga aatctacgaa 3420
cctggcaggt ctctgtggtg cagaattggc tatgaccgat gtggagagga cgatcacgat 3480
gaactggggt tcatgatccc tcccggcctg agctccgaag gacatctcac aggggtctac 3540
gcatggctgg ccttcctctc cttttcttat actgcccagt tccaccccga aatcttcggg 3600
attggcaacg tgtccagggt gtacgtcgac atcaagcacc agctgatttg tgccgaacat 3660
gacggccaga acactaccct gcctcggcat gataatatca gcgccgtgtt ccagacctac 3720
tatcagcacc aggtggatgg cggaaattgg tttcatctgg agtggctccg gcccttcttt 3780
tcttcatggc tggtcctcaa cgtgtcatgg ttcctgcggc gcagtcccgc caatcacgtg 3840

agcgtccggg tgctgcagat tctccgccca actccacctc agaggcaggc tctgctcagt 3900
agcaaaacct cagtggcact gggcatcgct acacgacctc tcagacggtt cgctaagtcc 3960
ctctcagcag tcagaaggtg aagatctggt accgggggag gctaactgaa acacggaagg 4020
agacaatacc ggaaggaacc cgcgctatga cggcaataaa aagacagaat aaaacgcacg 4080
ggtgttgggt cgtttgttca taaacgcggg gttcggtccc agggctggca ctctgtcgat 4140
accccaccga gaccccattg gggccaatac gcccgcgttt cttccttttc cccaccccac 4200
cccccaagtt cgggtgaagg cccagggctc gcagccaacg tcggggcggc aggccctgcc 4260
atagccagct ttcttgtaca aagttggcat tataagaaag cattgcttat caatttgttg 4320
caacgaacag gtcactatca gtcaaaataa aatcattatt t 4361

<210> 24
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Duy trì vị trí cho: đoạn xen tái tổ hợp trước vAD-rtg-gp234-E
<400> 24
Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn
1 5 10

<210> 25
<211> 10
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Duy trì vị trí cho: đoạn xen tái tổ hợp trước vAD3033
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (1)..(10)
<223> n là a, c, g, t hoặc u
<400> 25
nnnnnnnnnn 10

<210> 26
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> đoạn mồi xuôi pAd5
<400> 26
gactttgacc gtttacgtgg agac 24

<210> 27
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> đoạn mồi ngược pAd5
<400> 27
ccttaagcca cgcccacaca tttc 24

<210> 28
<211> 15411
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Trình tự VR2332, PRRSV Typ II nguyên vẹn
<400> 28
atgacgtata ggtgttggct ctatgccttg gcatttgtat tgtcaggagc tgtgaccatt 60
ggcacagccc aaaacttgct gcacagaaac acccttctgt gatagcctcc ttcaggggag 120
cttagggttt gtccctagca ccttgcttcc ggagttgcac tgctttacgg tctctccacc 180
cctttaacca tgtctgggat acttgatcgg tgcacgtgta cccccaatgc cagggtgttt 240
atggcggagg gccaagtcta ctgcacacga tgcctcagtg cacggtctct ccttcccctg 300
aacctccaag tttctgagct cggggtgcta ggcctattct acaggcccga agagccactc 360
cggtggacgt tgccacgtgc attccccact gttgagtgct cccccgccgg ggcctgctgg 420
ctttctgcaa tctttccaat cgcacgaatg accagtggaa acctgaactt ccaacaaaga 480
atggtacggg tcgcagctga gctttacaga gccggccagc tcacccctgc agtcttgaag 540
gctctacaag tttatgaacg gggttgccgc tggtacccca ttgttggacc tgtccctgga 600
gtggccgttt tcgccaattc cctacatgtg agtgataaac ctttcccggg agcaactcac 660
gtgttgacca acctgccgct cccgcagaga cccaagcctg aagacttttg ccccctttgag 720
tgtgctatgg ctactgtcta tgacattggt catgacgccg tcatgtatgt ggccgaaagg 780
aaagtctcct gggcccctcg tggcggggat gaagtgaaat ttgaagctgt ccccggggag 840
ttgaagttga ttgcgaaccg gctccgcacc tccttcccgc cccaccacac agtggacatg 900
tctaagttcg ccttcacagc ccctgggtgt ggtgtttcta tgcgggtcga acgccaacac 960
ggctgccttc ccgctgacac tgtccctgaa ggcaactgct ggtggagctt gtttgacttg 1020
cttccactgg aagttcagaa caaagaaatt cgccatgcta accaatttgg ctaccagacc 1080
aagcatggtg tctctggcaa gtacctacag cggaggctgc aagttaatgg tctccgagca 1140
gtaactgacc taaacggacc tatcgtcgta cagtacttct ccgttaagga gagttggatc 1200
cgccatttga aactggcggg agaacccagc tactctgggt ttgaggacct cctcagaata 1260
agggttgagc ctaacacgtc gccattggct gacaaggaag aaaaaatttt ccggtttggc 1320
agtcacaagt ggtacggcgc tggaaagaga gcaagaaaag cacgctcttg tgcgactgct 1380
acagtcgctg gccgcgcttt gtccgttcgt gaaacccggc aggccaagga gcacgaggtt 1440
gccggcgcca acaaggctga gcacctcaaa cactactccc cgcctgccga agggaattgt 1500
ggttggcact gcatttccgc catcgccaac cggatggtga attccaaatt tgaaaccacc 1560

```
cttcccgaaa gagtgagacc tccagatgac tgggctactg acgaggatct tgtgaatgcc    1620
atccaaatcc tcagactccc tgcggcctta gacaggaacg gtgcttgtac tagcgccaag    1680
tacgtactta agctggaagg tgagcattgg actgtcactg tgacccctgg gatgtcccct    1740
tctttgctcc ctcttgaatg tgttcagggc tgttgtgggc acaagggcgg tcttggttcc    1800
ccagatgcag tcgaggtctc cggatttgac cctgcctgcc ttgaccggct ggctgaggtg    1860
atgcacctgc ctagcagtgc tatcccagcc gctctggccg aaatgtctgg cgattccgat    1920
cgttcggctt ctccggtcac caccgtgtgg actgtttcgc agttctttgc ccgtcacagc    1980
ggagggaatc accctgacca agtgcgctta gggaaaatta tcagcctttg tcaggtgatt    2040
gaggactgct gctgttccca gaacaaaacc aaccgggtca ccccggagga ggtcgcagca    2100
aagattgacc tgtacctccg tggtgcaaca aatcttgaag aatgcttggc caggcttgag    2160
aaagcgcgcc cgccacgcgt aatcgacacc tcctttgatt gggatgttgt gctccctggg    2220
gttgaggcgg caacccagac gatcaagctg ccccaggtca accagtgtcg tgctctggtc    2280
cctgttgtga ctcaaaagtc cttggacaac aactcggtcc ccctgaccgc cttttcactg    2340
gctaactact actaccgtgc gcaaggtgac gaagttcgtc accgtgaaag actaaccgcc    2400
gtgctctcca agttggaaaa ggttgttcga gaagaatatg ggctcatgcc aaccgagcct    2460
ggtccacggc ccacactgcc acgcgggctc gacgaactca aagaccagat ggaggaggac    2520
ttgctgaaac tggctaacgc ccagacgact tcggacatga tggcctgggc agtcgagcag    2580
gttgacctaa aaacttgggt caagaactac ccgcggtgga caccaccacc ccctccgcca    2640
aaagttcagc ctcgaaaaac gaagcctgtc aagagcttgc cggagagaaa gcctgtcccc    2700
gccccgcgca ggaaggttgg gtccgattgt ggcagcccgg tttcattagg cggcgatgtc    2760
cctaacagtt gggaagattt ggctgttagt agccccttg atctcccgac cccacctgag    2820
ccggcaacac cttcaagtga gctggtgatt gtgtcctcac cgcaatgcat cttcaggccg    2880
gcgacaccct tgagtgagcc ggctccaatt cccgcacctc gcggaactgt gtctcgaccg    2940
gtgacaccct tgagtgagcc gatccctgtg cccgcaccgc ggcgtaagtt tcagcaggtg    3000
aaaagattga gttcggcggc ggcaatccca ccgtaccagg acgagcccct ggatttgtct    3060
gcttcctcac agactgaata tgaggcctct cccccagcac cgccgcagag cgggggcgtt    3120
ctgggagtag aggggcatga agctgaggaa accctgagtg aaatctcgga catgtcgggt    3180
aacattaaac ctgcgtccgt gtcatcaagc agctccttgt ccagcgtgag aatcacacgc    3240
ccaaaatact cagctcaagc catcatcgac tcgggcgggc cctgcagtgg gcatctccaa    3300
gaggtaaagg aaacatgcct tagtgtcatg cgcgaggcat gtgatgcgac taagcttgat    3360
gaccctgcta cgcaggaatg gctttctcgc atgtgggatc gggtggacat gctgacttgg    3420
cgcaacacgt ctgtttacca ggcgatttgc accttagatg gcaggttaaa gttcctccca    3480
aaaatgatac tcgagacacc gccgccctat ccgtgtgagt ttgtgatgat gcctcacacg    3540
cctgcacctt ccgtaggtgc ggagagcgac cttaccattg gctcagttgc tactgaagat    3600
gttccacgca tcctcgagaa aatagaaaat gtcggcgaga tggccaacca gggacccttg    3660
gccttctccg aggataaacc ggtagatgac caacttgtca acgacccccg gatatcgtcg    3720
cggaggcctg acgagagcac atcagctccg tccgcaggca caggtggcgc cggctctttt    3780
accgatttgc cgccttcaga tggcgcggat gcggacgggg gggggccgtt tcggacggta    3840
aaaagaaaag ctgaaaggct ctttgaccaa ctgagccgtc aggtttttga cctcgtctcc    3900
catctccctg ttttcttctc acgccttttc taccctggcg gtggttattc tccgggtgat    3960
tggggttttg cagcttttac tctattgtgc ctcttttttat gttacagtta cccagccttt    4020
ggtattgctc ccctcttggg tgtgttttct gggtcttctc ggcgcgttcg aatgggggtt    4080
tttggctgct ggttggcttt tgctgttggt ctgttcaagc ctgtgtccga cccagtcggc    4140
gctgcttgtg agtttgactc gccagagtgt agaaacatcc ttcattcttt tgagcttctc    4200
aaaccttggg accctgttcg cagccttgtt gtgggccccg tcggtctcgg tcttgccatt    4260
cttggcaggt tactgggcgg ggcacgctgc atctggcact ttttgcttag gcttggcatt    4320
gttgcagact gtatcttggc tggagcttac gtgctttctc aaggtaggtg taaaaagtgc    4380
tggggatctt gtataagaac tgctcctaat gaggtcgctt ttaacgtgtt tcctttcaca    4440
cgtgcgacca ggtcgtcact tatcgacctg tgcgatcggt tttgtgcgcc aaaaggaatg    4500
gaccccattt ttctcgccac tgggtggcgc gggtgctggg ccggccgaag ccccattgag    4560
caacctctg aaaaacccat cgcgtttgcc caattggatg aaaagaagat tacggctagg    4620
actgtggtcg cccagcctta tgaccccaac caagccgtaa agtgcttgcg ggtattgcag    4680
tcgggtgggg cgatggtggc taaggcggtc ccaaaagtgg tcaaggtttc cgctgttcca    4740
ttccgagccc ccttctttcc cactggagtg aaagttgacc ctgattgcag ggtcgtggtt    4800
gaccctgaca ctttcactgc agctctccgg tctggctact ccaccacaaa cctcgtcctt    4860
ggtgtagggg actttgccca gctgaatgga ttaaaaatca ggcaaatttc caagccttca    4920
gggggaggcc cacatctcat ggctgccctg catgttgcct gctcgatggc tctgcacatg    4980
cttgctggga tttatgtgac tgcggtgggt tcttgcggca ccggcaccaa cgacccgtgg    5040
tgcgctaacc cgtttgccgt ccctggctac ggacctggct ctctctgcac gtccaggttg    5100
tgcatttccc aacacggcct taccctgccc ttgacagcac ttgtggcggg attcggtatt    5160
caagaaattg ccttggtcgt tttgattttt gtttccatcg gaggcatggc tcataggttg    5220
agctgtaagg ctgacatgct gtgtgttttg cttgcaattg ccagctatgt ttgggtacct    5280
cttacctggt tgctttgtgt gtttccttgc tggttgcgct gtttttcttt gcacccccctc    5340
accatcctat ggttggtgtt tttcttgatt tctgtgaata tgccttcagg aatcttggcc    5400
atggtgttgt tggtttctct ttggcttctt ggtcgttata ctaatgttgc tggccttgtc    5460
acccctacg acattcatca ttacaccagt ggcccccgcg gtgttgccgc cttggctacc    5520
gcaccagatg ggacctactt ggccgctgtc cgccgcgctg cgttgactgg ccgcaccatg    5580
ctgtttaccc cgtcccagct tgggtctctt cttgagggtg ctttcagaac tcgaaagccc    5640
tcactgaaca ccgtcaatgt gatcgggtcc tccatgggct ctggcggggt gtttaccatc    5700
gacgggaaag tcaagtgcgt aactgccgca catgtcctta cgggcaattc agctcgggtt    5760
tccggggtcg gcttcaatca aatgcttgac tttgacgtaa agggagattt cgctatagct    5820
gattgcccga attggcaagg ggctgccccc aagacccaat tctgcacgga tggatggact    5880
ggccgtgcct attggctaac atcctctggc gtcgaacccg gcgtcattgg aaaaggattc    5940
gccttctgct tcaccgcatg tggcgattcc gggtccccag tgatcaccga ggccggtgag    6000
cttgtcggcg ttcacacggg atcgaataaa caaggggggg gcattgttac gcgcccctca    6060
ggccagtttt gtaatgtggc acccatcaag ctaagcgaat taagtgaatt ctttgctggg    6120
cctaaggtcc cgctcggtga tgtgaaggtc ggcagccaca taattaaaga cataagcgag    6180
gtgccttcag atctttgtgc cttgcttgct gccaaacctg aactggaagg aggcctctcc    6240
accgtccaac ttctttgtgt gtttttttctc ctgtggagaa tgatgggaca tgcctggacg    6300
```

```
cccttggttg ctgtgagttt ctttattttg aatgaggttc tcccagccgt cctggtccgg     6360
agtgttttct cctttggaat gtttgtgcta tcctggctca cgccatggtc tgcgcaagtt     6420
ctgatgatca ggcttctgac agcagctctt aacaggaaca gatggtcact tgccttttc      6480
agcctcggtg cagtgaccgg ttttgtcgca gatcttgcgg ccactcaggg gcatccgttg     6540
caggcagtga tgaatttgag cacctatgca ttcctgcctc ggatgatggt tgtgacctca     6600
ccagtcccag tgatcacgtg tggtgtcgtg cacctacttg ccatcatttt gtacttgttt     6660
aagtaccgtg gcccgcacca tatccttgtt ggcgatggag tgttctctgc ggctttcttc     6720
ttgagatact ttgccgaggg aaagttgagg gaaggggtgt cgcaatcctg cggaatgaat     6780
catgagtctc tgactggtgc cctcgctatg agactcaatg acgaggactt ggatttcctt     6840
atgaaatgga ctgattttaa gtgctttgtt tctgcgtcca acatgaggaa tgcagcgggt     6900
caatttatcg aggctgccta tgctaaagca cttagagtag aactggccca gttggtgcag     6960
gttgataaag ttcgaggtac tttggccaaa cttgaagctt ttgctgatac cgtggcacct     7020
caactctcgc ccggtgacat tgttgtcgct ctcggccaca cgcctgttgg cagtatcttc     7080
gacctaaagg ttggtagcac caagcatacc ctccaagcca ttgagaccag agtccttgct     7140
gggtccaaaa tgaccgtggc gcgcgtcgtc gacccgaccc ccacgccccc acccgcaccc     7200
gtgcccatcc ccctcccacc gaaagttctg gagaatggcc ccaacgcttg gggggatgag     7260
gaccgtttga ataagaagaa gaggcgcagg atggaagccc tcggcatcta tgttatgggc     7320
gggaaaaagt accagaaatt ttgggacaag aattccggtg atgtgtttta tgaggaggtc     7380
cataataaca cagatgagtg ggagtgtctc agagttggcg accctgccga ctttgaccct     7440
gagaagggaa ctctgtgtgg acatgtcacc attgaaaaca aggcttacca tgtttacacc     7500
tccccatctg gtaagaagtt cttggtcccc gtcaacccag agaatggaag agttcaatgg     7560
gaagctgcaa agctttccgt ggagcaggcc ctaggtatga tgaatgtcga cggcgaactg     7620
actgccaaag aactggagaa actgaaaaga ataattgaca aactccaggg cctgactaag     7680
gagcagtgtt taaactgcta gccgccagcg acttgacccg ctgtggtcgc ggcggcttgg     7740
ttgttactga aacagcggta aaaatagtca aatttcacaa ccggaccttc accctgggac     7800
ctgtgaattt aaaagtggcc agtgaggttg agctaaaaga cgcggttgag cacaaccaac     7860
acccggttgc gagaccgatc gatggtggag ttgtgctcct gcgttccgcg gttccttcgc     7920
ttatagacgt cttgatctcc ggtgctgatg catctcccaa gttacttgcc catcacgggc     7980
cgggaaacac tgggatcgat ggcacgctct gggattttga gtccgaagcc actaaagagg     8040
aagtcgcact cagtgcgcaa ataatacagg cttgtgacat taggcgcggc gacgctcctg     8100
aaattggtct cccttacaag ctgtaccctg ttaggggtaa ccctgagcgg gtgaaaggag     8160
ttctgcagaa tacaaggttt ggagacatac cttacaaaac ccccagtgac actggaagcc     8220
cagtgcacgc ggctgcctgc cttacgccca acgccactcc ggtgactgat gggcgctccg     8280
tcttggccac gaccatgccc cccgggtttg agttatatgt accgaccata ccagcgtctg     8340
tccttgatta ccttgactct aggcctgact gccctaaaca gctgacagag cacggctgcg     8400
aagatgccgc actgaaagac ctctctaaat atgacttgtc cacccaaggc tttgttttac     8460
ctggagttct tcgccttgtg cggaaatacc tgtttgccca tgtaggtaag tgcccacccg     8520
ttcatcggcc ttctacttac cctgctaaga attctatggc tggaataaat gggaacaggt     8580
tcccaaccaa ggacattcag agcgtccctg aaatcgacgt tctgtgcgca caggctgtgc     8640
gagaaaactg gcaaactgtc acccccttgta ctcttaagaa acagtattgc gggaagaaga     8700
agactaggac catactcggc accaataact tcatcgcact agcccaccga gcagtgttga     8760
gtggtgttac ccagggcttc atgaaaaagg cgtttaactc gcccatcgcc ctcggaaaga     8820
acaagtttaa ggagctacag actccggtcc tgggcaggtg ccttgaagct gatctcgcat     8880
cctgcgatcg atccacgcct gcaattgtcc gctggtttgc cgccaacctt ctttatgaac     8940
ttgcctgtgc tgaagagcat ctaccgtcgt acgtgctgaa ctgctgccac gacttactgg     9000
tcacgcagtc cggcgcagtg actaagagag gtggcctgtc gtctggcgac ccgatcacct     9060
ctgtgtctaa caccatttat agtttggtga tctatgcaca gcatatggtg cttagttact     9120
tcaaaagtgg tcacccccat ggccttctgt tcttacaaga ccagctaaag tttgaggaca     9180
tgctcaaggt tcaacccctg atcgtctatt cggacgacct cgtgctgtat gccgagtctc     9240
ccaccatgcc aaactatcac tggtgggttg aacatctgaa tttgatgctg gggtttcaga     9300
cggacccaaa gaagacagca ataacagact cgccatcatt tctaggctgt agaataataa     9360
atgggcgcca gctagtcccc aaccgtgaca ggatcctcgc ggccctcgcc tatcacatga     9420
aggcgagtaa tgtttctgaa tactatgcct cagcggctgc aatactcatg gacagctgtg     9480
cttgtttgga gtatgatcct gaatggtttg aagaacttgt agttggaata gcgcagtgcg     9540
cccgcaagga cggctacagc tttcccggca cgccgttctt catgtccatg tgggaaaaac     9600
tcaggtccaa ttatgagggg aagaagtcga gagtgtgcgg gtactgcggg gccccggccc     9660
cgtacgctac tgcctgtggc ctcgacgtct gcatttacca cacccacttc caccagcatt     9720
gtccagtcac aatctggtgt ggccatccag cgggttctgg ttcttgtagt gagtgcaaat     9780
cccctgtagg gaaaggcaca agcccttag acgaggtgct ggaacaagtc ccgtataagc      9840
ccccacggac cgttatcatg catgtggagc agggtctcac ccccttgat ccaggtagat      9900
accaaactcg ccgcggatta gtctctgtca ggcgtggaat taggggaaat gaagttggac     9960
taccagacgg tgattatgct agcaccgcct tgctccctac ctgcaaagag atcaacatgg    10020
tcgctgtcgc ttccaatgta ttgcgcagca ggttcatcat cggcccaccc ggtgctggga    10080
aaacatactg gctccttcaa caggtccagg atggtgatgt tatttacaca ccaactcacc    10140
agaccatgct tgacatgatt agggctttgg ggacgtgccg gttcaacgtc ccggcaggca    10200
caacgctgca attccccgtc ccctcccgca ccggtccgtg ggttcgcatc ctagccggcg    10260
gttggtgtcc tggcaagaat tccttcctag atgaagcagc gtattgcaat caccttgatg    10320
ttttgaggct tcttagtaaa actaccctca cctgtctagg agacttcaag caactccacc    10380
cagtgggttt tgattctcat tgctatgttt ttgacatcat gcctcaaact caactgaaga    10440
ccatctggag gtttggacag aatatctgtg atgccattca gccagattac agggacaaac    10500
tcatgtccat ggtcaacaca acccgtgtga cctacgtgga aaaacctgtc aggtatgggc    10560
aggtcctcac cccctaccac agggaccgag aggacgacgc catcactatt gactccagtc    10620
aaggcgccac attcgatgtg gttacattgc atttgcccac taaagattca ctcaacaggc    10680
aaagagccct tgttgctatc accagggcaa gacacgctat ctttgtgtat gacccacaca    10740
ggcagctgca gggcttgttt gatcttcctg caaaaggcac gcccgtcaac ctcgcagtgc    10800
actgcgacgg gcagctgatc gtgctggata gaaataacaa agaatgcacg gttgctcagg    10860
ctctaggcaa cggggataaa tttagggcca cagacaagcg tgttgtagat tctctccgcg    10920
ccatttgtgc tgatctagaa gggtcgagct ctccgctccc caaggtcgca cacaacttgg    10980
gattttattt ctcacctgat ttaacacagt ttgctaaact cccagtagaa cttgcacctc    11040
```

actggcccgt ggtgtcaacc cagaacaatg aaaagtggcc ggatcggctg gttgccagcc 11100
ttcgccctat ccataaatac agccgcgcgt gcatcggtgc cggctatatg gtgggccctt 11160
cggtgtttct aggcactcct ggggtcgtgt catactatct cacaaaattt gttaagggcg 11220
gggctcaagt gcttccggag acggttttca gcaccggccg aattgaggta gactgccggg 11280
aatatcttga tgatcgggag cgagaagttg ctgcgtccct cccacacggt ttcattggcg 11340
acgtcaaagg cactaccgtt ggaggatgtc atcatgtcac ctccagatac ctcccgcgcg 11400
tccttcccaa ggaatcagtt gcggtagtcg gggtttcaag ccccggaaaa gccgcgaaag 11460
cattgtgcac actgacagat gtgtacctcc cagatcttga agcctatctc cacccggaga 11520
cccagtccaa gtgctggaaa atgatgttgg acttcaaaga agttcgacta atggtctgga 11580
aagacaaaac agcctatttc caacttgaag gtcgctattt cacctggtat cagcttgcca 11640
gctatgcctc gtacatccgt gttcccgtca actctacggt gtacttggac ccctgcatgg 11700
gccccgccct ttgcaacagg agagtcgtcg ggtccaccca ctgggggggct gacctcgcgg 11760
tcaccccttа tgattacggc gctaaaatta tcctgtctag cgcgtaccat ggtgaaatgc 11820
cccccggata caaaattctg gcgtgcgcgg agttctcgtt ggatgaccca gttaagtaca 11880
aacatacctg ggggtttgaa tcggatacag cgtatctgta tgagttcacc ggaaacggtg 11940
aggactggga ggattacaat gatgcgtttc gtgcgcgcca ggaagggaaa atttataagg 12000
ccactgccac cagcttgaag ttttattttc ccccgggccc tgtcattgaa ccaactttag 12060
gcctgaattg aaatgaaatg gggtccatgc aaagcctttt tgacaaaatt ggccaacttt 12120
ttgtggatgc tttcacggag ttcttggtgt ccattgttga tatcattata tttttggcca 12180
ttttgtttgg cttcaccatc gccggttggc tggtggtctt ttgcatcaga ttggtttgct 12240
ccgcgatact ccgtacgcgc cctgccattc actctgagca attacagaag atcttatgag 12300
gcctttcttt cccagtgcca agtggacatt cccacctggg gaactaaaca tcctttgggg 12360
atgctttggc accataaggt gtcaaccctg attgatgaaa tggtgtcgcg tcgaatgtac 12420
cgcatcatgg aaaaagcagg gcaggctgcc tggaaacagg tggtgagcga ggctacgctg 12480
tctcgcatta gtagtttgga tgtggtggct cattttcagc atctagccgc cattgaagcc 12540
gagacctgta aatatttggc ctcccggctg cccatgctac acaacctgcg catgacaggg 12600
tcaaatgtaa ccatagtgta taatagcact ttgaatcagg tgtttgctat ttttccaacc 12660
cctggttccc ggccaaagct tcatgatttt cagcaatggt taatagctgt acattcctcc 12720
atattttcct ctgttgcagc ttcttgtact ctttttgttg tgctgtggtt gcgggttcca 12780
atactacgta ctgtttttgg tttccgctgg ttaggggcaa tttttctttc gaactcacag 12840
tgaattacac ggtgtgtcca ccttgcctca cccggcaagc agccacagag atctacgaac 12900
ccggtaggtc tctttggtgc aggatagggt atgaccgatg tggggaggac gatcatgacg 12960
agctagggtt tatgataccg cctggcctct ccagcgaagg ccacttgact ggtgtttacg 13020
cctggttggc gttcttgtcc ttcagctaca cggcccagtt ccatcccgag atattcggga 13080
tagggaatgt gagtcgagtt tatgttgaca tcaaacatca actcatctgc gccgaacatg 13140
acgggcagaa caccaccttg cctcgtcatg acaacatttc agccgtgttt cagacctatt 13200
accaacatca agtcgacggc ggcaattggt ttcacctaga atggcttcgt cccttctttt 13260
cctcgtggtt ggttttaaat gtctcttggt ttctcaggcg ttcgcctgca aaccatgttt 13320
cagttcgagt cttgcagata ttaagaccaa caccaccgca gcggcaagct ttgctgtcct 13380
ccaagacatc agttgcctta ggcatcgcga ctcggcctct gaggcgattc gcaaaatccc 13440
tcagtgccgt acggcgatag ggacacccgt gtatgttacc atcacagcca atgtgacaga 13500
tgagaattat ttacattctt ctgatctcct catgctttct tcttgccttt tctatgcttc 13560
tgagatgagt gaaaagggat ttaaggtggt atttggcaat gtgtcaggca tcgtggctgt 13620
gtgtgtcaat tttaccagct acgtccaaca tgtcaaggag tttacccaac gctccctggt 13680
ggtcgaccat gtgcggttgc tccatttcat gacacctgag accatgaggt gggcaactgt 13740
tttagcctgt ctttttgcca ttctgttggc aatttgaatg tttaagtatg ttggagaaat 13800
gcttgaccgc gggctgttgc tcgcgattgc tttctttgtg gtgtatcgtg ccgttctgtt 13860
ttgctgtgct cgccaacgcc agcaacgaca gcagctccca tctacagctg atttacaact 13920
tgacgctatg tgagctgaat ggcacagatt ggctagctaa caaatttgat tgggcagtgg 13980
agagttttgt catctttccc gttttgactc acattgtctc ctatggtgcc ctcactacca 14040
gccatttcct tgacacagtc gctttagtca ctgtgtctac cgccgggttt gttcacgggc 14100
ggtatgtcct aagtagcatc tacgcggtct gtgccctggc tgcgttgact tgcttcgtca 14160
ttaggtttgc aaagaattgc atgtcctggc gctacgcgtg taccagatat accaactttc 14220
ttctggacac taagggcaga ctctatcgtt ggcggtcgcc tgtcatcata gagaaaaggg 14280
gcaaagttga ggtcgaaggt catctgatcg acctcaaaag agttgtgctt gatggttccg 14340
tggcaacccc tataaccaga gtttcagcgg aacaatgggg tcgtccttag atgacttctg 14400
tcatgatagc acggctccac aaaaggtgct tttggcgttt tctattacct acacgccagt 14460
gatgatatat gccctaaagg tgagtcgcgg ccgactgcta gggcttctgc acctttgat 14520
cttcctgaat tgtgctttca ccttcgggta catgactttc gcgcactttc agagtacaaa 14580
taaggtcgcg ctcactatgg gagcagtagt tgcactcctt tgggggggtgt actcagccat 14640
agaaacctgg aaattcatca cctccagatg ccgtttgtgc ttgctaggcc gcaagtacat 14700
tctggcccct gcccaccacg ttgaaagtgc cgcacggttt catccgattg cggcaaatga 14760
taaccacgca tttgtcgtcc ggcgtcccgg ctccactacg gtcaacggca cattggtgcc 14820
cgggttaaaa agcctcgtgt tgggtggcag aaaagctgtt aaacagggag tggtaaacct 14880
tgtcaaatat gccaaataac aacggcaagc agcagaagag aaagaagggg gatggccagc 14940
cagtcaatca gctgtgccag atgctgggta agatcatcgc tcagcaaaac cagtccagag 15000
gcaagggacc gggaaagaaa aataagaaga aaaacccgga gaagccccat tttcctctag 15060
cgactgaaga tgatgtcaga catcacttta cccctagtga gcggcaattg tgtctgtcgt 15120
caatccagac cgcctttaat caaggcgctg ggacttgcac cctgtcagat tcagggagga 15180
taagttacac tgtggagttt agtttgccta cgcatcatac tgtgcgcctg atccgcgtca 15240
cagcatcacc ctcagcatga tgggctggca ttcttgaggc atctcagtgt ttgaattgga 15300
agaatgtgtg gtgaatggca ctgattgaca ttgtgcctct aagtcaccta ttcaattagg 15360
gcgaccgtgt gggggtgaga tttaattggc gagaaccatg cggccgaaat t 15411

<210> 29
<211> 15108
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Trình tự Lelystad PRRSV nguyên vẹn (Ngân hàng gen: A26843.1)

<400> 29

gggtattccc cctacataca cgacacttct agtgtttgtg taccttggag gcgtgggtac 60
agccccgccc cacccccttgg cccctgttct agcccaacag gtatccttct ctctcggggc 120
gagtgcgccg cctgctgctc ccttgcagcg ggaaggacct cccgagtatt tccggagagc 180
acctgcttta cgggatctcc acccctttaac catgtctggg acgttctccc ggtgcatgtg 240
caccccggct gcccgggtat tttggaacgc cggccaagtc ttttgcacac ggtgtctcag 300
tgcgcggtct cttctctctc cagagcttca ggacactgac ctcggtgcag ttggcttgtt 360
ttacaagcct agggacaagc ttcactggaa agtccctatc ggcatccctc aggtggaatg 420
tactccatcc gggtgctgtt ggctctcagc tgttttccct ttggcgcgta tgacctccgg 480
caatcacaac ttcctccaac gacttgtgaa ggttgctgat gttttgtacc gtgacggttg 540
cttggcacct cgacaccttc gtgaactcca agtttacgag cgcggctgca actggtaccc 600
gatcacgggg cccgtgcccg ggatgggttt gtttgcgaac tccatgcacg tatccgacca 660
gccgttccct ggtgccaccc atgtgttgac taactcgcct ttgcctcaac aggcttgtcg 720
gcagccgttc tgtccatttg aggaggctca ttctagcgtg tacaggtgga agaaatttgt 780
ggttttcacg gactcctccc tcaacggtcg atctcgcatg atgtggacgc cggaatccga 840
tgattcagcc gccctggagg tactaccgcc tgagttagaa cgtcaggtcg aaatcctcat 900
tcggagtttt cctgctcatc accctgtcga cctggccgac tgggagctca ctgagtcccc 960
tgagaacggt ttttccttca acacgtctca ttcttgcggt caccttgtcc agaaccccga 1020
cgtgtttgat ggcaagtgct ggctctcctg ctttttgggc cagtcggtcg aagtgcgctg 1080
ccatgaggaa catctagctg acgccttcgg ttaccaaacc aagtggggcg tgcatggtaa 1140
gtacctccag cgcaggcttc aagttcgcgg cattcgtgct gtagtcgatc ctgatggtcc 1200
cattcacgtt gaagcgctgt cttgccccca gtcttggatc aggcacctga ctctggatga 1260
tgatgtcacc ccaggattcg ttcgcctgac atcccttcgc attgtgccga acacagagcc 1320
taccacttcc cggatctttc ggtttggagc gcataagtgg tatggcgctg ccggcaaacg 1380
ggctcgtgct aagcgtgccg ctaaaagtga gaaggattcg gctcccaccc ccaaggttgc 1440
cctgccggtc cccacctgtg gaattaccac ctactctcca ccgacagacg ggtcttgtgg 1500
ttggcatgtc cttgccgcca taatgaaccg gatgataaat ggtgacttca cgtcccctct 1560
gactcagtac aacagaccag aggatgattg ggcttctgat tatgatcttg ttcaggcgat 1620
tcaatgtcta cgactgcctg ctaccgtggt tcggaatcgc gcctgtccta acgccaagta 1680
ccttataaaa cttaacggag ttcactggga ggtagaggtg aggtctggaa tggctcctcg 1740
ctccctttct cgtgaatgtg tggttggcgt ttgctctgaa ggctgtgtcg caccgcctta 1800
tccagcagac gggctaccta aacgtgcact cgaggccttg gcgtctgctt acagactacc 1860
ctccgattgt gttagctctg gtattgctga ctttcttgct aatccacctc ctcaggaatt 1920
ctggaccctc gacaaaatgt tgacctcccc gtcaccagag cggtccggct tctctagttt 1980
gtataaatta ctattagagg ttgttccgca aaaatgcggt gccacggaag gggctttcat 2040
ctatgctgtt gagaggatgt tgaaggattg tccgagctcc aaacaggcca tggcccttct 2100
ggcaaaaatt aaagttccat cctcaaaggc cccgtctgtg tccctggacg agtgtttccc 2160
tacggatgtt ttagccgact tcgagccagc atctcaggaa aggccccaaa gttccggcgc 2220
tgctgttgtc ctgtgttcac cggatgcaaa agagttcgag gaagcagccc cggaagaagt 2280
tcaagagagt ggccacaagg ccgtccactc tgcactcctt gccgagggtc ctaacaatga 2340
gcaggtacag gtggttgccg gtgagcaact gaagctcggc ggttgtggtt tggcagtcgg 2400
gaatgctcat gaaggtgctc tggtctcagc tggtctaatt aacctggtag gcgggaattt 2460
gtcccctca gaccccatga aagaaaacat gctcaatagc cgggaagacg aaccactgga 2520
tttgtcccaa ccagcaccag cttccacaac gacccttgtg agagagcaaa cacccgacaa 2580
cccaggttct gatgccggtg ccctccccgt caccgttcga gaatttgtcc cgacggggcc 2640
tatactctgt catgttgagc actgcggcac ggagtcgggc gacagcagtt cgcctttgga 2700
tctatctgat gcgcaaaccc tggaccagcc tttaaatcta tccctggccg cttggccagt 2760
gagggccacc gcgtctgacc ctggctgggt ccacggtagg cgcgagcctg tctttgtaaa 2820
gcctcgaaat gctttctctg atggcgattc agcccttcag ttcggggagc tttctgaatc 2880
cagctctgtc atcgagtttg accggacaaa agatgctccg gtggttgacg cccctgtcga 2940
cttgacgact tcgaacgagg ccctctctgt agtcgatcct ttcgaatttg ccgaactcaa 3000
gcgcccgcgt ttctccgcac aagccttaat tgaccgaggc ggtccacttg ccgatgtcca 3060
tgcaaaaata aagaaccggg tatatgaaca gtgcctccaa gcttgtgagc ccggtagtcg 3120
tgcaacccca gccaccaggg agtggctcga caaaatgtgg gatagggtgg acatgaaaac 3180
ttggcgctgc acctcgcagt tccaagctgg tcgcattctt gcgtccctca aattcctccc 3240
tgacatgatt caagacacac cgcctcctgt tcccaggaag aaccgagcta gtgacaatgc 3300
cggcctgaag caactggtgg cacagtggga taaggaaatt gagtgtgacc ccccccaaa 3360
accggttggg ccagtgcttg accagatcgt ccctccgcct acggatatcc agcaagaaga 3420
tgtcaccccc tccgatgggc caccccatgc gccggatttt cctagtcgag tgagcacggg 3480
cgggagttgg aaaggcctta tgctttccgg cacccgtctc gcggggtcta tcagccagcg 3540
ccttatgaca tgggtttttg aagttttctc ccacctccca gcttttatgc tcacactttt 3600
ctcgccgcgg ggctctatgg ctccaggtga ttggttgttt gcaggtgtcg ttttacttgc 3660
tctcttgctc tgtcgttctt acccgatact cggatgcctt cccttattgg gtgtcttttc 3720
tggttctttg cggcgtgttc gtctgggtgt ttttggttct tggatggctt ttgctgtatt 3780
tttattctcg actccatcca acccagtcgg ttcttcttgt gaccacgatt cgccggagtg 3840
tcatgctgag cttttggctc ttgagcagcg ccaactttgg gaacctgtgc gcggccttgt 3900
ggtcggcccc tcaggcctct tatgtgtcat tcttggcaag ttactcggtg ggtcacgtta 3960
tctctggcat gttctcctac gtttatgcat gcttgcagat ttggcccttt ctcttgttta 4020
tgtggtgtcc caggggcgtt gtcacaagtg ttggggaaag tgtataagga cagctcctgc 4080
ggaggtggct cttaatgtat ttccctttctc gcgcgccacc cgtgtctctc ttgtatcctt 4140
gtgtgatcga ttccaaacgc caaaaggggt tgatcctgtg cacttggcaa cgggttggcg 4200
cgggtgctgg cgtggtgaga gccccatcca tcaaccacac caaaagccca tagcttatgc 4260
caatttggat gaaaagaaaa tgtctgccca aacggtggtt gctgtcccat acgatcccag 4320
tcaggctatc aaatgcctga aagttctgca ggcgggaggg gccatcgtgg accagcctac 4380
acctgaggtc gttcgtgtgt ccgagatccc cttctcagcc ccatttttcc caaaagttcc 4440
agtcaaccca gattgcaggg ttgtggtaga ttcggacact tttgtggctg cggttcgctg 4500
cggttactcg acagcacaac tggttctggg ccggggcaac tttgccaagt taaatcagac 4560
ccccccccagg aactctatct ccaccaaaac gactggtggg gcctcttaca cccttgctgt 4620
ggctcaagtg tctgcgtgga ctcttgttca tttcatcctc ggtctttggt tcacatcacc 4680

```
tcaagtgtgt ggccgaggaa ccgctgaccc atggtgttca aatccttttt catatcctac     4740
ctatggcccc ggagttgtgt gctcctctcg actttgtgtg tctgccgacg gggtcaccct     4800
gccattgttc tcagccgtgg cacaactctc cggtagagag gtggggattt ttattttggt     4860
gctcgtctcc ttgactgctt tggcccaccg catggctctt aaggcagaca tgttagtggt     4920
cttttcggct ttttgtgctt acgcctggcc catgagctcc tggttaatct gcttctttcc     4980
tatactcttg aagtgggtta cccttcaccc tcttactatg ctttgggtgc actcattctt     5040
ggtgttttgt ctgccagcag ccggcatcct ctcactaggg ataactggcc ttctttgggc     5100
aattggccgc tttacccagg ttgccggaat tattacacct tatgacatcc accagtacac     5160
ctctgggcca cgtggtgcag ctgctgtggc cacagcccca gaaggcactt atatggccgc     5220
cgtccggaga gctgctttaa ctgggcgaac tttaatcttc accccgtctg cagttggatc     5280
ccttctcgaa ggtgctttca ggactcataa accctgcctt aacaccgtga atgttgtagg     5340
ctcttccctt ggttccggag gggttttcac cattgatggc agaagaactg tcgtcactgc     5400
tgcccatgtg ttgaacggcg acacagctag agtcaccggc gactcctaca accgcatgca     5460
cactttcaag accaatggtg attatgcctg gtcccatgct gatgactggc agggcgttgc     5520
ccctgtggtc aaggttgcga aggggtaccg cggtcgtgcc tactggcaaa catcaactgg     5580
tgtcgaaccc ggtatcattg gggaagggtt cgccttctgt tttactaact gcggcgattc     5640
ggggtcaccc gtcatctcag aatctggtga tcttattgga atccacaccg gttcaaacaa     5700
acttggttct ggtcttgtga caacccctga aggggagacc tgcaccatca aagaaaccaa     5760
gctctctgac ctttccagac attttgcagg cccaagcgtt cctcttgggg acattaaatt     5820
gagtccggcc atcatccctg atgtaacatc cattccgagt gacttggcat cgctcctagc     5880
ctccgtccct gtagtggaag gcggcctctc gaccgttcaa cttttgtgtg tctttttcct     5940
tctctggcgc atgatgggcc atgcctggac acccattgtt gccgtgggct tctttttgct     6000
gaatgaaatt cttccagcag ttttggtccg agccgtgttt tcttttgcac tctttgtgct     6060
tgcatgggcc acccccctggt ctgcacaggt gttgatgatt agactcctca cggcatctct     6120
caaccgcaac aagctttctc tggcgttcta cgcactcggg ggtgtcgtcg gtttggcagc     6180
tgaaatcggg acttttgctg gcagattgtc tgaattgtct caagctcttt cgacatactg     6240
cttcttacct agggtccttg ctatgaccag ttgtgttccc accatcatca ttggtggact     6300
ccataccctc ggtgtgattc tgtggttatt caaataccgg tgcctccaca acatgctggt     6360
tggtgatggg agtttttcaa gcgccttctt cctacggtat tttgcagagg gtaatctcag     6420
aaaaggtgtt tcacagtcct gtggcatgaa taacgagtcc ctaacggctg ctttagcttg     6480
caagttgtca caggctgacc ttgatttttt gtccagctta acgaacttca agtgctttgt     6540
atctgcttca aacatgaaaa atgctgccgg ccagtacatt gaagcagcgt atgccaaggc     6600
cctgcgccaa gagttggcct ctctagttca gattgacaaa atgaaaggag ttttgtccaa     6660
gctcgaggcc tttgctgaaa cagccacccc gtcccttgac ataggtgacg tgattgttct     6720
gcttgggcaa catcctcacg gatccatcct cgatattaat gtggggactg aaaggaaaac     6780
tgtgtccgtg caagagaccc ggagcctagg cggctccaaa ttcagtgttt gtactgtcgt     6840
gtccaacaca cccgtggacg ccttgaccgg catcccactc cagacaccaa cccctctttt     6900
tgagaatggt ccgcgtcatc gcagcgagga agacgatctt aaagtcgaga ggatgaagaa     6960
acactgtgta tccctcggct tccacaacat caatggcaaa gtttactgca aaatttggga     7020
caagtctacc ggtgacacct tttacacgga tgattcccgg tacacccaag accatgcttt     7080
tcaggacagg tcagccgact acagagacag ggactatgag ggtgtgcaaa ccacccccca     7140
acagggattt gatccaaagt ctgaaacccc tgttggcact gttgtgatcg gcggtattac     7200
gtataacagg tatctgatca aaggtaagga ggttctggtc cccaagcctg acaactgcct     7260
tgaagctgcc aagctgtccc ttgagcaagc tctcgctggg atgggccaaa cttgcgacct     7320
tacagctgcc gaggtggaaa agctaaagcg catcattagt caactccaag gtttgaccac     7380
tgaacaggct ttaaactgtt agccgccagc ggcttgaccc gctgtggccg cggcggccta     7440
gttgtgactg aaacggcggt aaaaattata aaataccaca gcagaacttt caccttaggc     7500
cctttagacc taaaagtcac ttccgaggtg gaggtaaaga aatcaactga gcagggccac     7560
gctgttgtgg caaacttatg ttccggtgtc atcttgatga gacctcaccc accgtccctt     7620
gtcgacgttc ttctgaaacc cggacttgac acaatacccg gcattcaacc agggcatggg     7680
gccgggaata tgggcgtgga cggttctatt tgggattttg aaaccgcacc cacaaaggca     7740
gaactcgagt tatccaagca aataatccaa gcatgtgaag ttaggcgcgg ggacgccccg     7800
aacctccaac tcccttacaa gctctatcct gttaggggggg atcctgagcg gcataaaggc     7860
cgccttatca ataccaggtt tggagattta ccttacaaaa ctcctcaaga caccaagtcc     7920
gcaatccacg cggcttgttg cctgcacccc aacggggccc ccgtgtctga tggtaaatcc     7980
acactaggta ccactcttca acatggtttc gagctttatg tccctactgt gccctatagt     8040
gtcatggagt accttgattc acgccctgac acccctttta tgtgtactaa acatggcact     8100
tccaaggctg ctgcagagga cctccaaaaa tacgacctat ccacccaagg atttgtcctg     8160
cctggggtcc tacgcctagt acgcagattc atctttggcc atattggtaa ggcgccgcca     8220
ttgttcctcc catcaaccta tcccgccaag aactctatgg cagggatcaa tggccagagg     8280
ttcccaacaa aggacgttca gagcatacct gaaattgatg aaatgtgtgc ccgcgctgtc     8340
aaggagaatt ggcaaactgt gacaccttgc accctcaaga aacagtactg ttccaagccc     8400
aaaaccagga ccatcctggg caccaacaac tttattgcct tggctcacag atcggcgctc     8460
agtggtgtca cccaggcatt catgaagaag gcttggaagt ccccaattgc cttggggaaa     8520
aacaaattca aggagctgca ttgcactgtc gccggcaggt gtcttgaggc cgacttggcc     8580
tcctgtgacc gcagcacccc cgccattgta agatggtttg ttgccaacct cctgtatgaa     8640
cttgcaggat gtgaagagta cttgcctagc tatgtgctta attgctgcca tgacctcgtg     8700
gcaacacagg atggtgcctt cacaaaacgc ggtggcctgt cgtccgggga ccccgtcacc     8760
agtgtgtcca acaccgtata ttcactggta atttatgccc agcacatggt attgtcggcc     8820
ttgaaaatgg gtcatgaaat tggtcttaag ttcctcgagg aacagctcaa gttcgaggac     8880
ctccttgaaa ttcagcctat gttggtatac tctgatgatc ttgtcttgta cgctgaaaga     8940
cccacatttc ccaattacca ctggtgggtc gagcaccttg acctgatgct gggtttcaga     9000
acggacccaa agaaaaccgt cataactgat aaacccagct tcctcggctg cagaattgag     9060
gcagggcgac agctagtccc caatcgcgac cgcatcctgg ctgctcttgc atatcacatg     9120
aaggcgcaga acgcctcaga gtattatgcg tctgctgccg caatcctgat ggattcatgt     9180
gcttgcattg accatgaccc tgagtggtat gaggacctca tctgcggtat tgcccggtgc     9240
gcccgccagg atggttatag cttcccaggt ccggcatttt tcatgtccat gtgggagaag     9300
ctgagaagtc ataatgaagg gaagaaattc cgccactgcg gcatctgcga cgccaaagcc     9360
gactatgcgt ccgcctgtgg gcttgatttg tgtttgttcc attcgcactt tcatcaacac     9420
```

```
tgccctgtca ctctgagctg cggtcaccat gccggttcaa aggaatgttc gcagtgtcag     9480
tcacctgttg gggctggcag atcccctctt gatgccgtgc taaaacaaat tccatacaaa     9540
cctcctcgta ctgtcatcat gaaggtgggt aataaaacaa cggccctcga tccggggagg     9600
taccagtccc gtcgaggtct cgttgcagtc aagaggggta ttgcaggcaa tgaagttgat     9660
ctttctgatg gggactacca agtggtgcct cttttgccga cttgcaaaga cataaacatg     9720
gtgaaggtgg cttgcaatgt actactcagc aagttcatag tagggccacc aggttccgga     9780
aagaccacct ggctactgag tcaagtccag gacgatgatg tcatttacac acccacccat     9840
cagactatgt ttgatatagt cagtgctctc aaagtttgca ggtattccat tccaggagcc     9900
tcaggactcc ctttcccacc acctgccagg tccgggccgt gggttaggct tattgccagc     9960
gggcacgtcc ctggccgagt atcatacctc gatgaggctg gatattgtaa tcatctggac    10020
attcttagac tgctttccaa aacacccctt gtgtgtttgg gtgaccttca gcaacttcac    10080
cctgtcggct ttgattccta ctgttatgtg ttcgatcaga tgcctcagaa gcagctgacc    10140
actatttaca gatttggccc taacatctgc gcacgcatcc agccttgtta cagggagaaa    10200
cttgaatcta aggctaggaa cactagggtg gtttttacca cccggcctgt ggcctttggt    10260
caggtgctga caccatacca taaagatcgc atcggctctg cgataaccat agattcatcc    10320
caggggggca cctttgatat tgtgacattg catctaccat cgccaaagtc cctaaataaa    10380
tcccgagcac ttgtagccat cactcgggca agacacgggt tgttcattta tgaccctcat    10440
aaccagctcc aggagttttt caacttaacc cctgagcgca ctgattgtaa ccttgtgttc    10500
agccgtgggg atgagctggt agttctgaat gcggataatg cagtcacaac tgtagcgaag    10560
gcccttgaga caggtccatc tcgatttcga gtatcagacc cgaggtgcaa gtctctctta    10620
gccgcttgtt cggccagtct ggaagggagc tgtatgccac taccgcaagt ggcacataac    10680
ctggggtttt acttttcccc ggacagtcca acatttgcac ctctgccaaa agagttggcg    10740
ccacattggc cagtggttac ccaccagaat aatcgggcgt ggcctgatcg acttgtcgct    10800
agtatgcgcc caattgatgc ccgctacagc aagccaatgg tcggtgcagg gtatgtggtc    10860
agtatgcgcc caattgatgc ccgctacagc aagccaatgg tcggtgcagg gtatgtggtc    10920
aggggtgagc cccaggcctt gccagaaaca ctcgtttcaa cagggcgtat agccacagat    10980
tgtcgggagt atctcgacgc ggctgaggaa gaggcagcaa aagaactccc ccacgcattc    11040
attggcgatg tcaaaggtac cacggttggg gggtgtcatc acattacatc aaaataccta    11100
cctaggtccc tgcctaagga ctctgttgcc gtagttggag taagttcgcc cggcagggct    11160
gctaaagccg tgtgcactct caccgatgtg tacctccccg aactccggcc atatctgcaa    11220
cctgagacgg catcaaaatg ctggaaactc aaattagact tcagggacgt ccgactaatg    11280
gtctggaaag gagccaccgc ctatttccag ttggaagggc ttacatggtc ggcgctgccc    11340
gactatgcca ggtttattca gctgcccaag gatgccgttg tatacattga tccgtgtata    11400
ggaccggcaa cagccaaccg taaggtcgtg cgaaccacag actggcgggc cgacctggca    11460
gtgacaccgt atgattacgg tgcccagaac attttgacaa cagcctggtt cgaggacctc    11520
gggccgcagt ggaagatttt ggggttgcag ccctttaggc gagcatttgg ctttgaaaac    11580
actgaggatt gggcaatcct tgcacgccgt atgaatgacg gcaaggacta cactgactat    11640
aactggaact gtgttcgaga acgcccacac gccatctacg ggcgtgctcg tgaccatacg    11700
tatcattttg cccctggcac agaattgcag gtagagctag gtaaaccccg gctgccgcct    11760
gggcaagtgc cgtgaattcg gggtgatgca atggggtcac tgtggagtaa aatcagccag    11820
ctgttcgtgg acgccttcac tgagttcctt gttagtgtgg ttgatattgc cattttcctt    11880
gccatactgt ttgggttcac cgtcgcagga tggttactgg tctttcttct cagagtggtt    11940
tgctccgcgc ttctccgttc gcgctctgcc attcactctc ccgaactatc gaaggtccta    12000
tgaaggcttg ttgcccaact gcagaccgga tgtcccacaa tttgcagtca agcacccatt    12060
gggyatgttt tggcacatgc gagtttccca cttgattgat gagatggtct ctcgtcgcat    12120
ttaccagacc atggaacatt caggtcaagc ggcctggaag caggtggttg gtgaggccac    12180
tctcacgaag ctgtcagggc tcgatatagt tactcatttc caacacctgg ccgcagtgga    12240
ggcggattct tgccgctttc tcagctcacg actcgtgatg ctaaaaaatc ttgccgttgg    12300
caatgtgagc ctacagtaca acaccacgtt ggaccgcgtt gagctcatct tccccacgcc    12360
aggtacgagg cccaagttga ccgatttcag acaatggctc atcagtgtgc acgcttccat    12420
tttttcctct gtggcttcat ctgttacctt gttcatagtg ctttggcttc gaattccagc    12480
tctacgctat gtttttggtt tccattggcc cacggcaaca catcattcga gctgaccatc    12540
aactacacca tatgcatgcc ctgttctacc agtcaagcgg ctcgccaaag gctcgagccc    12600
ggtcgtaaca tgtggtgcaa aatagggcat gacaggtgtg aggagcgtga ccatgatgag    12660
ttgttaatgt ccatcccgtc cgggtacgga caactcaaac ttgagggtta ttatgcttgg    12720
ctggcttttt tgtccttttc ctacgcggcc caattccatc cggagttgtt cgggataggg    12780
aatgtgtcgc gcgtcttcgt ggacaagcga caccagttca tttgtgccga gcatgatgga    12840
cacaattcaa ccgtatctac cggacacaac atctccgcat tatatgcggc atattaccac    12900
caccaaatag acgggggcaa ttggttccat ttggaatggc tgcggccact cttttcttcc    12960
tggctggtgc tcaacatatc atggtttctg aggcgttcgc ctgtaagccc tgtttctcga    13020
cgcatctatc agatattgag accaacacga ccgcggctgc cggtttcatg gtccttcagg    13080
acatcaattg tttccgacct cacggggtct cagcagcgca agagaaaatt tccttcggaa    13140
agtcgtccca atgtcgtgaa gccgtcggta ctccccagta catcacgata acggctaacg    13200
tgaccgacga atcatacttg tacaacgcgg acctgctgat gctttctgcg tgccttttct    13260
acgcctcaga aatgagcgag aaaggcttca aagtcatctt tgggaatgtc tctggcgttg    13320
tttctgcttg tgtcaatttc acagattatg tggcccatgt gacccaacat acccagcagc    13380
atcatctggt aattgatcac attcggttgc tgcatttcct gacaccatct gcaatgaggt    13440
gggctacaac cattgcttgt ttgttcgcca ttctcttggc aatatgagat gttctcacaa    13500
attggggcgt ttcttgactc cgcactcttg cttctggtgg ctttttttgc tgtgtaccgg    13560
cttgtcctgg tcctttgccg atggcaacgg cgacagctcg acataccaat acatatataa    13620
cttgacgata tgcgagctga atgggaccga ctggttgtcc agccattttg gttgggcagt    13680
cgagaccttt gtgctttacc cggttgccac tcatatcctc tcactgggtt ttctcacaac    13740
aagccatttt tttgacgcgc tcggtctcgg cgctgtatcc actgcaggat ttgttggcgg    13800
gcggtacgta ctctgcagcg tctacggcgc ttgtgctttc gcagcgttcg tatgttttgt    13860
catccgtgct gctaaaaatt gcatggcctg ccgctatgcc cgtacccggt ttaccaactt    13920
cattgtggac gaccgggga gagttcatcg atggaagtct ccaatagtgg tagaaaaatt    13980
gggcaaagcc gaagtcgatg gcaacctcgt caccatcaaa catgtcgtcc tcgaaggggt    14040
taaagctcaa cccttgacga ggacttcggc tgagcaatgg gaggcctaga cgatttttgc    14100
aacgatccta tcgccgcaca aaagctcgtg ctagccttta gcatcacata cacacctata    14160
```

atgatatacg cccttaaggt gtcacgcggc cgactcctgg ggctgttgca catcctaata 14220
tttctgaact gttcctttac attcggatac atgacatatg tgcattttca atccaccaac 14280
cgtgtcgcac ttaccctggg ggctgttgtc gcccttctgt ggggtgttta cagcttcaca 14340
gagtcatgga agtttatcac ttccagatgc agattgtgtt gccttggccg gcgatacatt 14400
ctggcccctg cccatcacgt agaaagtgct gcaggtctcc attcaatctc agcgtctggt 14460
aaccgagcat acgctgtgag aaagcccgga ctaacatcag tgaacggcac tctagtacca 14520
ggacttcgga gcctcgtgct gggcggcaaa cgagctgtta aacgaggagt ggttaacctc 14580
gtcaagtatg gccggtaaaa accagagcca gaagaaaaag aaaagtacag ctccgatggg 14640
gaatggccag ccagtcaatc aactgtgcca gttgctgggt gcaatgataa agtcccagcg 14700
ccagcaacct aggggaggac aggccaaaaa gaaaaagcct gagaagccac attttcccct 14760
ggctgctgaa gatgacatcc ggcaccacct cacccagact gaacgctccc tctgcttgca 14820
atcgatccag acggctttca atcaaggcgc aggaactgcg tcgctttcat ccagcgggaa 14880
ggtcagtttt caggttgagt ttatgctgcc ggttgctcat acagtgcgcc tgattcgcgt 14940
gacttctaca tccgccagtc agggtgcaag ttaatttgac agtcaggtga atggccgcga 15000
tggcgtgtgg cctctgagtc acctattcaa ttagggcgat cacatggggg tcatacttaa 15060
ttcaggcagg aaccatgtga ccgaaattaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa 15108
<210> 30
<211> 34864
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Vecto pAd/PL-DEST; vị trí attR1: 512-636; vị trí attR2: 2092-2216
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (34060)..(34060)
<223> n là a, c, g, hoặc t
<400> 30
catcatcaat aatatacctt attttggatt gaagccaata tgataatgag ggggtggagt 60
ttgtgacgtg gcgcggggcg tgggaacggg gcgggtgacg tagtagtgtg gcggaagtgt 120
gatgttgcaa gtgtggcgga acacatgtaa gcgacggatg tggcaaaagt gacgtttttg 180
gtgtgcgccg gtgtacacag gaagtgacaa ttttcgcgcg gttttaggcg gatgttgtag 240
taaatttggg cgtaaccgag taagatttgg ccattttcgc gggaaaactg aataagagga 300
agtgaaatct gaataatttt gtgttactca tagcgcgtaa tatttgtcta gggccgcggg 360
gactttgacc gtttacgtgg agactcgccc aggtgttttt ctcaggtgtt ttccgcgttc 420
cgggtcaaag ttggcgtttt attattatag tcagtcgaag cttggatccg gtacctctag 480
aattctcgag cggccgctag cgacatcgat cacaagtttg tacaaaaaag ctgaacgaga 540
aacgtaaaat gatataaata tcaatatatt aaattagatt ttgcataaaa aacagactac 600
ataatactgt aaaacacaac atatccagtc actatggcgg ccgcattagg caccccaggc 660
tttacacttt atgcttccgg ctcgtataat gtgtggattt tgagttagga tccggcgaga 720
ttttcaggag ctaaggaagc taaaatggag aaaaaaatca ctggatatac caccgttgat 780
atatcccaat ggcatcgtaa agaacatttt gaggcatttc agtcagttgc tcaatgtacc 840
tataaccaga ccgttcagct ggatattacg gccttttaa agaccgtaaa gaaaaataag 900
cacaagtttt atccggcctt tattcacatt cttgcccgcc tgatgaatgc tcatccggaa 960
ttccgtatgg caatgaaaga cggtgagctg gtgatatggg atagtgttca cccttgttac 1020
accgttttcc atgagcaaac tgaaacgttt tcatcgctct ggagtgaata ccacgacgat 1080
ttccggcagt ttctacacat atattcgcaa gatgtggcgt gttacggtga aaacctggcc 1140
tatttcccta aagggtttat tgagaatatg tttttcgtct cagccaatcc ctgggtgagt 1200
ttcaccagtt ttgatttaaa cgtggccaat atggacaatt tcttcgcccc cgttttcacc 1260
atgggcaaat attatacgca aggcgacaag gtgctgatgc cgctggcgat tcaggttcat 1320
catgccgtct gtgatggctt ccatgtcggc agaatgctta atgaattaca acagtactgc 1380
gatgagtggc agggcggggc gtaaacgcgt ggatccggct tactaaaaac cagataacag 1440
tatgcgtatt tgcgcgctga tttttgcggt ataagaatat atactgatat gtatacccga 1500
agtatgtcaa aaagaggtgt gctatgaagc agcgtattac agtgacagtt gacagcgaca 1560
gctatcagtt gctcaaggca tatatgatgt caatatctcc ggtctggtaa gcacaaccat 1620
gcagaatgaa gcccgtcgtc tgcgtgccga acgctggaaa gcggaaaatc aggaagggat 1680
ggctgaggtc gcccggttta ttgaaatgaa cggctctttt gctgacgaga acaggggctg 1740
gtgaaatgca gtttaaggtt tacacctata aaagagagag ccgttatcgt ctgtttgtgg 1800
atgtacagag tgatattatt gacacgcccg ggcgacggat ggtgatcccc ctggccagtg 1860
cacgtctgct gtcagataaa gtctcccgtg aactttaccc ggtggtgcat atcggggatg 1920
aaagctggcg catgatgacc accgatatgg ccagtgtgcc ggtctccgtt atcggggaag 1980
aagtggctga tctcagccac cgcgaaaatg acatcaaaaa cgccattaac ctgatgttct 2040
ggggaatata aatgtcaggc tcccttatac acagccagtc tgcaggtcga ccatagtgac 2100
tggatatgtt gtgttttaca gtattatgta gtctgttttt tatgcaaaat ctaatttaat 2160
atattgatat ttatatcatt ttacgtttct cgttcagctt tcttgtacaa agtggtgatc 2220
gattcgacag atcactgaaa tgtgtgggcg tggcttaagg gtgggaaaga atatataagg 2280
tgggggtctt atgtagtttt gtatctgttt tgcagcagcc gccgccgcca tgagcaccaa 2340
ctcgtttgat ggaagcattg tgagctcata tttgacaacg cgcatgcccc catgggccgg 2400
ggtgcgtcag aatgtgatgg gctccagcat tgatggtcgc cccgtcctgc ccgcaaactc 2460
tactaccttg acctacgaga ccgtgtctgg aacgccgttg gagactgcag cctccgccgc 2520
cgcttcagcc gctgcagcca ccgcccgcgg gattgtgact gactttgctt tcctgagccc 2580
gcttgcaagc agtgcagctt cccgttcatc cgcccgcgat gacaagttga cggctctttt 2640
ggcacaattg gattctttga cccgggaact taatgtcgtt tctcagcagc tgttggatct 2700
gcgccagcag gtttctgccc tgaaggcttc ctcccctccc aatgcggttt aaaacataaa 2760
taaaaaacca gactctgttt ggatttggat caagcaagtg tcttgctgtc tttatttagg 2820
ggttttgcgc gcgcggtagg cccgggacca gcggtctcgg tcgttgaggg tcctgtgtat 2880
tttttccagg acgtggtaaa ggtgactctg gatgttcaga tacatgggca taagcccgtc 2940
tctggggtgg aggtagcacc actgcagagc ttcatgctgc ggggtggtgt tgtagatgat 3000
ccagtcgtag caggagcgct gggcgtggtg cctaaaaatg tctttcagta gcaagctgat 3060
tgccaggggc aggcccttgg tgtaagtgtt tacaaagcgg ttaagctggg atgggtgcat 3120

acgtggggat atgagatgca tcttggactg tatttttagg ttggctatgt tcccagccat 3180
atccctccgg ggattcatgt tgtgcagaac caccagcaca gtgtatccgg tgcacttggg 3240
aaatttgtca tgtagcttag aaggaaatgc gtggaagaac ttggagacgc ccttgtgacc 3300
tccaagattt tccatgcatt cgtccataat gatggcaatg ggcccacggg cggcggcctg 3360
ggcgaagata tttctgggat cactaacgtc atagttgtgt tccaggatga gatcgtcata 3420
ggccattttt acaaagcgcg ggcggagggt gccagactgc ggtataatgg ttccatccgg 3480
cccaggggcg tagttaccct cacagatttg catttcccac gctttgagtt cagatggggg 3540
gatcatgtct acctgcgggg cgatgaagaa aacggtttcc ggggtagggg agatcagctg 3600
ggaagaaagc aggttcctga gcagctgcga cttaccgcag ccggtgggcc cgtaaatcac 3660
acctattacc gggtgcaact ggtagttaag agagctgcag ctgccgtcat ccctgagcag 3720
gggggccact tcgttaagca tgtccctgac tcgcatgttt tccctgacca aatccgccag 3780
aaggcgctcg ccgcccagcg atagcagttc ttgcaaggaa gcaaagtttt tcaacggttt 3840
gagaccgtcc gccgtaggca tgcttttgag cgtttgacca agcagttcca ggcggtccca 3900
cagctcggtc acctgctcta cggcatctcg atccagcata tctcctcgtt tcgcgggttg 3960
gggcggcttt cgctgtacgg cagtagtcgg tgctcgtcca gacgggccag ggtcatgtct 4020
ttccacgggc gcagggtcct cgtcagcgta gtctgggtca cggtgaaggg gtgcgctccg 4080
ggctgcgcgc tggccagggt gcgcttgagg ctggtcctgc tggtgctgaa gcgctgccgg 4140
tcttcgccct gcgcgtcggc caggtagcat ttgaccatgg tgtcatagtc cagcccctcc 4200
gcggcgtggc ccttggcgcg cagcttgccc ttggaggagg cgccgcacga ggggcagtgc 4260
agacttttga gggcgtagag cttgggcgcg agaaataccg attccgggga gtaggcatcc 4320
gcgccgcagg ccccgcagac ggtctcgcat tccacgagcc aggtgagctc tggccgttcg 4380
gggtcaaaaa ccaggtttcc cccatgcttt ttgatgcgtt tcttacctct ggtttccatg 4440
agccggtgtc cacgctcggt gacgaaaagg ctgtccgtgt ccccgtatac agacttgaga 4500
ggcctgtcct cgagcggtgt tccgcggtcc tcctcgtata gaaactcgga ccactctgag 4560
acaaaggctc gcgtccaggc cagcacgaag gaggctaagt gggaggggta gcggtcgttg 4620
tccactaggg ggtccactcg ctccagggtg tgaagacaca tgtcgccctc ttcggcatca 4680
aggaaggtga ttggtttgta ggtgtaggcc acgtgaccgg gtgttcctga agggggccta 4740
taaaaggggg tgggggcgcg ttcgtcctca ctctcttccg catcgctgtc tgcgagggcc 4800
agctgttggg gtgagtactc cctctgaaaa gcgggcatga cttctgcgct aagattgtca 4860
gtttccaaaa acgaggagga tttgatattc acctggcccg cggtgatgcc tttgagggtg 4920
gccgcatcca tctggtcaga aaagacaatc tttttgttgt caagcttggt ggcaaacgac 4980
ccgtagaggg cgttggacag caacttggcg atggagcgca gggtttggtt tttgtcgcga 5040
tcggcgcgct ccttggccgc gatgtttagc tgcacgtatt cgcgcgcaac gcaccgccat 5100
tcgggaaaga cggtggtgcg ctcgtcgggc accaggtgca cgcgccaacc gcggttgtgc 5160
agggtgacaa ggtcaacgct ggtggctacc tctccgcgta ggcgctcgtt ggtccagcag 5220
aggcggccgc ccttgcgcga gcagaatggc ggtagggggt ctagctgcgt ctcgtccggg 5280
gggtctgcgt ccacggtaaa gaccccgggc agcaggcgcg cgtcgaagta gtctatcttg 5340
catccttgca agtctagcgc ctgctgccat gcgcgggcgg caagcgcgcg ctcgtatggg 5400
ttgagtgggg gaccccatgg catggggtgg gtgagcgcgg aggcgtacat gccgcaaatg 5460
tcgtaaacgt agaggggctc tctgagtatt ccaagatatg tagggtagca tcttccaccg 5520
cggatgctgg cgcgcacgta atcgtatagt tcgtgcgagg gagcgaggag gtcgggaccg 5580
aggttgctac gggcgggctg ctctgctcgg aagactatct gcctgaagat ggcatgtgag 5640
ttggatgata tggttggacg ctggaagacg ttgaagctgg cgtctgtgag acctaccgcg 5700
tcacgcacga aggaggcgta ggagtcgcgc agcttgttga ccagctcggc ggtgacctgc 5760
acgtctaggg cgcagtagtc cagggtttcc ttgatgatgt catacttatc ctgtcccttt 5820
tttttccaca gctcgcggtt gaggacaaac tcttcgcggt ctttccagta ctcttggatc 5880
ggaaacccgt cggcctccga acggtaagag cctagcatgt agaactggtt gacggcctgg 5940
taggcgcagc atccctttтc tacgggtagc gcgtatgcct gcgcggcctt ccggagcgag 6000
gtgtgggtga gcgcaaaggt gtccctgacc atgactttga ggtactggta tttgaagtca 6060
gtgtcgtcgc atccgccctg ctcccagagc aaaaagtccg tgcgcttttt ggaacgcgga 6120
tttggcaggg cgaaggtgac atcgttgaag agtatctttc ccgcgcgagg cataaagttg 6180
cgtgtgatgc ggaagggtcc cggcacctcg gaacggttgt taattacctg ggcggcgagc 6240
acgatctcgt caaagccgtt gatgttgtgg cccacaatgt aaagttccaa gaagcgcggg 6300
atgcccttga tggaaggcaa ttttttaagt tcctcgtagg tgagctcttc aggggagctg 6360
agcccgtgct ctgaaagggc ccagtctgca agatgagggt tggaagcgac gaatgagctc 6420
cacaggtcac gggccattag catttgcagg tggtcgcgaa aggtcctaaa ctggcgacct 6480
atggccattt tttctggggt gatgcagtag aaggtaagcg ggtcttgttc ccagcggtcc 6540
catccaaggt tcgcggctag gtctcgcgcg gcagtcacta gaggctcatc tccgccgaac 6600
ttcatgacca gcatgaaggg cacgagctgc ttcccaaagg cccccatcca agtataggtc 6660
tctacatcgt aggtgacaaa gagacgctcg gtgcgaggat gcgagccgat cgggaagaac 6720
tggatctccc gccaccaatt ggaggagtgg ctattgatgt ggtgaaagta gaagtccctg 6780
cgacgggccg aacactcgtg ctggcttttg taaaaacgtg cgcagtactg gcagcggtgc 6840
acgggctgta catcctgcac gaggttgacc tgacgaccgc gcacaaggaa gcagagtggg 6900
aatttgagcc cctcgcctgg cgggtttggc tggtggtctt ctacttcggc tgcttgtcct 6960
tgaccgtctg gctgctcgag gggagttacg gtggatcgga ccaccacgcc gcgcgagccc 7020
aaagtccaga tgtccgcgcg cggcggtcgg agcttgatga caacatcgcg cagatgggag 7080
ctgtccatgg tctggagctc ccgcggcgtc aggtcaggcg ggagctcctg caggtttacc 7140
tcgcatagac gggtcagggc gcgggctaga tccaggtgat acctaatttc cagggctgg 7200
ttggtggcgg cgtcgatggc ttgcaagagg ccgcatcccc gcggcgcgac tacggtaccg 7260
cgcggcgggc ggtgggccgc gggggtgtcc ttggatgatg catctaaaag cggtgacgcg 7320
ggcgagcccc cggaggtagg gggggctccg gacccgccgg gagaggggcc aggggcacgt 7380
cggcgccgcg cgcgggcagg agctggtgct gcgcgcgtag gttgctggcg aacgcgacga 7440
cgcggcggtt gatctcctga atctggcgcc tctgcgtgaa gacgacgggc ccggtgagct 7500
tgagcctgaa agagagttcg acagaatcaa tttcggtgtc gttgacggcg gcctggcgca 7560
aaatctcctg cacgtctcct gagttgtctt gataggcgat ctcggccatg aactgctcga 7620
tctcttcctc ctggagatct ccgcgtccgg ctcgctccac ggtggcggcg aggtcgttgg 7680
aaatgcgggc catgagctgc gagaaggcgt tgaggcctcc ctcgttccag acgcggctgt 7740
agaccacgcc cccttcggca tcgcgggcgc gcatgaccac ctgcgcgaga ttgagctcca 7800
cgtgccgggc gaagacggcg tagtttcgca ggcgctgaaa gaggtagttg agggtggtgg 7860

cggtgtgttc tgccacgaag aagtacataa cccagcgtcg caacgtggat tcgttgatat 7920
cccccaaggc ctcaaggcgc tccatggcct cgtagaagtc cacggcgaag ttgaaaaact 7980
gggagttgcg cgccgacacg gttaactcct cctccagaag acggatgagc tcggcgacag 8040
tgtcgcgcac ctcgcgctca aaggctacag gggcctcttc ttcttcttca atctcctctt 8100
ccataagggc ctccccttct tcttcttctg gcggcggtgg gggaggggag acacggcggc 8160
gacgacggcg caccgggagg cggtcgacaa agcgctcgat catctccccg cggcgacggc 8220
gcatggtctc ggtgacggcg cggccgttct cgcgggggcg cagttggaag acgccgcccg 8280
tcatgtcccg gttatgggtt ggcgggggcg tgccatgcgg cagggatacg gcgctaacga 8340
tgcatctcaa caattgttgt gtaggtactc cgccgccgag ggacctgagc gagtccgcat 8400
cgaccggatc ggaaaacctc tcgagaaagg cgtctaacca gtcacagtcg caaggtaggc 8460
tgagcaccgt ggcgggcggc agcgggcggc ggtcggggtt gtttctggcg gaggtgctgc 8520
tgatgatgta attaaagtag gcggtcttga gacggcggat ggtcgacaga agcaccatgt 8580
ccttgggtcc ggcctgctga atgcgcaggc ggtcggccat gccccaggct tcgttttgac 8640
atcggcgcag gtctttgtag tagtcttgca tgagcctttc taccggcact tcttcttctc 8700
cttcctcttg tcctgcatct cttgcatcta tcgctgcggc ggcggcggag tttggccgta 8760
ggtggcgccc tcttcctccc atgcgtgtga ccccgaagcc cctcatcggc tgaagcaggg 8820
ctaggtcggc gacaacgcgc tcggctaata tggcctgctg cacctgcgtg agggtagact 8880
ggaagtcatc catgtccaca aagcggtggt atgcgcccgt gttgatggtg taagtgcagt 8940
tggccataac ggaccagtta acggtctggt gacccggctg cgagagctcg gtgtacctga 9000
gacgcgagta agccctcgag tcaaatacgt agtcgttgca agtccgcacc aggtactggt 9060
atcccaccaa aaagtgcggc ggcggctggc ggtagagggg ccagcgtagg gtggccgggg 9120
ctccgggggc gagatcttcc aacataaggc gatgatatcc gtagatgtac ctggacatcc 9180
aggtgatgcc ggcggcggtg gtggaggcgc gcggaaagtc gcggacgcgg ttccagatgt 9240
tgcgcagcgg caaaaagtgc tccatggtcg ggacgctctg gccggtcagg cgcgcgcaat 9300
cgttgacgct ctagaccgtg caaaaggaga gcctgtaagc gggcactctt ccgtggtctg 9360
gtggataaat tcgcaagggt atcatggcgg acgaccgggg ttcgagcccc gtatccggcc 9420
gtccgccgtg atccatgcgg ttaccgcccg cgtgtcgaac ccaggtgtgc gacgtcagac 9480
aacgggggag tgctcctttt ggcttccttc caggcgcggc ggctgctgcg ctagcttttt 9540
tggccactgg ccgcgcgcag cgtaagcggt taggctggaa agcgaaagca ttaagtggct 9600
cgctccctgt agccggaggg ttattttcca agggttgagt cgcgggaccc ccggttcgag 9660
tctcggaccg gccggactgc ggcgaacggg ggtttgcctc cccgtcatgc aagaccccgc 9720
ttgcaaattc ctccggaaac agggacgagc ccctttttttg cttttcccag atgcatccgg 9780
tgctgcggca gatgcgcccc cctcctcagc agcggcaaga gcaagagcag cggcagacat 9840
gcagggcacc ctcccctcct cctaccgcgt caggaggggc gacatccgcg gttgacgcgg 9900
cagcagatgg tgattacgaa cccccgcggc gccgggcccg gcactacctg gacttggagg 9960
agggcgaggg cctggcgcgg ctaggagcgc cctctcctga gcggtaccca agggtgcagc 10020
tgaagcgtga tacgcgtgag gcgtacgtgc cgcggcagaa cctgtttcgc gaccgcgagg 10080
gagaggagcc cgaggagatg cgggatcgaa agttccacgc agggcgcgag ctgcggcatg 10140
gcctgaatcg cgagcggttg ctgcgcgagg aggactttga gcccgacgcg cgaaccggga 10200
ttagtcccgc gcgcgcacac gtggcggccg ccgacctggt aaccgcatac gagcagacgg 10260
tgaaccagga gattaacttt caaaaaagct ttaacaacca cgtgcgtacg cttgtggcgc 10320
gcgaggaggt ggctatagga ctgatgcatc tgtgggactt tgtaagcgcg ctggagcaaa 10380
acccaaatag caagccgctc atggcgcagc tgttccttat agtgcagcac agcagggaca 10440
acgaggcatt cagggatgcg ctgctaaaca tagtagagcc cgagggccgc tggctgctcg 10500
atttgataaa catcctgcag agcatagtgg tgcaggagcg cagcttgagc ctggctgaca 10560
aggtggccgc catcaactat tccatgctta gcctgggcaa gttttacgcc cgcaagatat 10620
accatacccc ttacgttccc atagacaagg aggtaaagat cgaggggttc tacatgcgca 10680
tggcgctgaa ggtgcttacc ttgagcgacg acctgggcgt ttatcgcaac gagcgcatcc 10740
acaaggccgt gagcgtgagc cggcggcgcg agctcagcga ccgcgagctg atgcacagcc 10800
tgcaaagggc cctggctggc acgggcagcg gcgatagaga ggccgagtcc tactttgacg 10860
cgggcgctga cctgcgctgg gccccaagcc gacgcgccct ggaggcagct ggggccggac 10920
ctgggctggc ggtggcaccc gcgcgcgctg gcaacgtcgg cggcgtggag gaatatgacg 10980
aggacgatga gtacgagcca gaggacggcg agtactaagc ggtgatgttt ctgatcagat 11040
gatgcaagac gcaacggacc cggcggtgcg ggcggcgctg cagagccagc cgtccggcct 11100
taactccacg gacgactggc gccaggtcat ggaccgcatc atgtcgctga ctgcgcgcaa 11160
tcctgacgcg ttccggcagc agccgcaggc caaccggctc tccgcaattc tggaagcggt 11220
ggtcccggcg cgcgcaaacc ccacgcacga gaaggtgctg gcgatcgtaa acgcgctggc 11280
cgaaaacagg gccatccggc ccgacgaggc cggcctggtc tacgacgcgc tgcttcagcg 11340
cgtggctcgt tacaacagcg gcaacgtgca gaccaacctg gaccggctgg tgggggatgt 11400
gcgcgaggcc gtggcgcagc gtgagcgcgc gcagcagcag ggcaacctgg gctccatggt 11460
tgcactaaac gccttcctga gtacacagcc cgccaacgtg ccgcggggac aggaggacta 11520
caccaacttt gtgagcgcac tgcggctaat ggtgactgag acaccgcaaa gtgaggtgta 11580
ccagtctggg ccagactatt ttttccagac cagtagacaa ggcctgcaga ccgtaaacct 11640
gagccaggct ttcaaaaact tgcaggggct gtgggggtg cgggctccca caggcgaccg 11700
cgcgaccgtg tctagcttgc tgacgcccaa ctcgcgcctg ttgctgctgc taatagcgcc 11760
cttcacggac agtggcagcg tgtcccggga cacataccta ggtcacttgc tgacactgta 11820
ccgcgaggcc ataggtcagg cgcatgtgga cgagcatact ttccaggaga ttacaagtgt 11880
cagccgcgcg ctggggcagg aggacacggg cagcctggag gcaaccctaa actacctgct 11940
gaccaaccgg cggcagaaga tcccctcgtt gcacagttta aacagcgagg aggagcgcat 12000
tttgcgctac gtgcagcaga gcgtgagcct taacctgatg cgcgacgggg taacgcccag 12060
cgtggcgctg gacatgaccg cgcgcaacat ggaaccgggc atgtatgcct caaaccggcc 12120
gtttatcaac cgcctaatgg actacttgca tcgcgcggcc gccgtgaacc ccgagtattt 12180
caccaatgcc atcttgaacc cgcactggct accgcccccc ggtttctaca ccgggggatt 12240
cgaggtgccc gagggtaacg atggattcct ctgggacgac atagacgaca gcgtgttttc 12300
cccgcaaccg cagaccctgc tagagttgca acagcgcgag caggcagagg cggcgctgcg 12360
aaaggaaagc ttccgcaggc caagcagctt gtccgatcta ggcgctgcgg ccccgcggtc 12420
agatgctagt agcccatttc caagcttgat agggtctctt accagcactc gcaccacccg 12480
cccgcgcctg ctgggcgagg aggagtacct aaacaactcg ctgctgcagc cgcagcgcga 12540
aaaaaacctg cctccggcat ttcccaacaa cgggatagag agcctagtgg acaagatgag 12600

```
tagatggaag acgtacgcgc aggagcacag ggacgtgcca ggcccgcgcc cgcccacccg    12660
tcgtcaaagg cacgaccgtc agcggggtct ggtgtgggag gacgatgact cggcagacga    12720
cagcagcgtc ctggatttgg gagggagtgg caacccgttt gcgcaccttc gcccaggct     12780
ggggagaatg ttttaaaaaa aaaaaagcat gatgcaaaat aaaaaactca ccaaggccat    12840
ggcaccgagc gttggttttc ttgtattccc cttagtatgc ggcgcgcggc gatgtatgag    12900
gaaggtcctc ctccctccta cgagagtgtg gtgagcgcgg cgccagtggc ggcggcgctg    12960
ggttctccct tcgatgctcc cctggacccg ccgtttgtgc ctccgcggta cctgcggcct    13020
accgggggga gaaacagcat ccgttactct gagttggcac ccctattcga caccacccgt    13080
gtgtacctgg tggacaacaa gtcaacggat gtggcatccc tgaactacca gaacgaccac    13140
agcaactttc tgaccacggt cattcaaaac aatgactaca gcccgggga ggcaagcaca     13200
cagaccatca atcttgacga ccggtcgcac tggggcggcg acctgaaaac catcctgcat    13260
accaacatgc caaatgtgaa cgagttcatg tttaccaata agtttaaggc gcgggtgatg    13320
gtgtcgcgct tgcctactaa ggacaatcag gtggagctga aatacgagtg ggtggagttc    13380
acgctgcccg agggcaacta ctccgagacc atgaccatag accttatgaa caacgcgatc    13440
gtggagcact acttgaaagt gggcagacag aacggggttc tggaaagcga catcggggta    13500
aagtttgaca cccgcaactt cagactgggg tttgaccccg tcactggtct tgtcatgcct    13560
ggggtatata caaacgaagc cttccatcca gacatcattt tgctgccagg atgcggggtg    13620
gacttcaccc acagccgcct gagcaacttg ttgggcatcc gcaagcggca accttccag     13680
gagggcttta ggatcaccta cgatgatctg gagggtggta acattcccgc actgttggat    13740
gtggacgcct accaggcgag cttgaaagat gacaccgaac agggcggggg tggcgcaggc    13800
ggcagcaaca gcagtggcag cggcgcggaa gagaactcca acgcggcagc cgcggcaatg    13860
cagccggtgg aggacatgaa cgatcatgcc attcgcggcg acacctttgc cacacgggct    13920
gaggagaagc gcgctgaggc cgaagcagcg gccgaagctg ccgcccccgc tgcgcaaccc    13980
gaggtcgaga agcctcagaa gaaaccggtg atcaaacccc tgacagagga cagcaagaaa    14040
cgcagttaca acctaataag caatgacagc accttcaccc agtaccgcag ctggtacctt    14100
gcatacaact acggcgaccc tcagaccgga atccgctcat ggaccctgct ttgcactcct    14160
gacgtaacct gcggctcgga gcaggtctac tggtcgttgc cagacatgat gcaagacccc    14220
gtgaccttcc gctccacgcg ccagatcagc aactttccgg tggtgggcgc cgagctgttg    14280
cccgtgcact ccaagagctt ctacaacgac caggccgtct actcccaact catccgccag    14340
tttacctctc tgacccacgt gttcaatcgc tttcccgaga accagatttt ggcgcgcccg    14400
ccagccccca ccatcaccac cgtcagtgaa aacgttcctg ctctcacaga tcacgggacg    14460
ctaccgctgc gcaacagcat cggaggagtc cagcgagtga ccattactga cgccagacgc    14520
cgcacctgcc cctacgttta caaggccctg ggcatagtct cgccgcgcgt cctatcgagc    14580
cgcacttttt gagcaagcat gtccatcctt atatcgccca gcaataacac aggctggggc    14640
ctgcgcttcc caagcaagat gtttggcggg gccaagaagc gctccgacca acacccagtg    14700
cgcgtgcgcg ggcactaccg cgcgccctgg ggcgcgcaca aacgcggccg cactgggcgc    14760
accaccgtcg atgacgccat cgacgcggtg gtggaggagg cgcgcaacta cacgcccacg    14820
ccgccaccag tgtccacagt ggacgcggcc attcagaccg tggtgcgcgg agcccggcgc    14880
tatgctaaaa tgaagagacg gcggaggcgc gtagcacgtc gccaccgccg ccgacccggc    14940
actgccgccc aacgcgcggc ggcggccctg cttaaccgcg cacgtcgcac cggccgacgg    15000
gcggccatgc gggccgctcg aaggctggcc gcgggtattg tcactgtgcc ccccaggtcc    15060
aggcgacgag cggccgccgc agcagccgcg gccattagtg ctatgactca gggtcgcagg    15120
ggcaacgtgt attgggtgcg cgactcggtt agcggcctgc gcgtgcccgt gcgcacccgc    15180
cccccgcgca actagattgc aagaaaaaac tacttagact cgtactgttg tatgtatcca    15240
gcggcggcgg cgcgcaacga agctatgtcc aagcgcaaaa tcaaagaaga gatgctccag    15300
gtcatcgcgc cggagatcta tggccccccg aagaaggaag agcaggatta caagccccga    15360
aagctaaagc gggtcaaaaa gaaaaagaaa gatgatgatg atgaacttga cgacgaggtg    15420
gaactgctgc acgctaccgc gcccaggcga cgggtacagt ggaaaggtcg acgcgtaaaa    15480
cgtgttttgc gacccggcac caccgtagtc tttacgcccg gtgagcgctc cacccgcacc    15540
tacaagcgcg tgtatgatga ggtgtacggc gacgaggacc tgcttgagca ggccaacgag    15600
cgcctcgggg agtttgccta cggaaagcgg cataaggaca tgctggcgtt gccgctggac    15660
gagggcaacc caacacctag cctaaagccc gtaacactgc agcaggtgct gcccgcgctt    15720
gcaccgtccg aagaaaagcg cggcctaaag cgcgagtctg gtgacttggc acccaccgtg    15780
cagctgatgg tacccaagcg ccagcgactg gaagatgtct tggaaaaaat gaccgtggaa    15840
cctgggctgg agcccgaggt ccgcgtgcgg ccaatcaagc aggtggcgcc gggactgggc    15900
gtgcagaccg tggacgttca gatacccact accagtagca ccagtattgc caccgccaca    15960
gagggcatgg agacacaaac gtccccggtt gcctcagcgg tggcggatgc cgcggtgcag    16020
gcggtcgctg cggccgcgtc caagacctct acggaggtgc aaacggaccc gtggatgttt    16080
cgcgtttcag ccccccggcg cccgcgcggt tcgaggaagt acggcgccgc cagcgcgcta    16140
ctgcccgaat atgccctaca tccttccatt gcgcctaccc ccggctatcg tggctacacc    16200
taccgcccca gaagacgagc aactacccga cgccgaacca ccactggaac ccgccgccgc    16260
cgtcgccgtc gccagcccgt gctggccccg atttccgtgc gcagggtggc tcgcgaagga    16320
ggcaggaccc tggtgctgcc aacagcgcgc taccacccca gcatcgttta aaagccggtc    16380
tttgtggttc ttgcagatat ggccctcacc tgccgcctcc gtttcccggt gccgggattc    16440
cgaggaagaa tgcaccgtag gaggggcatg gccggccacg gcctgacggg cggcatgcgt    16500
cgtgcgcacc accggcggcg gcgcgcgtcg caccgtcgca tgcgcggcgg tatcctgccc    16560
ctccttattc cactgatcgc cgcggcgatt ggcgccgtgc ccggaattgc atccgtggcc    16620
ttgcaggcgc agagacactg attaaaaaca agttgcatgt ggaaaaatca aaataaaaag    16680
tctggactct cacgctcgct tggtcctgta actattttgt agaatggaag acatcaactt    16740
tgcgtctctg gccccgcgac acggctcgcg cccgttcatg ggaaactggc aagatatcgg    16800
caccagcaat atgagcggtg gcgccttcag ctggggctcg ctgtggagcg gcattaaaaa    16860
tttcggttcc accgttaaga actatggcag caaggcctgg aacagcagca caggccagat    16920
gctgagggat aagttgaaag agcaaaattt ccaacaaaag gtggtagatg gcctggcctc    16980
tggcattagc ggggtggtgg acctggccaa ccaggcagtg caaaataaga ttaacagtaa    17040
gcttgatccc cgccctcccg tagaggagcc tccaccggcc gtggagacag tgtctccaga    17100
ggggcgtggc gaaaagcgtc cgcgccccga cagggaagaa actctggtga cgcaaataga    17160
cgagcctccc tcgtacgagg aggcactaaa gcaaggcctg cccaccaccc gtcccatcgc    17220
gcccatggct accggagtgc tgggccagca cacacccgta acgctggacc tgcctccccc    17280
cgccgacacc cagcagaaac ctgtgctgcc aggcccgacc gccgttgttg taacccgtcc    17340
```

tagccgcgcg tccctgcgcc gcgccgccag cggtccgcga tcgttgcggc ccgtagccag 17400
tggcaactgg caaagcacac tgaacagcat cgtgggtctg ggggtgcaat ccctgaagcg 17460
ccgacgatgc ttctgaatag ctaacgtgtc gtatgtgtgt catgtatgcg tccatgtcgc 17520
cgccagagga gctgctgagc cgccgcgcgc ccgctttcca agatggctac cccttcgatg 17580
atgccgcagt ggtcttacat gcacatctcg ggccaggacg cctcggagta cctgagcccc 17640
gggctggtgc agtttgcccg cgccaccgag acgtacttca gcctgaataa caagtttaga 17700
aaccccacgg tggcgcctac gcacgacgtg accacagacc ggtcccagcg tttgacgctg 17760
cggttcatcc ctgtggaccg tgaggatact gcgtactcgt acaaggcgcg gttcacccta 17820
gctgtgggtg ataaccgtgt gctggacatg gcttccacgt actttgacat ccgcggcgtg 17880
ctggacaggg gccctacttt taagccctac tctggcactg cctacaacgc cctggctccc 17940
aagggtgccc caaatccttg cgaatgggat gaagctgcta ctgctcttga aataaaccta 18000
gaagaagagg acgatgacaa cgaagacgaa gtagacgagc aagctgagca gcaaaaaact 18060
cacgtatttg ggcaggcgcc ttattctggt ataaatatta caaaggaggg tattcaaata 18120
ggtgtcgaag gtcaaacacc taaatatgcc gataaaacat ttcaacctga acctcaaata 18180
ggagaatctc agtggtacga aactgaaatt aatcatgcag ctgggagagt ccttaaaaag 18240
actaccccaa tgaaaccatg ttacggttca tatgcaaaac ccacaaatga aaatggaggg 18300
caaggcattc ttgtaaagca acaaaatgga aagctagaaa gtcaagtgga aatgcaattt 18360
ttctcaacta ctgaggcgac cgcaggcaat ggtgataact tgactcctaa agtggtattg 18420
tacagtgaag atgtagatat agaaacccca gacactcata tttcttacat gcccactatt 18480
aaggaaggta actcacgaga actaatgggc caacaatcta tgcccaacag gcctaattac 18540
attgctttta gggacaattt tattggtcta atgtattaca acagcacggg taatatgggt 18600
gttctggcgg gccaagcatc gcagttgaat gctgttgtag atttgcaaga cagaaacaca 18660
gagctttcat accagctttt gcttgattcc attggtgata gaaccaggta cttttctatg 18720
tggaatcagg ctgttgacag ctatgatcca gatgttagaa ttattgaaaa tcatggaact 18780
gaagatgaac ttccaaatta ctgctttcca ctgggaggtg tgattaatac agagactctt 18840
accaaggtaa aacctaaaac aggtcaggaa aatggatggg aaaaagatgc tacagaattt 18900
tcagataaaa atgaaataag agttggaaat aattttgcca tggaaatcaa tctaaatgcc 18960
aacctgtgga gaaatttcct gtactccaac atagcgctgt atttgcccga caagctaaag 19020
tacagtcctt ccaacgtaaa aatttctgat aacccaaaca cctacgacta catgaacaag 19080
cgagtggtgg ctcccgggtt agtggactgc tacattaacc ttggagcacg ctggtccctt 19140
gactatatgg acaacgtcaa cccatttaac caccaccgca atgctggcct gcgctaccgc 19200
tcaatgttgc tgggcaatgg tcgctatgtg cccttccaca tccaggtgcc tcagaagttc 19260
tttgccatta aaaacctcct tctcctgccg ggctcataca cctacgagtg gaacttcagg 19320
aaggatgtta acatggttct gcagagctcc ctaggaaatg acctaagggt tgacggagcc 19380
agcattaagt ttgatagcat ttgcctttac gccaccttct tccccatggc ccacaacacc 19440
gcctccacgc ttgaggccat gcttagaaac gacaccaacg accagtcctt taacgactat 19500
ctctccgccg ccaacatgct ctaccctata cccgccaacg ctaccaacgt gcccatatcc 19560
atcccctccc gcaactgggc ggctttccgc ggctgggcct tcacgcgcct taagactaag 19620
gaaaccccat cactgggctc gggctacgac ccttattaca cctactctgg ctctataccc 19680
tacctagatg gaaccttta cctcaaccac acctttaaga aggtggccat tacctttgac 19740
tcttctgtca gctggcctgg caatgaccgc ctgcttaccc ccaacgagtt tgaaattaag 19800
cgctcagttg acggggaggg ttacaacgtt gcccagtgta acatgaccaa agactggttc 19860
ctggtacaaa tgctagctaa ctacaacatt ggctaccagg gcttctatat cccagagagc 19920
tacaaggacc gcatgtactc cttctttaga aacttccagc ccatgagccg tcaggtggtg 19980
gatgatacta aatacaagga ctaccaacag gtgggcatcc tacaccaaca caacaactct 20040
ggatttgttg gctaccttgc ccccaccatg cgcgaaggac aggcctaccc tgctaacttc 20100
ccctatccgc ttataggcaa gaccgcagtt gacagcatta cccagaaaaa gtttctttgc 20160
gatcgcaccc tttggcgcat cccattctcc agtaacttta tgtccatggg cgcactcaca 20220
gacctgggcc aaaaccttct ctacgccaac tccgcccacg cgctagacat gacttttgag 20280
gtggatccca tggacgagcc caccccttctt tatgttttgt ttgaagtctt tgacgtggtc 20340
cgtgtgcacc ggccgcaccg cggcgtcatc gaaaccgtgt acctgcgcac gcccttctcg 20400
gccggcaacg ccacaacata aagaagcaag caacatcaac aacagctgcc gccatgggct 20460
ccagtgagca ggaactgaaa gccattgtca aagatcttgg ttgtgggcca tatttttgg 20520
gcacctatga caagcgcttt ccaggctttg tttctccaca caagctcgcc tgcgccatag 20580
tcaatacggc cggtcgcgag actgggggcg tacactggat ggcctttgcc tggaacccgc 20640
actcaaaaac atgctacctc tttgagccct ttggcttttc tgaccagcga ctcaagcagg 20700
tttaccagtt tgagtacgag tcactcctgc gccgtagcgc cattgcttct tcccccgacc 20760
gctgtataac gctggaaaag tccacccaaa gcgtacaggg gcccaactcg gccgcctgtg 20820
gactattctg ctgcatgttt ctccacgcct ttgccaactg gccccaaact cccatggatc 20880
acaaccccac catgaacctt attaccgggg tacccaactc catgctcaac agtccccagg 20940
tacagcccac cctgcgtcgc aaccaggaac agctctacag cttcctggag cgccactcgc 21000
cctacttccg cagccacagt gcgcagatta ggagcgccac ttctttttgt cacttgaaaa 21060
acatgtaaaa ataatgtact agagacactt tcaataaagg caaatgcttt tatttgtaca 21120
ctctcgggtg attatttacc cccacccttg ccgtctgcgc cgtttaaaaa tcaaaggggt 21180
tctgccgcgc atcgctatgc gccactggca gggacacgtt gcgatactgg tgtttagtgc 21240
tccacttaaa ctcaggcaca accatccgcg gcagctcggt gaagttttca ctccacaggc 21300
tgcgcaccat caccaacgcg tttagcaggt cgggcgccga tatcttgaag tcgcagttgg 21360
ggcctccgcc ctgcgcgcgc gagttgcgat acacagggtt gcagcactgg aacactatca 21420
gcgccgggtg gtgcacgctg gccagcacgc tcttgtcgga gatcagatcc gcgtccaggt 21480
cctccgcgtt gctcagggcg aacggagtca actttggtag ctgccttccc aaaaagggcg 21540
cgtgcccagg ctttgagttg cactcgcacc gtagtggcat caaaaggtga ccgtgcccgg 21600
tctgggcgtt aggatacagc gcctgcataa aagccttgat ctgcttaaaa gccacctgag 21660
cctttgcgcc ttcagagaag aacatgccgc aagacttgcc ggaaaactga ttggccggac 21720
aggccgcgtc gtgcacgcag caccttgcgt cggtgttgga gatctgcacc acatttcggc 21780
cccaccggtt cttcacgatc ttggccttgc tagactgctc cttcagcgcg cgctgcccgt 21840
tttcgctcgt cacatccatt tcaatcacgt gctccttatt tatcataatg cttccgtgta 21900
gacacttaag ctcgccttcg atctcagcgc agcggtgcag ccacaacgcg cagcccgtgg 21960
gctcgtgatg cttgtaggtc acctctgcaa acgactgcag gtacgcctgc aggaatcgcc 22020
ccatcatcgt cacaaaggtc ttgttgctgg tgaaggtcag ctgcaacccg cggtgctcct 22080

cgttcagcca ggtcttgcat acggccgcca gagcttccac ttggtcaggc agtagtttga 22140
agttcgcctt tagatcgtta tccacgtggt acttgtccat cagcgcgcgc gcagcctcca 22200
tgccctctc ccacgcagac acgatcggca cactcagcgg gttcatcacc gtaatttcac 22260
tttccgcttc gctgggctct tcctcttcct cttgcgtccg cataccacgc gccactgggt 22320
cgtcttcatt cagccgccgc actgtgcgct tacctccttt gccatgcttg attagcaccg 22380
gtgggttgct gaaacccacc atttgtagcg ccacatcttc tctttcttcc tcgctgtcca 22440
cgattacctc tggtgatggc gggcgctcgg gcttgggaga agggcgcttc tttttcttct 22500
tgggcgcaat ggccaaatcc gccgccgagg tcgatggccg cgggctgggt gtgcgcggca 22560
ccagcgcgtc ttgtgatgag tcttcctcgt cctcggactc gatacgccgc ctcatccgct 22620
tttttggggg cgcccgggga ggcggcggcg acggggacgg ggacgacacg tcctccatgg 22680
ttgggggacg tcgcgccgca ccgcgtccgc gctcgggggt ggtttcgcgc tgctcctctt 22740
cccgactggc catttccttc tcctataggc agaaaaagat catggagtca gtcgagaaga 22800
aggacagcct aaccgccccc tctgagttcg ccaccaccgc ctccaccgat gccgccaacg 22860
cgcctaccac cttccccgtc gaggcacccc cgcttgagga ggaggaagtg attatcgagc 22920
aggacccagg ttttgtaagc gaagacgacg aggaccgctc agtaccaaca gaggataaaa 22980
agcaagacca ggacaacgca gaggcaaacg aggaacaagt cgggcggggg gacgaaaggc 23040
atggcgacta cctagatgtg ggagacgacg tgctgttgaa gcatctgcag cgccagtgcg 23100
ccattatctg cgacgcgttg caagagcgca gcgatgtgcc cctcgccata gcggatgtca 23160
gccttgccta cgaacgccac ctattctcac cgcgcgtacc ccccaaacgc caagaaaacg 23220
gcacatgcga gcccaacccg cgcctcaact tctaccccgt atttgccgtg ccagaggtgc 23280
ttgccaccta tcacatcttt ttccaaaact gcaagatacc cctatcctgc cgtgccaacc 23340
gcagccgagc ggacaagcag ctggccttgc ggcagggcgc tgtcatacct gatatcgcct 23400
cgctcaacga agtgccaaaa atctttgagg gtcttggacg cgacgagaag cgcgcggcaa 23460
acgctctgca acaggaaaac agcgaaaatg aaagtcactc tggagtgttg gtggaactcg 23520
agggtgacaa cgcgcgccta gccgtactaa aacgcagcat cgaggtcacc cactttgcct 23580
acccggcact taacctaccc cccaaggtca tgagcacagt catgagtgag ctgatcgtgc 23640
gccgtgcgca gcccctggag agggatgcaa atttgcaaga acaaacagag gagggcctac 23700
ccgcagttgg cgacgagcag ctagcgcgct ggcttcaaac gcgcgagcct gccgacttgg 23760
aggagcgacg caaactaatg atggccgcag tgctcgttac cgtggagctt gagtgcatgc 23820
agcggttctt tgctgacccg gagatgcagc gcaagctaga ggaaacattg cactacacct 23880
ttcgacaggg ctacgtacgc caggcctgca agatctccaa cgtggagctc tgcaacctgg 23940
tctcctacct tggaattttg cacgaaaacc gccttgggca aaacgtgctt cattccacgc 24000
tcaagggcga ggcgcgccgc gactacgtcc gcgactgcgt ttacttattt ctatgctaca 24060
cctggcagac ggccatgggc gtttggcagc agtgcttgga ggagtgcaac ctcaaggagc 24120
tgcagaaact gctaaagcaa aacttgaagg acctatggac ggccttcaac gagcgctccg 24180
tggccgcgca cctggcggac atcattttcc ccgaacgcct gcttaaaacc ctgcaacagg 24240
gtctgccaga cttcaccagt caaagcatgt tgcagaactt taggaacttt atcctagagc 24300
gctcaggaat cttgcccgcc acctgctgtg cacttcctag cgactttgtg cccattaagt 24360
accgcgaatg ccctccgccg ctttggggcc actgctacct tctgcagcta gccaactacc 24420
ttgcctacca ctctgacata atggaagacg tgagcggtga cggtctactg gagtgtcact 24480
gtcgctgcaa cctatgcacc ccgcaccgct ccctggtttg caattcgcag ctgcttaacg 24540
aaagtcaaat tatcggtacc tttgagctgc agggtccctc gcctgacgaa aagtccgcgg 24600
ctccggggtt gaaactcact ccggggctgt ggacgtcggc ttaccttcgc aaatttgtac 24660
ctgaggacta ccacgcccac gagattaggt tctacgaaga ccaatcccgc ccgccaaatg 24720
cggagcttac cgcctgcgtc attacccagg gccacattct tggccaattg caagccatca 24780
acaaagcccg ccaagagttt ctgctacgaa agggacgggg ggtttacttg gacccccagt 24840
ccggcgagga gctcaaccca atccccccgc cgccgcagcc ctatcagcag cagccgcggg 24900
cccttgcttc ccaggatggc acccaaaaag aagctgcagc tgccgccgcc acccacggac 24960
gaggaggaat actgggacag tcaggcagag gaggttttgg acgaggagga ggaggacatg 25020
atggaagact gggagagcct agacgaggaa gcttccgagg tcgaagaggt gtcagacgaa 25080
acaccgtcac cctcggtcgc attcccctcg ccggcgcccc agaaatcggc aaccggttcc 25140
agcatggcta caacctccgc tcctcaggcg ccgccggcac tgcccgttcg ccgacccaac 25200
cgtagatggg acaccactgg aaccagggcc ggtaagtcca agcagccgcc gccgttagcc 25260
caagagcaac aacagcgcca aggctaccgc tcatggcgcg ggcacaagaa cgccatagtt 25320
gcttgcttgc aagactgtgg gggcaacatc tccttcgccc gccgctttct tctctaccat 25380
cacggcgtgg ccttcccccg taacatcctg cattactacc gtcatctcta cagcccatac 25440
tgcaccggcg gcagcggcag cggcagcaac agcagcggcc acacagaagc aaaggcgacc 25500
ggatagcaag actctgacaa agcccaagaa atccacagcg gcggcagcag caggaggagg 25560
agcgctgcgt ctggcgccca acgaacccgt atcgacccgc gagcttagaa acaggatttt 25620
tcccactctg tatgctatat ttcaacagag caggggccaa gaacaagagc tgaaaataaa 25680
aaacaggtct ctgcgatccc tcacccgcag ctgcctgtat cacaaaagcg aagatcagct 25740
tcggcgcacg ctggaagacg cggaggctct cttcagtaaa tactgcgcgc tgactcttaa 25800
ggactagttt cgcgcccttt ctcaaattta agcgcgaaaa ctacgtcatc tccagcggcc 25860
acacccggcg ccagcacctg tcgtcagcgc cattatgagc aaggaaattc ccacgcccta 25920
catgtggagt taccagccac aaatgggact tgcggctgga gctgcccaag actactcaac 25980
ccgaataaac tacatgagcg cgggacccca catgatatcc cgggtcaacg gaatccgcgc 26040
ccaccgaaac cgaattctct tggaacaggc ggctattacc accacacctc gtaataacct 26100
taatccccgt agttggcccg ctgccctggt gtaccaggaa agtcccgctc ccaccactgt 26160
ggtacttccc agagacgccc aggccgaagt tcagatgact aactcagggg cgcagcttgc 26220
gggcggcttt cgtcacaggg tgcggtcgcc cgggcagggt ataactcacc tgacaatcag 26280
agggcgaggt attcagctca acgacgagtc ggtgagctcc tcgcttggtc tccgtccgga 26340
cgggacattt cagatcggcg gcgccggccg tccttcattc acgcctcgtc aggcaatcct 26400
aactctgcag acctcgtcct ctgagccgcg ctctggaggc attggaactc tgcaatttat 26460
tgaggagttt gtgccatcgg tctactttaa ccccttctcg ggacctcccg gccactatcc 26520
ggatcaattt attcctaact ttgacgcggt aaaggactcg gcggacggct acgactgaat 26580
gttaagtgga gaggcagagc aactgcgcct gaaacacctg gtccactgtc gccgccacaa 26640
gtgctttgcc cgcgactccg gtgagttttg ctactttgaa ttgcccgagg atcatatcga 26700
gggcccggcg cacggcgtcc ggcttaccgc ccagggagag cttgcccgta gcctgattcg 26760
ggagtttacc cagcgccccc tgctagttga gcgggacagg ggaccctgtg ttctcactgt 26820

gatttgcaac tgtcctaacc ttggattaca tcaagatctt tgttgccatc tctgtgctga 26880
gtataataaa tacagaaatt aaaatatact ggggctccta tcgccatcct gtaaacgcca 26940
ccgtcttcac ccgcccaagc aaaccaaggc gaaccttacc tggtactttt aacatctctc 27000
cctctgtgat ttacaacagt ttcaacccag acggagtgag tctacgagag aacctctccg 27060
agctcagcta ctccatcaga aaaaacacca ccctccttac ctgccgggaa cgtacgagtg 27120
cgtcaccggc cgctgcacca cacctaccgc ctgaccgtaa accagacttt ttccggacag 27180
acctcaataa ctctgtttac cagaacagga ggtgagctta gaaaaccctt agggtattag 27240
gccaaaggcg cagctactgt ggggtttatg aacaattcaa gcaactctac gggctattct 27300
aattcaggtt tctctagaaa tggacggaat tattacagag cagcgcctgc tagaaagacg 27360
cagggcagcg gccgagcaac agcgcatgaa tcaagagctc caagacatgg ttaacttgca 27420
ccagtgcaaa aggggtatct tttgtctggt aaagcaggcc aaagtcacct acgacagtaa 27480
taccaccgga caccgcctta gctacaagtt gccaaccaag cgtcagaaat tggtggtcat 27540
ggtgggagaa aagcccatta ccataactca gcactcggta gaaaccgaag gctgcattca 27600
ctcaccttgt caaggacctg aggatctctg cacccttatt aagaccctgt gcggtctcaa 27660
agatcttatt ccctttaact aataaaaaaa aataataaag catcacttac ttaaaatcag 27720
ttagcaaatt tctgtccagt ttattcagca gcacctcctt gccctcctcc cagctctggt 27780
attgcagctt cctcctggct gcaaactttc tccacaatct aaatggaatg tcagtttcct 27840
cctgttcctg tccatccgca cccactatct tcatgttgtt gcagatgaag cgcgcaagac 27900
cgtctgaaga taccttcaac cccgtgtatc catatgacac ggaaaccggt cctccaactg 27960
tgccttttct tactcctccc tttgtatccc ccaatgggtt tcaagagagt ccccctgggg 28020
tactctcttt gcgcctatcc gaacctctag ttacctccaa tggcatgctt gcgctcaaaa 28080
tgggcaacgg cctctctctg gacgaggccg gcaaccttac ctcccaaaat gtaaccactg 28140
tgagcccacc tctcaaaaaa accaagtcaa acataaacct ggaaatatct gcacccctca 28200
cagttacctc agaagcccta actgtggctg ccgccgcacc tctaatggtc gcgggcaaca 28260
cactcaccat gcaatcacag gccccgctaa ccgtgcacga ctccaaactt agcattgcca 28320
cccaaggacc cctcacagtg tcagaaggaa agctagccct gcaaacatca ggccccctca 28380
ccaccaccga tagcagtacc cttactatca ctgcctcacc ccctctaact actgccactg 28440
gtagcttggg cattgacttg aaagagccca tttatacaca aaatggaaaa ctaggactaa 28500
agtacggggc tcctttgcat gtaacagacg acctaaacac tttgaccgta gcaactggtc 28560
caggtgtgac tattaataat acttccttgc aaactaaagt tactggagcc ttgggttttg 28620
attcacaagg caatatgcaa cttaatgtag caggaggact aaggattgat tctcaaaaca 28680
gacgccttat acttgatgtt agttatccgt ttgatgctca aaaccaacta aatctaagac 28740
taggacaggg ccctcttttt ataaactcag cccacaactt ggatattaac tacaacaaag 28800
gcctttactt gtttacagct tcaaacaatt ccaaaaagct tgaggttaac ctaagcactg 28860
ccaaggggtt gatgtttgac gctacagcca tagccattaa tgcaggagat gggcttgaat 28920
ttggttcacc taatgcacca aacacaaatc ccctcaaaac aaaaattggc catggcctag 28980
aatttgattc aaacaaggct atggttccta aactaggaac tggccttagt tttgacagca 29040
caggtgccat tacagtagga aacaaaaata atgataagct aactttgtgg accacaccag 29100
ctccatctcc taactgtaga ctaaatgcag agaaagatgc taaactcact ttggtcttaa 29160
caaaatgtgg cagtcaaata cttgctacag tttcagtttt ggctgttaaa ggcagtttgg 29220
ctccaatatc tggaacagtt caaagtgctc atcttattat aagatttgac gaaaatggag 29280
tgctactaaa caattccttc ctggacccag aatattggaa ctttagaaat ggagatctta 29340
ctgaaggcac agcctataca aacgctgttg gatttatgcc taacctatca gcttatccaa 29400
aatctcacgg taaaactgcc aaaagtaaca ttgtcagtca agtttactta aacggagaca 29460
aaactaaacc tgtaacacta accattacac taaacggtac acaggaaaca ggagacacaa 29520
ctccaagtgc atactctatg tcattttcat gggactggtc tggccacaac tacattaatg 29580
aaatatttgc cacatcctct tacacttttt catacattgc ccaagaataa agaatcgttt 29640
gtgttatgtt tcaacgtgtt tatttttcaa ttgcagaaaa tttcgaatca tttttcattc 29700
agtagtatag ccccaccacc acatagctta tacagatcac cgtaccttaa tcaaactcac 29760
agaaccctag tattcaacct gccacctccc tcccaacaca cagagtacac agtcctttct 29820
ccccggctgg ccttaaaaag catcatatca tgggtaacag acatattctt aggtgttata 29880
ttccacacgg tttcctgtcg agccaaacgc tcatcagtga tattaataaa ctccccgggc 29940
agctcactta agttcatgtc gctgtccagc tgctgagcca caggctgctg tccaacttgc 30000
ggttgcttaa cgggcggcga aggagaagtc cacgcctaca tgggggtaga gtcataatcg 30060
tgcatcagga tagggcggtg gtgctgcagc agcgcgcgaa taaactgctg ccgccgccgc 30120
tccgtcctgc aggaatacaa catggcagtg gtctcctcag cgatgattcg caccgcccgc 30180
agcataaggc gccttgtcct ccgggcacag cagcgcaccc tgatctcact taaatcagca 30240
cagtaactgc agcacagcac cacaatattg ttcaaaatcc cacagtgcaa ggcgctgtat 30300
ccaaagctca tggcggggac cacagaaccc acgtggccat cataccacaa gcgcaggtag 30360
attaagtggc gacccctcat aaacacgctg gacataaaca ttacctcttt tggcatgttg 30420
taattcacca cctcccggta ccatataaac ctctgattaa acatggcgcc atccaccacc 30480
atcctaaacc agctggccaa aacctgcccg ccggctatac actgcaggga accgggactg 30540
gaacaatgac agtggagagc ccaggactcg taaccatgga tcatcatgct cgtcatgata 30600
tcaatgttgg cacaacacag gcacacgtgc atacacttcc tcaggattac aagctcctcc 30660
cgcgttagaa ccatatccca gggaacaacc cattcctgaa tcagcgtaaa tcccacactg 30720
cagggaagac ctcgcacgta actcacgttg tgcattgtca aagtgttaca ttcgggcagc 30780
agcggatgat cctccagtat ggtagcgcgg gtttctgtct caaaaggagg tagacgatcc 30840
ctactgtacg gagtgcgccg agacaaccga gatcgtgttg gtcgtagtgt catgccaaat 30900
ggaacgccgg acgtagtcat atttcctgaa gcaaaaccag gtgcgggcgt gacaaacaga 30960
tctgcgtctc cggtctcgcc gcttagatcg ctctgtgtag tagttgtagt atatccactc 31020
tctcaaagca tccaggcgcc ccctggcttc gggttctatg taaactcctt catgcgccgc 31080
tgccctgata acatccacca ccgcagaata agccacaccc agccaaccta cacattcgtt 31140
ctgcgagtca cacacgggag gagcgggaag agctggaaga accatgtttt ttttttatt 31200
ccaaaagatt atccaaaacc tcaaaatgaa gatctattaa gtgaacgcgc tcccctccgg 31260
tggcgtggtc aaactctaca gccaaagaac agataatggc atttgtaaga tgttgcacaa 31320
tggcttccaa aaggcaaacg gccctcacgt ccaagtggac gtaaaggcta aacccttcag 31380
ggtgaatctc ctctataaac attccagcac cttcaaccat gcccaaataa ttctcatctc 31440
gccaccttct caatatatct ctaagcaaat cccgaatatt aagtccggcc attgtaaaaa 31500
tctgctccag agcgccctcc accttcagcc tcaagcagcg aatcatgatt gcaaaaattc 31560

aggttcctca cagacctgta taagattcaa aagcggaaca ttaacaaaaa taccgcgatc 31620
ccgtaggtcc cttcgcaggg ccagctgaac ataatcgtgc aggtctgcac ggaccagcgc 31680
ggccacttcc ccgccaggaa ccttgacaaa agaacccaca ctgattatga cacgcatact 31740
cggagctatg ctaaccagcg tagccccgat gtaagctttg ttgcatgggc ggcgatataa 31800
aatgcaaggt gctgctcaaa aaatcaggca aagcctcgcg caaaaaagaa agcacatcgt 31860
agtcatgctc atgcagataa aggcaggtaa gctccggaac caccacagaa aaagacacca 31920
ttttttctctc aaacatgtct gcgggtttct gcataaacac aaaataaaat aacaaaaaaa 31980
catttaaaca ttagaagcct gtcttacaac aggaaaaaca acccttataa gcataagacg 32040
gactacggcc atgccggcgt gaccgtaaaa aaactggtca ccgtgattaa aaagcaccac 32100
cgacagctcc tcggtcatgt ccggagtcat aatgtaagac tcggtaaaca catcaggttg 32160
attcacatcg gtcagtgcta aaaagcgacc gaaatagccc gggggaatac atacccgcag 32220
gcgtagagac aacattacag cccccatagg aggtataaca aaattaatag gagagaaaaa 32280
cacataaaca cctgaaaaac cctcctgcct aggcaaaata gcaccctccc gctccagaac 32340
aacatacagc gcttccacag cggcagccat aacagtcagc cttaccagta aaaaagaaaa 32400
cctattaaaa aaacaccact cgacacggca ccagctcaat cagtcacagt gtaaaaaagg 32460
gccaagtgca gagcgagtat atataggact aaaaaatgac gtaacggtta aagtccacaa 32520
aaaacaccca gaaaaccgca cgcgaaccta cgcccagaaa cgaaagccaa aaaacccaca 32580
acttcctcaa atcgtcactt ccgttttccc acgttacgtc acttcccatt ttaagaaaac 32640
tacaattccc aacacataca agttactccg ccctaaaacc tacgtcaccc gccccgttcc 32700
cacgccccgc gccacgtcac aaactccacc ccctcattat catattggct tcaatccaaa 32760
ataaggtata ttattgatga tgttaattaa tttaaatccg catgcgatat cgagctctcc 32820
cgggaattcg gatctgcgac gcgaggctgg atggccttcc ccattatgat tcttctcgct 32880
tccggcggca tcgggatgcc cgcgttgcag gccatgctgt ccaggcaggt agatgacgac 32940
catcagggac agcttcacgg ccagcaaaag gccaggaacc gtaaaaaggc cgcgttgctg 33000
gcgtttttcc ataggctccg ccccccctgac gagcatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag 33060
aggtggcgaa acccgacagg actataaaga taccaggcgt ttcccccctgg aagctccctc 33120
gtgcgctctc ctgttccgac cctgccgctt accggatacc tgtccgcctt tctcccttcg 33180
ggaagcgtgg cgctttctca atgctcacgc tgtaggtatc tcagttcggt gtaggtcgtt 33240
cgctccaagc tgggctgtgt gcacgaaccc cccgttcagc ccgaccgctg cgccttatcc 33300
ggtaactatc gtcttgagtc caacccggta agacacgact tatcgccact ggcagcagcc 33360
actggtaaca ggattagcag agcgaggtat gtaggcggtg ctacagagtt cttgaagtgg 33420
tggcctaact acggctacac tagaaggaca gtatttggta tctgcgctct gctgaagcca 33480
gttaccttcg gaaaaagagt tggtagctct tgatccggca aacaaaccac cgctggtagc 33540
ggtggttttt ttgtttgcaa gcagcagatt acgcgcagaa aaaaaggatc tcaagaagat 33600
cctttgatct tttctacggg gtctgacgct cagtggaacg aaaactcacg ttaagggatt 33660
ttggtcatga gattatcaaa aaggatcttc acctagatcc ttttaaatca atctaaagta 33720
tatatgagta aacttggtct gacagttacc aatgcttaat cagtgaggca cctatctcag 33780
cgatctgtct atttcgttca tccatagttg cctgactccc cgtcgtgtag ataactacga 33840
tacgggaggg cttaccatct ggccccagtg ctgcaatgat accgcgagac ccacgctcac 33900
cggctccaga tttatcagca ataaaccagc cagccggaag ggccgagcgc agaagtggtc 33960
ctgcaacttt atccgcctcc atccagtcta ttaattgttg ccgggaagct agagtaagta 34020
gttcgccagt taatagtttg cgcaacgttg ttgccattgn tgcaggcatc gtggtgtcac 34080
gctcgtcgtt tggtatggct tcattcagct ccggttccca acgatcaagg cgagttacat 34140
gatcccccat gttgtgcaaa aaagcggtta gctccttcgg tcctccgatc gttgtcagaa 34200
gtaagttggc cgcagtgtta tcactcatgg ttatggcagc actgcataat tctcttactg 34260
tcatgccatc cgtaagatgc ttttctgtga ctggtgagta ctcaaccaag tcattctgag 34320
aatagtgtat gcggcgaccg agttgctctt gcccggcgtc aacacgggat aataccgcgc 34380
cacatagcag aactttaaaa gtgctcatca ttggaaaacg ttcttcgggg cgaaaactct 34440
caaggatctt accgctgttg agatccagtt cgatgtaacc cactcgtgca cccaactgat 34500
cttcagcatc ttttactttc accagcgttt ctgggtgagc aaaaacagga aggcaaaatg 34560
ccgcaaaaaa gggaataagg gcgacacgga aatgttgaat actcatactc ttcctttttc 34620
aatattattg aagcatttat cagggttatt gtctcatgag cggatacata tttgaatgta 34680
tttagaaaaa taaacaaata ggggttccgc gcacatttcc ccgaaaagtg ccacctgacg 34740
tctaagaaac cattattatc atgacattaa cctataaaaa taggcgtatc acgaggccct 34800
ttcgtcttca aggatccgaa ttcccgggag agctcgatat cgcatgcgga tttaaattaa 34860
ttaa 34864

<210> 31
<211> 46
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> PRRSV gp5a
<400> 31

```
Met Phe Lys Tyr Val Gly Glu Val Leu Asp Arg Val Leu Leu Leu Ala
1               5                  10                  15
Ile Ala Phe Phe Val Val Tyr Arg Ala Val Leu Ser Cys Cys Ala Arg
            20                  25                  30
Gln Arg Gln Gln Gln Gln Leu Ser Tyr Ser Val Asp Leu
        35                  40                  45
```

<210> 32
<211> 174
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VR2332 PRRSV M (protein nền)
<400> 32

```
Met Gly Ser Ser Leu Asp Asp Phe Cys His Asp Ser Thr Ala Pro Gln
1               5                  10                  15
Lys Val Leu Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Val Met Ile Tyr
```

```
            20                  25                  30
Ala Leu Lys Val Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Leu Leu
        35                  40                  45
Ile Phe Leu Asn Cys Ala Phe Thr Phe Gly Tyr Met Thr Phe Ala His
    50                  55                  60
Phe Gln Ser Thr Asn Lys Val Ala Leu Thr Met Gly Ala Val Val Ala
65                  70                  75                  80
Leu Leu Trp Gly Val Tyr Ser Ala Ile Glu Thr Trp Lys Phe Ile Thr
                85                  90                  95
Ser Arg Cys Arg Leu Cys Leu Leu Gly Arg Lys Tyr Ile Leu Ala Pro
            100                 105                 110
Ala His His Val Glu Ser Ala Ala Arg Phe His Pro Ile Ala Ala Asn
        115                 120                 125
Asp Asn His Ala Phe Val Val Arg Arg Pro Gly Ser Thr Thr Val Asn
    130                 135                 140
Gly Thr Leu Val Pro Gly Leu Lys Ser Leu Val Leu Gly Gly Arg Lys
145                 150                 155                 160
Ala Val Lys Gln Gly Val Val Asn Leu Val Lys Tyr Ala Lys
                165                 170
<210>  33
<211>  123
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  VR2332 PRRSV N (protein nucleocapsit)
<400>  33
Met Pro Asn Asn Asn Gly Lys Gln Gln Lys Arg Lys Lys Gly Asp Gly
1               5                   10                  15
Gln Pro Val Asn Gln Leu Cys Gln Met Leu Gly Lys Ile Ile Ala Gln
            20                  25                  30
Gln Asn Gln Ser Arg Gly Lys Gly Pro Gly Lys Lys Asn Lys Lys Lys
        35                  40                  45
Asn Pro Glu Lys Pro His Phe Pro Leu Ala Thr Glu Asp Asp Val Arg
    50                  55                  60
His His Phe Thr Pro Ser Glu Arg Gln Leu Cys Leu Ser Ser Ile Gln
65                  70                  75                  80
Thr Ala Phe Asn Gln Gly Ala Gly Thr Cys Thr Leu Ser Asp Ser Gly
                85                  90                  95
Arg Ile Ser Tyr Thr Val Glu Phe Ser Leu Pro Thr His His Thr Val
            100                 105                 110
Arg Leu Ile Arg Val Thr Ala Ser Pro Ser Ala
        115                 120
<210>  34
<211>  256
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  ABO40192.1 PRRSV gp2
<400>  34
Met Lys Trp Gly Leu Cys Lys Ala Phe Ser Thr Lys Leu Ala Asn Phe
1               5                   10                  15
Leu Trp Met Leu Ser Arg Asn Phe Trp Cys Pro Leu Leu Ile Ser Ser
            20                  25                  30
Tyr Phe Trp Pro Phe Cys Leu Ala Ser Gln Ser Gln Val Gly Trp Trp
        35                  40                  45
Ser Ser Val Ser Asp Trp Phe Ala Pro Arg Tyr Ser Val Arg Ala Leu
    50                  55                  60
Pro Phe Thr Leu Ser Asn Tyr Arg Arg Ser Tyr Glu Ala Phe Leu Ser
65                  70                  75                  80
Gln Cys Gln Val Asp Ile Pro Thr Trp Gly Thr Lys His Pro Leu Gly
                85                  90                  95
Met Phe Trp His His Lys Val Ser Thr Leu Ile Asp Glu Met Val Ser
            100                 105                 110
Arg Arg Met Tyr Arg Ile Met Glu Lys Ala Gly Gln Ala Ala Trp Lys
        115                 120                 125
Gln Val Val Ser Glu Ala Thr Leu Ser Arg Ile Ser Ser Leu Asp Val
    130                 135                 140
Val Ala His Phe Gln His Leu Ala Ala Ile Glu Ala Glu Thr Cys Lys
145                 150                 155                 160
Tyr Leu Ala Ser Arg Leu Pro Met Leu His Asn Leu Arg Met Thr Gly
                165                 170                 175
Ser Asn Val Thr Ile Val Tyr Asn Ser Thr Leu Glu Gln Val Val Ala
            180                 185                 190
Ile Phe Pro Thr Pro Gly Ser Arg Pro Lys Leu His Asp Phe Gln Gln
        195                 200                 205
Trp Leu Ile Ala Val His Ser Ser Ile Phe Ser Ser Val Ala Ala Ser
    210                 215                 220
Cys Thr Leu Phe Val Val Leu Trp Leu Arg Ile Pro Met Leu Arg Thr
225                 230                 235                 240
```

Val Phe Gly Phe His Trp Leu Gly Ala Ile Phe Leu Ser Asn Ser Gln
245 250 255

<210> 35
<211> 256
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> ACF93748.1 PRRSV gp2
<400> 35

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

<210> 36
<211> 256
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> AHA83141.1 PRRSV gp2
<400> 36

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

245 250 255

<210> 37
<211> 249
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CAA01838.1 Lelystad PRRSV gp2
<400> 37

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

Trp Pro Thr Ala Thr His His Ser Ser
245

<210> 38
<211> 256
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> AAE74522.1 gp2
<400> 38

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

245 250 255

<210> 39
<211> 249
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> AAB54503.1 PRRSV gp2
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (29)..(29)
<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (93)..(93)
<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (107)..(107)
<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên
<400> 39

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

<210> 40
<211> 254
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> AAE68461.1 PRRSV gp3
<400> 40

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

Ile Ser Ala Val Phe Gln Thr Tyr Tyr Gln His Gln Val Asp Gly Gly
165 170 175
Asn Trp Phe His Leu Glu Trp Leu Arg Pro Phe Phe Ser Ser Trp Leu
180 185 190
Val Leu Asn Val Ser Trp Phe Leu Arg Arg Ser Pro Ala Asn His Val
195 200 205
Ser Val Arg Val Leu Gln Thr Leu Arg Pro Thr Pro Pro Gln Arg Gln
210 215 220
Ala Leu Leu Ser Ser Lys Thr Ser Val Ala Leu Gly Ile Ala Thr Arg
225 230 235 240
Pro Leu Arg Arg Phe Ala Lys Ser Leu Ser Ala Val Arg Arg
245 250

<210> 41
<211> 254
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> AAQ51784.1 PRRSV gp3
<400> 41
Met Ala Asn Ser Cys Thr Phe Leu Tyr Ile Phe Leu Cys Cys Ser Phe
1 5 10 15
Leu Tyr Ser Phe Cys Cys Ala Val Val Ala Gly Ser Asn Ala Thr Tyr
20 25 30
Cys Phe Trp Phe Pro Leu Val Arg Gly Asn Phe Ser Phe Glu Leu Thr
35 40 45
Val Asn Tyr Thr Val Cys Pro Pro Cys Leu Thr Arg Gln Ala Ala Ala
50 55 60
Glu Ala Tyr Glu Pro Gly Arg Ser Leu Trp Cys Arg Ile Gly His Asp
65 70 75 80
Arg Cys Gly Glu Asp Asp His Asp Glu Leu Gly Phe Val Val Pro Ser
85 90 95
Gly Leu Ser Ser Glu Gly His Leu Thr Ser Ala Tyr Ala Trp Leu Ala
100 105 110
Ser Leu Ser Phe Ser Tyr Thr Ala Gln Phe His Pro Glu Ile Phe Gly
115 120 125
Ile Gly Asn Val Ser Arg Val Tyr Val Asp Ile Lys His Gln Phe Ile
130 135 140
Cys Ala Val His Asp Gly Gln Asn Thr Thr Leu Pro His His Asp Asn
145 150 155 160
Ile Ser Ala Val Leu Gln Thr Tyr Tyr Gln His Gln Val Asp Gly Gly
165 170 175
Asn Trp Phe His Leu Glu Trp Val Arg Pro Phe Phe Ser Ser Trp Leu
180 185 190
Val Leu Asn Val Ser Trp Phe Leu Arg Arg Ser Pro Ala Ser His Val
195 200 205
Ser Val Arg Val Phe Gln Thr Ser Arg Pro Thr Pro Pro Gln Arg Gln
210 215 220
Ala Leu Leu Ser Ser Lys Thr Ser Val Ala Leu Gly Ile Ala Thr Arg
225 230 235 240
Pro Leu Arg Arg Phe Ala Lys Ser Leu Ser Ala Ala Arg Arg
245 250

<210> 42
<211> 254
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> AAE74530.1 PRRSV gp3
<400> 42
Met Ala Asn Ser Cys Thr Phe Leu His Ile Leu Leu Cys Cys Ser Phe
1 5 10 15
Leu Tyr Ser Phe Cys Cys Val Val Val Thr Asp Ala Asn Ala Thr Phe
20 25 30
Cys Phe Trp Phe Pro Leu Val Arg Gly Asn Phe Ser Phe Glu Leu Met
35 40 45
Val Asn Tyr Thr Val Cys Pro Pro Cys Leu Thr Arg Gln Ala Ala Ala
50 55 60
Gln Ile Tyr Glu Pro Asn Arg Ser Leu Trp Cys Arg Ile Gly Asn Asp
65 70 75 80
Arg Cys Gly Glu Asp Asp His Asp Glu Leu Gly Phe Thr Val Pro Pro
85 90 95
Gly Leu Ser Lys Glu Val His Leu Thr Ser Val Tyr Ala Trp Leu Ala
100 105 110
Phe Leu Ser Phe Ser Tyr Thr Ala Gln Phe His Pro Glu Ile Phe Gly
115 120 125
Ile Gly Asn Val Ser Lys Val Tyr Val Asp Ile Asn His Gln Leu Ile
130 135 140
Cys Ala Val His Asp Gly Gln Asn Thr Thr Leu Pro Arg His Asp Asn
145 150 155 160
Ile Ser Ala Val Phe Gln Thr Tyr Tyr Gln His Gln Val Asp Gly Gly

```
                165                 170                 175
Asn Trp Phe His Leu Glu Trp Leu Arg Pro Phe Phe Ser Ser Trp Leu
            180                 185                 190
Val Leu Asn Val Ser Trp Phe Leu Arg Arg Ser Pro Ala Ser His Val
        195                 200                 205
Ser Val Arg Val Phe Gln Thr Ser Arg Pro Thr Pro Pro Arg Gln Gln
    210                 215                 220
Ile Ser Leu Ser Ser Arg Thr Ser Ala Ala Leu Gly Met Ala Thr Arg
225                 230                 235                 240
Pro Leu Arg Arg Phe Ala Lys Ser Leu Ser Ala Ala Arg Arg
                245                 250
<210>  43
<211>  265
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  CAA01839.1 PRRSV gp3
<400>  43
Met Ala His Gln Cys Ala Arg Phe His Phe Phe Leu Cys Gly Phe Ile
1               5                   10                  15
Cys Tyr Leu Val His Ser Ala Leu Ala Ser Asn Ser Ser Ser Thr Leu
            20                  25                  30
Cys Phe Trp Phe Pro Leu Ala His Gly Asn Thr Ser Phe Glu Leu Thr
        35                  40                  45
Ile Asn Tyr Thr Ile Cys Met Pro Cys Ser Thr Ser Gln Ala Ala Arg
    50                  55                  60
Gln Arg Leu Glu Pro Gly Arg Asn Met Trp Cys Lys Ile Gly His Asp
65                  70                  75                  80
Arg Cys Glu Glu Arg Asp His Asp Glu Leu Leu Met Ser Ile Pro Ser
                85                  90                  95
Gly Tyr Gly Gln Leu Lys Leu Glu Gly Tyr Tyr Ala Trp Leu Ala Phe
            100                 105                 110
Leu Ser Phe Ser Tyr Ala Ala Gln Phe His Pro Glu Leu Phe Gly Ile
        115                 120                 125
Gly Asn Val Ser Arg Val Phe Val Asp Lys Arg His Gln Phe Ile Cys
    130                 135                 140
Ala Glu His Asp Gly His Asn Ser Thr Val Ser Thr Gly His Asn Ile
145                 150                 155                 160
Ser Ala Leu Tyr Ala Ala Tyr Tyr His His Gln Ile Asp Gly Gly Asn
                165                 170                 175
Trp Phe His Leu Glu Trp Leu Arg Pro Leu Phe Ser Ser Trp Leu Val
            180                 185                 190
Leu Asn Ile Ser Trp Phe Leu Arg Arg Ser Pro Val Ser Pro Val Ser
        195                 200                 205
Arg Arg Ile Tyr Gln Ile Leu Arg Pro Thr Arg Pro Arg Leu Pro Val
    210                 215                 220
Ser Trp Ser Phe Arg Thr Ser Ile Val Ser Asp Leu Thr Gly Ser Gln
225                 230                 235                 240
Gln Arg Lys Arg Lys Phe Pro Ser Glu Ser Arg Pro Asn Val Val Lys
                245                 250                 255
Pro Ser Val Leu Pro Ser Thr Ser Arg
            260                 265
<210>  44
<211>  265
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  ABH73414.1 PRRSV gp3
<400>  44
Met Ala His Gln Cys Ala Arg Phe His Phe Phe Leu Cys Gly Phe Ile
1               5                   10                  15
Cys Tyr Phe Val His Ser Ala Leu Ala Ser Asn Ser Ser Ser Thr Leu
            20                  25                  30
Cys Phe Trp Phe Pro Leu Ala His Gly Asn Thr Ser Phe Glu Leu Thr
        35                  40                  45
Ile Asn Tyr Thr Val Cys Met Pro Cys Pro Thr Ser Gln Ala Ala Leu
    50                  55                  60
Gln Arg Leu Glu Pro Gly Arg Asn Met Trp Cys Lys Ile Gly His Asp
65                  70                  75                  80
Arg Cys Glu Glu Arg Asp Gln Asp Glu Leu Leu Met Ser Ile Pro Ser
                85                  90                  95
Gly Tyr Asp Asn Leu Lys Leu Glu Gly Tyr Tyr Ala Trp Leu Ala Phe
            100                 105                 110
Leu Ser Phe Ser Tyr Ala Ala Gln Phe His Pro Glu Leu Phe Gly Ile
        115                 120                 125
Gly Asn Val Ser Arg Val Phe Val Asp Lys Trp His Gln Phe Ile Cys
    130                 135                 140
Ala Glu His Asp Gly Ser Asn Ser Thr Val Ser Thr Gly His Asn Ile
145                 150                 155                 160
```

```
Ser Ala Leu Tyr Ala Ala Tyr Tyr His His Gln Ile Asp Gly Gly Asn
                165                 170                 175
Trp Phe His Leu Glu Trp Leu Arg Pro Phe Phe Ser Ser Trp Leu Val
            180                 185                 190
Leu Asn Ile Ser Trp Phe Leu Arg Arg Ser Pro Val Ser Pro Val Ser
        195                 200                 205
Arg Arg Ile Tyr Gln Ile Leu Arg Pro Thr Arg Pro Gln Leu Pro Val
    210                 215                 220
Ser Trp Ser Phe Arg Thr Ser Ile Val Ser Asp Leu Met Arg Ser Gln
225                 230                 235                 240
Gln Arg Lys Gly Lys Phe Pro Ser Gly Ser Arg Pro Asn Ala Val Lys
                245                 250                 255
Pro Ser Ala Leu Pro Asn Ile Ser Arg
            260                 265
<210>  45
<211>  254
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  AAE74526.1 PRRSV gp3
<400>  45
Met Ala Asn Ser Cys Thr Phe Leu Tyr Ile Phe Leu Cys Cys Ser Phe
1               5                   10                  15
Leu Tyr Ser Phe Cys Cys Ala Val Val Ala Gly Ser Asn Ala Thr Tyr
            20                  25                  30
Cys Phe Trp Phe Pro Leu Val Arg Gly Asn Phe Ser Phe Glu Leu Thr
        35                  40                  45
Val Asn Tyr Thr Val Cys Pro Pro Cys Leu Thr Arg Gln Ala Ala Thr
    50                  55                  60
Glu Ala Tyr Glu Pro Gly Arg Ser Leu Trp Cys Arg Ile Gly Tyr Asp
65                  70                  75                  80
Arg Cys Gly Glu Asp Asp His Asp Glu Leu Gly Phe Val Val Pro Ser
                85                  90                  95
Gly Leu Ser Ser Glu Gly His Leu Thr Ser Val Tyr Ala Trp Leu Ala
            100                 105                 110
Phe Leu Ser Phe Ser Tyr Thr Ala Gln Phe His Pro Glu Ile Phe Gly
        115                 120                 125
Ile Gly Asn Val Ser Gln Val Tyr Val Asp Ile Arg His Gln Phe Ile
    130                 135                 140
Cys Ala Val His Asp Gly Gln Asn Ala Thr Leu Pro Arg His Asp Asn
145                 150                 155                 160
Ile Ser Ala Val Phe Gln Thr Tyr Tyr Gln His Gln Val Asp Gly Gly
                165                 170                 175
Asn Trp Phe His Leu Glu Trp Leu Arg Pro Phe Phe Ser Ser Trp Leu
            180                 185                 190
Val Leu Asn Val Ser Trp Phe Leu Arg Arg Ser Pro Ala Ser His Val
        195                 200                 205
Ser Val Arg Val Leu Gln Thr Leu Arg Pro Thr Pro Pro Gln Arg Gln
    210                 215                 220
Ala Leu Leu Ser Ser Lys Thr Ser Val Ala Leu Gly Ile Ala Thr Arg
225                 230                 235                 240
Pro Leu Arg Arg Phe Ala Lys Ser Leu Ser Val Val Arg Arg
                245                 250
<210>  46
<211>  178
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  AAE74537.1 PRRSV gp4
<400>  46
Met Ala Ser Ser Leu Leu Phe Leu Met Val Gly Phe Lys Cys Leu Leu
1               5                   10                  15
Val Ser Gln Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Ser Ser Leu Ala
            20                  25                  30
Asp Ile Lys Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Ser Phe Ala Val Leu Gln
        35                  40                  45
Asp Ile Gly Cys Leu Arg His Arg Asp Ser Ala Ser Glu Ala Ile Arg
    50                  55                  60
Lys Ile Pro Gln Cys Arg Thr Ala Ile Gly Thr Pro Val Tyr Ile Thr
65                  70                  75                  80
Ile Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Asn Tyr Leu His Ser Ser Asp Leu
                85                  90                  95
Leu Met Leu Ser Ser Cys Leu Phe Tyr Ala Ser Glu Met Ser Glu Lys
            100                 105                 110
Gly Phe Lys Val Val Phe Gly Asn Val Ser Gly Ile Val Ala Val Cys
        115                 120                 125
Val Asn Phe Thr Ser Tyr Val Gln His Val Arg Glu Phe Thr Gln Arg
    130                 135                 140
Ser Leu Val Val Asp His Val Arg Leu Leu His Phe Met Thr Pro Glu
```

145 150 155 160
Thr Met Arg Trp Ala Thr Val Leu Ala Cys Leu Phe Ala Ile Leu Leu
165 170 175
Ala Ile
<210> 47
<211> 178
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> AAE74538.1 PRRSV gp4
<400> 47
Met Ala Ala Ser Leu Leu Phe Leu Met Val Gly Phe Lys Cys Leu Leu
1 5 10 15
Val Ser Gln Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Ser Ser Leu Ala
20 25 30
Asp Ile Lys Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Ser Phe Ala Val Leu Gln
35 40 45
Asp Ile Ser Cys Leu Arg His Arg Asn Ser Ala Ser Glu Ala Ile Arg
50 55 60

Lys Ile Pro Gln Cys Arg Thr Ala Ile Gly Thr Pro Met Tyr Ile Thr
65 70 75 80
Ile Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Asn Tyr Leu His Ser Ser Asp Leu
85 90 95
Leu Met Leu Ser Ser Cys Leu Phe Tyr Ala Ser Glu Met Ser Glu Lys
100 105 110
Gly Phe Glu Val Val Phe Gly Asn Val Ser Gly Ile Val Ala Val Cys
115 120 125
Val Asn Phe Thr Ser Tyr Val Gln His Val Arg Glu Phe Thr Gln Arg
130 135 140
Ser Leu Met Val Asp His Val Arg Leu Leu His Phe Met Thr Pro Glu
145 150 155 160
Thr Met Arg Trp Ala Thr Val Leu Ala Cys Leu Phe Ala Ile Leu Leu
165 170 175
Ala Ile
<210> 48
<211> 178
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> AAE74533.1 PRRSV gp4
<400> 48
Met Gly Ala Ser Leu Leu Phe Leu Leu Val Gly Phe Lys Cys Leu Leu
1 5 10 15
Val Ser Gln Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Ser Ser Leu Ser
20 25 30
Asp Ile Lys Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Gly Phe Ala Val Leu Gln
35 40 45
Asp Ile Ser Cys Leu Arg His Arg Asn Ser Ala Ser Glu Ala Ile Arg
50 55 60
Lys Val Pro Gln Cys Arg Thr Ala Ile Gly Thr Pro Val Tyr Ile Thr
65 70 75 80
Val Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Asn Tyr Leu His Ser Ser Asp Leu
85 90 95
Leu Met Leu Ser Ser Cys Leu Phe Tyr Ala Ser Glu Met Ser Glu Lys
100 105 110
Gly Phe Lys Val Val Phe Gly Asn Val Ser Gly Ile Val Ala Val Cys
115 120 125
Val Asn Phe Thr Ser Tyr Val Gln His Val Lys Glu Phe Thr Gln Arg
130 135 140
Ser Leu Val Val Asp His Val Arg Leu Leu His Phe Met Thr Pro Glu
145 150 155 160
Thr Met Arg Trp Ala Thr Val Leu Ala Cys Leu Phe Thr Ile Leu Leu
165 170 175
Ala Ile
<210> 49
<211> 183
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CAA01840.1 PRRSV gp4
<400> 49
Met Ala Ala Ala Thr Leu Phe Phe Leu Ala Gly Ala Gln His Ile Met
1 5 10 15
Val Ser Glu Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Thr His Leu Ser
20 25 30
Asp Ile Glu Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Gly Phe Met Val Leu Gln
35 40 45
Asp Ile Asn Cys Phe Arg Pro His Gly Val Ser Ala Ala Gln Glu Lys

```
    50                  55                  60
Ile Ser Phe Gly Lys Ser Ser Gln Cys Arg Glu Ala Val Gly Thr Pro
65                  70                  75                  80
Gln Tyr Ile Thr Ile Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Ser Tyr Leu Tyr
                85                  90                  95
Asn Ala Asp Leu Leu Met Leu Ser Ala Cys Leu Phe Tyr Ala Ser Glu
            100                 105                 110
Met Ser Glu Lys Gly Phe Lys Val Ile Phe Gly Asn Val Ser Gly Val
        115                 120                 125
Val Ser Ala Cys Val Asn Phe Thr Asp Tyr Val Ala His Val Thr Gln
    130                 135                 140
His Thr Gln Gln His His Leu Val Ile Asp His Ile Arg Leu Leu His
145                 150                 155                 160
Phe Leu Thr Pro Ser Ala Met Arg Trp Ala Thr Thr Ile Ala Cys Leu
                165                 170                 175
Phe Ala Ile Leu Leu Ala Ile
            180
<210>  50
<211>  183
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  ABH73415.1 PRRSV gp4
<400>  50
Met Ala Ala Ala Ile Leu Phe Leu Leu Ala Gly Ala Gln His Ile Met
1               5                   10                  15
Val Ser Glu Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Thr His Leu Ser
            20                  25                  30
Asp Ile Lys Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Gly Phe Met Val Leu Gln
        35                  40                  45
Asp Ile Asn Cys Phe Arg Pro His Glu Val Ser Ala Thr Gln Arg Glu
    50                  55                  60
Ile Pro Phe Arg Lys Ser Ser Gln Cys Arg Glu Ala Val Gly Thr Pro
65                  70                  75                  80
Gln Tyr Ile Thr Ile Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Ser Tyr Leu Tyr
                85                  90                  95
Asn Ala Asp Leu Leu Met Leu Ser Ala Cys Leu Phe Tyr Ala Ser Glu
            100                 105                 110
Met Ser Glu Lys Gly Phe Lys Val Ile Phe Gly Asn Val Ser Gly Val
        115                 120                 125
Val Ser Ala Cys Val Asn Phe Thr Asp Tyr Val Ala His Val Thr Gln
    130                 135                 140
His Thr Gln Gln His His Leu Val Ile Asp His Ile Arg Leu Leu His
145                 150                 155                 160
Phe Leu Thr Pro Ser Thr Met Arg Trp Ala Thr Thr Ile Ala Cys Leu
                165                 170                 175
Phe Ala Ile Leu Leu Ala Ile
            180
<210>  51
<211>  178
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  AAE68462.1 PRRSV gp4
<400>  51
Met Ala Ala Ser Leu Leu Phe Leu Met Val Gly Phe Lys Cys Leu Leu
1               5                   10                  15
Val Ser Gln Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Ser Ser Leu Ala
            20                  25                  30
Asp Ile Lys Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Ser Phe Ala Val Leu Gln
        35                  40                  45
Asp Ile Ser Cys Leu Arg His Arg Asn Ser Ala Ser Glu Ala Ile Arg
    50                  55                  60
Lys Ile Pro Gln Cys Arg Thr Ala Ile Gly Thr Pro Val Tyr Ile Thr
65                  70                  75                  80
Thr Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Asn Tyr Leu His Ser Ser Asp Leu
                85                  90                  95
Leu Met Leu Ser Ser Cys Leu Phe Tyr Ala Ser Glu Met Ser Glu Lys
            100                 105                 110
Gly Phe Lys Val Val Phe Gly Asn Val Ser Gly Ile Val Ala Val Cys
        115                 120                 125
Val Asn Phe Thr Ser Tyr Val Gln His Val Arg Glu Phe Thr Gln Arg
    130                 135                 140
Ser Leu Met Val Asp His Val Arg Leu Leu His Phe Met Thr Pro Glu
145                 150                 155                 160
Thr Met Arg Trp Ala Thr Val Leu Ala Cys Leu Phe Ala Ile Leu Leu
                165                 170                 175
Ala Ile
<210>  52
```

<211> 73
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> AGX46781.1 PRRSV E
<400> 52
Met Gly Ser Met Gln Ser Leu Phe Asp Lys Ile Gly Gln Leu Phe Val
1 5 10 15
Asp Ala Phe Thr Glu Phe Leu Val Ser Ile Val Asp Ile Ile Ile Phe
20 25 30
Leu Ala Ile Leu Phe Gly Phe Thr Ile Ala Gly Trp Leu Val Val Phe
35 40 45
Cys Ile Arg Leu Val Cys Ser Ala Ile Leu Arg Thr Arg Pro Ala Ile
50 55 60
His Pro Glu Gln Leu Gln Lys Ile Leu
65 70
<210> 53
<211> 73
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> AED17147.1 PRRSV E
<400> 53
Met Gly Ser Ile Gln Ser Leu Phe Asp Lys Ile Gly Gln Leu Phe Val
1 5 10 15
Asp Ala Phe Thr Glu Phe Leu Val Ser Ile Val Asp Ile Ile Ile Phe
20 25 30
Leu Ala Ile Leu Phe Gly Phe Thr Ile Ala Gly Trp Leu Val Val Phe
35 40 45
Cys Ile Arg Leu Val Cys Ser Ala Val Phe Arg Ala Arg Pro Ala Ile
50 55 60
His Pro Glu Gln Leu Gln Lys Ile Leu
65 70
<210> 54
<211> 73
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> AED17148.1 PRRSV E
<400> 54
Met Gly Ser Ile Gln Ser Leu Phe Asp Lys Ile Gly Gln Leu Phe Val
1 5 10 15
Asp Ala Phe Thr Glu Phe Leu Val Ser Ile Val Asp Ile Ile Ile Phe
20 25 30
Leu Ala Ile Leu Phe Gly Phe Thr Ile Ala Gly Trp Leu Val Val Phe
35 40 45
Cys Ile Arg Leu Val Ser Ser Ala Val Phe Arg Ala Arg Pro Ala Ile
50 55 60
His Pro Glu Gln Leu Gln Lys Ile Leu
65 70
<210> 55
<211> 69
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> AGX46783.1 PRRSV E
<400> 55
Met Gly Ser Met Gln Ser Leu Phe Asp Lys Ile Gly Gln Leu Phe Val
1 5 10 15
Asp Ala Phe Thr Glu Phe Leu Val Ser Ile Val Asp Ile Ile Ile Phe
20 25 30
Leu Ala Ile Leu Phe Gly Phe Thr Ile Ala Gly Trp Leu Val Val Phe
35 40 45
Cys Ile Arg Leu Val Cys Ser Ala Leu Arg Arg Pro Ala His Glu Gln
50 55 60
Leu Gln Lys Ile Leu
65
<210> 56
<211> 70
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> AED17156.1 PRRSV E
<400> 56
Met Gly Ser Leu Trp Ser Lys Ile Ser Gln Leu Phe Val Asp Ala Phe
1 5 10 15
Thr Glu Phe Leu Val Ser Val Val Asp Ile Ala Ile Phe Leu Ala Ile
20 25 30
Leu Phe Gly Phe Thr Val Ala Gly Trp Leu Leu Val Phe Leu Leu Arg

```
        35                  40                  45
Val Val Cys Ser Ala Leu Leu Arg Ser Arg Ser Ala Ile His Ser Pro
    50                  55                  60
Glu Leu Ser Lys Val Leu
65                  70
<210>  57
<211>  73
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  AIS76359.1 PRRSV E
<400>  57
Met Gly Ser Met Gln Ser Leu Phe Asp Lys Ile Gly Gln Leu Phe Val
1               5                   10                  15
Asp Ala Phe Thr Glu Phe Leu Val Ser Ile Val Asp Ile Ile Ile Phe
            20                  25                  30
Leu Ala Ile Leu Phe Gly Phe Thr Val Ala Gly Trp Leu Val Val Phe
        35                  40                  45
Cys Ile Arg Leu Val Phe Ser Ala Val Leu Arg Ala Arg Ser Thr Val
    50                  55                  60
His Pro Glu Gln Leu Gln Lys Ile Leu
65                  70
<210>  58
<211>  70
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  ABU49670.1 PRRSV E
<400>  58
Met Gly Ser Leu Trp Ser Lys Ile Ser Gln Leu Phe Val Asp Ala Phe
1               5                   10                  15
Thr Glu Phe Leu Val Ser Val Val Asp Ile Val Ile Phe Leu Ala Ile
            20                  25                  30
Leu Phe Gly Phe Thr Val Ala Gly Gly Leu Leu Val Phe Phe Leu Arg
        35                  40                  45
Val Val Cys Ser Ala Ile Leu Arg Ser Arg Ser Ala Ile His Ser Pro
    50                  55                  60
Glu Leu Ser Lys Ile Leu
65                  70
<210>  59
<211>  200
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  VR2332 PRRSV gp5
<400>  59
Met Leu Glu Lys Cys Leu Thr Ala Gly Cys Cys Ser Arg Leu Leu Ser
1               5                   10                  15
Leu Trp Cys Ile Val Pro Phe Cys Phe Ala Val Leu Ala Asn Ala Ser
            20                  25                  30
Asn Asp Ser Ser Ser His Leu Gln Leu Ile Tyr Asn Leu Thr Leu Cys
        35                  40                  45
Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ala Asn Lys Phe Asp Trp Ala Val
    50                  55                  60
Glu Ser Phe Val Ile Phe Pro Val Leu Thr His Ile Val Ser Tyr Gly
65                  70                  75                  80
Ala Leu Thr Thr Ser His Phe Leu Asp Thr Val Ala Leu Val Thr Val
                85                  90                  95
Ser Thr Ala Gly Phe Val His Gly Arg Tyr Val Leu Ser Ser Ile Tyr
            100                 105                 110
Ala Val Cys Ala Leu Ala Ala Leu Thr Cys Phe Val Ile Arg Phe Ala
        115                 120                 125
Lys Asn Cys Met Ser Trp Arg Tyr Ala Cys Thr Arg Tyr Thr Asn Phe
    130                 135                 140
Leu Leu Asp Thr Lys Gly Arg Leu Tyr Arg Trp Arg Ser Pro Val Ile
145                 150                 155                 160
Ile Glu Lys Arg Gly Lys Val Glu Val Glu Gly His Leu Ile Asp Leu
                165                 170                 175
Lys Arg Val Val Leu Asp Gly Ser Val Ala Thr Pro Ile Thr Arg Val
            180                 185                 190
Ser Ala Glu Gln Trp Gly Arg Pro
        195                 200
<210>  60
<211>  201
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  CAA01841.1 PRRSV gp5
<400>  60
```

```
Met Arg Cys Ser His Lys Leu Gly Arg Phe Leu Thr Pro His Ser Cys
1               5                  10                  15
Phe Trp Trp Leu Phe Leu Leu Cys Thr Gly Leu Ser Trp Ser Phe Ala
            20                  25                  30
Asp Gly Asn Gly Asp Ser Ser Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr
        35                  40                  45
Ile Cys Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ser Ser His Phe Gly Trp
    50                  55                  60
Ala Val Glu Thr Phe Val Leu Tyr Pro Val Ala Thr His Ile Leu Ser
65                  70                  75                  80
Leu Gly Phe Leu Thr Thr Ser His Phe Phe Asp Ala Leu Gly Leu Gly
                85                  90                  95
Ala Val Ser Thr Ala Gly Phe Val Gly Gly Arg Tyr Val Leu Cys Ser
            100                 105                 110
Val Tyr Gly Ala Cys Ala Phe Ala Ala Phe Val Cys Phe Val Ile Arg
        115                 120                 125
Ala Ala Lys Asn Cys Met Ala Cys Arg Tyr Ala Arg Thr Arg Phe Thr
    130                 135                 140
Asn Phe Ile Val Asp Asp Arg Gly Arg Val His Arg Trp Lys Ser Pro
145                 150                 155                 160
Ile Val Val Glu Lys Leu Gly Lys Ala Glu Val Asp Gly Asn Leu Val
                165                 170                 175
Thr Ile Lys His Val Val Leu Glu Gly Val Lys Ala Gln Pro Leu Thr
            180                 185                 190
Arg Thr Ser Ala Glu Gln Trp Glu Ala
        195                 200
<210>  61
<211>  200
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  ADA15222.1 PRRSV gp5
<400>  61
Met Leu Gly Lys Cys Leu Thr Ala Gly Cys Cys Ser Gln Leu Pro Phe
1               5                  10                  15
Leu Trp Cys Ile Val Pro Phe Cys Phe Ala Ala Leu Val Asn Ala Ser
            20                  25                  30
Ser Ser Ser Ser Ser Gln Leu Gln Ser Ile Tyr Asn Leu Thr Ile Cys
        35                  40                  45
Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Asn Lys Asn Phe Asp Trp Ala Val
    50                  55                  60
Glu Thr Phe Val Ile Phe Pro Val Leu Thr His Ile Val Ser Tyr Gly
65                  70                  75                  80
Ala Leu Thr Thr Ser His Phe Leu Asp Ala Val Gly Leu Ile Thr Val
                85                  90                  95
Ser Thr Ala Gly Tyr Tyr His Gly Arg Ser Val Leu Ser Ser Val Tyr
            100                 105                 110
Ala Val Cys Ala Leu Ala Ala Leu Ile Cys Phe Val Ile Arg Leu Thr
        115                 120                 125
Lys Asn Cys Met Ser Trp Arg Tyr Ser Cys Thr Arg Tyr Thr Asn Phe
    130                 135                 140
Leu Leu Asp Ser Lys Gly Lys Leu Tyr Arg Trp Arg Ser Pro Val Ile
145                 150                 155                 160
Ile Glu Lys Gly Gly Lys Val Glu Val Asp Gly His Leu Ile Asp Leu
                165                 170                 175
Lys Arg Val Val Leu Asp Gly Ser Ala Ala Thr Pro Val Thr Lys Val
            180                 185                 190
Ser Ala Glu Gln Trp Cys Arg Pro
        195                 200
<210>  62
<211>  46
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  AFS30909.1 PRRSV gp5a
<400>  62
Met Phe Lys Tyr Val Gly Glu Val Leu Asp Arg Val Leu Leu Leu Ala
1               5                  10                  15
Ile Ala Phe Phe Val Val Tyr Arg Ala Val Leu Ser Cys Cys Ala Arg
            20                  25                  30
Gln Arg Gln Gln Gln Gln Gln Leu Ser Tyr Ser Val Asp Leu
        35                  40                  45
<210>  63
<211>  51
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo
<220>
<223>  AGK45334.1 PRRSV gp5a
<400>  63
```

Met Phe Lys Tyr Val Gly Glu Leu Leu Asp Arg Gly Leu Leu Leu Ala
1 5 10 15
Ile Ala Phe Phe Val Val Tyr Arg Ala Val Leu Phe Tyr Cys Ala Arg
20 25 30
Gln Arg Gln Arg Lys Gln Gln Leu Leu Leu Pro Val Asp Leu Gln Leu
35 40 45
Asp Ala Met
50

<210> 64
<211> 51
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> AFU75332.1 PRRSV gp5a
<400> 64
Met Phe Lys Tyr Val Gly Glu Met Leu Asp Arg Gly Leu Leu Leu Ala
1 5 10 15
Ile Ala Phe Phe Val Val Tyr Arg Ala Val Leu Phe His Cys Ala Arg
20 25 30
Arg Arg Gln Arg Gln Gln Gln Leu Ser Ser Ala Ile Asp Leu Gln Leu
35 40 45
Asp Ala Met
50

<210> 65
<211> 46
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> AGW23843.1 PRRSV gp5a
<400> 65
Met Phe Lys Tyr Val Gly Glu Met Leu Asp Arg Gly Leu Leu Leu Thr
1 5 10 15
Ile Ala Phe Phe Val Val Tyr Arg Ala Val Leu Val Cys Cys Ala Arg
20 25 30
Gln Ser Arg Lys Arg Gln Gln Leu Pro Leu Thr Val Asp Ile
35 40 45

<210> 66
<211> 152
<212> PRT
<213> PRRSV VR2332
<400> 66
Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15
Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly
20 25 30
Gly Ser Ser Asn Asp Ser Ser Ser His Leu Gln Leu Ile Tyr Asn Leu
35 40 45
Thr Leu Cys Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ala Asn Lys Phe Asp
50 55 60
Trp Ala Val Glu Ser Phe Val Ile Phe Pro Val Leu Thr His Ile Val
65 70 75 80
Ser Tyr Gly Ala Leu Thr Thr Ser His Phe Leu Asp Thr Val Ala Leu
85 90 95
Val Thr Val Ser Thr Ala Gly Phe Val His Gly Arg Tyr Val Leu Ser
100 105 110
Ser Ile Tyr Ala Val Cys Ala Leu Ala Ala Leu Thr Cys Phe Val Ile
115 120 125
Arg Phe Ala Lys Leu Lys His Thr Lys Lys Arg Gln Ile Tyr Thr Asp
130 135 140
Ile Glu Met Asn Arg Leu Gly Lys
145 150

<210> 67
<211> 459
<212> ADN
<213> PRRSV VR2332
<400> 67
atggatgcta tgaaacgggg actgtgctgc gtgctgctgc tctgtggggc tgtcttcgtg 60
tcacctttctg attataagga cgatgacgat aaaggaggaa gtagcaatga cagctcctct 120
cacctgcagc tcatctacaa cctgaccctc tgcgagctga atggaacaga ctggctcgct 180
aacaagttcg attgggcagt ggaatccttc gtcatctttc ccgtgctgac tcacattgtg 240
agctatgggg ccctgaccac atcccatttc ctggatacag tggccctcgt gactgtctct 300
accgctggct ttgtccatgg acgctacgtg ctgtcaagta tctatgcagt ctgcgccctg 360
gccgctctca cctgtttcgt gattagattt gcaaagctga agcatacaaa gaagcggcag 420
atttacactg acattgagat gaatagactg ggcaaatga 459

<210> 68
<211> 155
<212> PRT
<213> PRRSV VR2332
<400> 68

```
Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1               5                  10                  15
Ala Val Phe Val Ser Pro Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Gly Ser Ser Leu Asp Asp Phe Cys His Asp Ser Thr Ala Pro
        35                  40                  45
Gln Lys Val Leu Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Val Met Ile
    50                  55                  60
Tyr Ala Leu Lys Val Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Leu
65                  70                  75                  80
Leu Ile Phe Leu Asn Cys Ala Phe Thr Phe Gly Tyr Met Thr Phe Ala
                85                  90                  95
His Phe Gln Ser Thr Asn Lys Val Ala Leu Thr Met Gly Ala Val Val
            100                 105                 110
Ala Leu Leu Trp Gly Val Tyr Ser Ala Ile Glu Thr Trp Lys Phe Ile
        115                 120                 125
Thr Ser Arg Cys Arg Leu Lys Leu Lys His Thr Lys Lys Arg Gln Ile
    130                 135                 140
Tyr Thr Asp Ile Glu Met Asn Arg Leu Gly Lys
145                 150                 155
<210>  69
<211>  468
<212>  ADN
<213>  PRRSV VR2332
<400>  69
atggatgcta tgaaacgggg actgtgctgc gtgctgctgc tctgtggggc tgtcttcgtg       60
tcaccttacc cctatgacgt gccagattac gcaggaggaa gtgggtcaag cctcgacgat      120
ttttgtcacg attcaacagc acctcagaaa gtcctcctcg ccttcagcat cacatacact      180
ccagtcatga tctacgccct gaaggtgagt aggggcagac tgctcggact gctccacctg      240
ctcattttcc tgaactgcgc attcactttt ggctatatga ccttcgccca ttttcagtcc      300
accaacaagg tggctctgac aatgggagca gtggtcgctc tgctctgggg ggtctacagc      360
gccatcgaga catggaagtt tattacttcc cgatgccgac tgaagctgaa gcatacaaag      420
aagcggcaga tttacactga cattgagatg aatagactgg gcaaatga                   468
<210>  70
<211>  747
<212>  ADN
<213>  PRRSV
<400>  70
atgcaatggg gtcactgtgg agtaaaatca gccagctgtt cgtggacgcc ttcactgagt       60
tccttgttag tgtggttgat attgccattt tccttgccat actgtttggg ttcaccgtcg      120
caggatggtt actggtcttt cttctcagag tggtttgctc cgcgcttctc cgttcgcgct      180
ctgccattca ctctcccgaa ctatcgaagg tcctatgaag gcttgttgcc caactgcaga      240
ccggatgtcc cacaatttgc agtcaagcac ccattgggta tgttttggca catgcgagtt      300
tcccacttga ttgatgagat ggtctctcgt cgcatttacc agaccatgga acattcaggt      360
caagcggcct ggaagcaggt ggttggtgag gccactctca cgaagctgtc agggctcgat      420
atagttactc atttccaaca cctggccgca gtggaggcgg attcttgccg ctttctcagc      480
tcacgactcg tgatgctaaa aaatcttgcc gttggcaatg tgagcctaca gtacaacacc      540
acgttggacc gcgttgagct catcttcccc acgccaggta cgaggcccaa gttgaccgat      600
ttcagacaat ggctcatcag tgtgcacgct tccatttttt cctctgtggc ttcatctgtt      660
accttgttca tagtgctttg gcttcgaatt ccagctctac gctatgtttt tggtttccat      720
tggcccacgg caacacatca ttcgagc                                          747
<210>  71
<211>  249
<212>  PRT
<213>  PRRSV
<400>  71
Met Gln Trp Gly His Cys Gly Val Lys Ser Ala Ser Cys Ser Trp Thr
1               5                  10                  15
Pro Ser Leu Ser Ser Leu Leu Val Trp Leu Ile Leu Pro Phe Ser Leu
            20                  25                  30
Pro Tyr Cys Leu Gly Ser Pro Ser Gln Asp Gly Tyr Trp Ser Phe Phe
        35                  40                  45
Ser Glu Trp Phe Ala Pro Arg Phe Ser Val Arg Ala Leu Pro Phe Thr
    50                  55                  60
Leu Pro Asn Tyr Arg Arg Ser Tyr Glu Gly Leu Leu Pro Asn Cys Arg
65                  70                  75                  80
Pro Asp Val Pro Gln Phe Ala Val Lys His Pro Leu Gly Met Phe Trp
                85                  90                  95
His Met Arg Val Ser His Leu Ile Asp Glu Met Val Ser Arg Arg Ile
            100                 105                 110
Tyr Gln Thr Met Glu His Ser Gly Gln Ala Ala Trp Lys Gln Val Val
        115                 120                 125
Gly Glu Ala Thr Leu Thr Lys Leu Ser Gly Leu Asp Ile Val Thr His
    130                 135                 140
Phe Gln His Leu Ala Ala Val Glu Ala Asp Ser Cys Arg Phe Leu Ser
145                 150                 155                 160
Ser Arg Leu Val Met Leu Lys Asn Leu Ala Val Gly Asn Val Ser Leu
                165                 170                 175
Gln Tyr Asn Thr Thr Leu Asp Arg Val Glu Leu Ile Phe Pro Thr Pro
```

```
            180                 185                 190
Gly Thr Arg Pro Lys Leu Thr Asp Phe Arg Gln Trp Leu Ile Ser Val
        195                 200                 205
His Ala Ser Ile Phe Ser Ser Val Ala Ser Ser Val Thr Leu Phe Ile
    210                 215                 220
Val Leu Trp Leu Arg Ile Pro Ala Leu Arg Tyr Val Phe Gly Phe His
225                 230                 235                 240
Trp Pro Thr Ala Thr His His Ser Ser
                245
<210>  72
<211>  795
<212>  ADN
<213>  PRRSV
<400>  72
atggctcatc agtgtgcacg cttccatttt ttcctctgtg gcttcatctg ttaccttgtt       60
catagtgctt tggcttcgaa ttccagctct acgctatgtt tttggtttcc attggcccac      120
ggcaacacat cattcgagct gaccatcaac tacaccatat gcatgccctg ttctaccagt      180
caagcggctc gccaaaggct cgagcccggt cgtaacatgt ggtgcaaaat agggcatgac      240
aggtgtgagg agcgtgacca tgatgagttg ttaatgtcca tcccgtccgg gtacgacaac      300
ctcaaacttg agggttatta tgcttggctg gctttttttgt ccttttccta cgcggcccaa      360
ttccatccgg agttgttcgg gatagggaat gtgtcgcgcg tcttcgtgga caagcgacac      420
cagttcattt gtgccgagca tgatggacac aattcaaccg tatctaccgg acacaacatc      480
tccgcattat atgcggcata ttaccaccac caaatagacg ggggcaattg gttccatttg      540
gaatggctgc ggccactctt ttcttcctgg ctggtgctca acatatcatg gtttctgagg      600
cgttcgcctg taagccctgt ttctcgacgc atctatcaga tattgagacc aacacgaccg      660
cggctgccgg tttcatggtc cttcaggaca tcaattgttt ccgacctcac ggggtctcag      720
cagcgcaaga gaaaatttcc ttcggaaagt cgtcccaatg tcgtgaagcc gtcggtactc      780
cccagtacat cacga                                                       795
<210>  73
<211>  158
<212>  PRT
<213>  PRRSV
<400>  73
Met Ala His Gln Cys Ala Arg Phe His Phe Phe Leu Cys Gly Phe Ile
1               5                   10                  15
Cys Tyr Leu Val His Ser Ala Leu Ala Ser Asn Ser Ser Ser Thr Leu
            20                  25                  30
Cys Phe Trp Phe Pro Leu Ala His Gly Asn Thr Ser Phe Glu Leu Thr
        35                  40                  45
Ile Asn Tyr Thr Ile Cys Met Pro Cys Ser Thr Ser Gln Ala Ala Arg
    50                  55                  60
Gln Arg Leu Glu Pro Gly Arg Asn Met Trp Cys Lys Ile Gly His Asp
65                  70                  75                  80
Arg Cys Glu Glu Arg Asp His Asp Glu Leu Leu Met Ser Ile Pro Ser
                85                  90                  95
Gly Tyr Asp Asn Leu Lys Leu Glu Gly Tyr Tyr Ala Trp Leu Ala Phe
            100                 105                 110
Leu Ser Phe Ser Tyr Ala Ala Gln Phe His Pro Glu Leu Phe Gly Ile
        115                 120                 125
Gly Asn Val Ser Arg Val Phe Val Asp Lys Arg His Gln Phe Ile Cys
    130                 135                 140
Ala Glu His Asp Gly His Asn Ser Thr Val Ser Thr Gly His
145                 150                 155
<210>  74
<211>  549
<212>  ADN
<213>  PRRSV
<400>  74
atggctgcgg ccactctttt cttcctggct ggtgctcaac atatcatggt ttctgaggcg       60
ttcgcctgta agccctgttt ctcgacgcat ctatcagata ttgagaccaa cacgaccgcg      120
gctgccggtt tcatggtcct tcaggacatc aattgtttcc gacctcacgg ggtctcagca      180
gcgcaagaga aaatttcctt cggaaagtcg tcccaatgtc gtgaagccgt cggtactccc      240
cagtacatca cgataacggc taacgtgacc gacgaatcat acttgtacaa cgcggacctg      300
ctgatgcttt ctgcgtgcct tttctacgcc tcagaaatga gcgagaaagg cttcaaagtc      360
atctttggga atgtctctgg cgttgtttct gcttgtgtca atttcacaga ttatgtggcc      420
catgtgaccc aacataccca gcagcatcat ctggtaattg atcacattcg gttgctgcat      480
ttcctgacac catctgcaat gaggtgggct acaaccattg cttgtttgtt cgccattctc      540
ttggcaata                                                              549
<210>  75
<211>  183
<212>  PRT
<213>  PRRSV
<400>  75
Met Ala Ala Ala Thr Leu Phe Phe Leu Ala Gly Ala Gln His Ile Met
1               5                   10                  15
Val Ser Glu Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Thr His Leu Ser
            20                  25                  30
Asp Ile Glu Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Gly Phe Met Val Leu Gln
        35                  40                  45
```

```
Asp Ile Asn Cys Phe Arg Pro His Gly Val Ser Ala Ala Gln Glu Lys
    50                  55                  60
Ile Ser Phe Gly Lys Ser Ser Gln Cys Arg Glu Ala Val Gly Thr Pro
65                  70                  75                  80
Gln Tyr Ile Thr Ile Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Ser Tyr Leu Tyr
                85                  90                  95
Asn Ala Asp Leu Leu Met Leu Ser Ala Cys Leu Phe Tyr Ala Ser Glu
            100                 105                 110
Met Ser Glu Lys Gly Phe Lys Val Ile Phe Gly Asn Val Ser Gly Val
        115                 120                 125
Val Ser Ala Cys Val Asn Phe Thr Asp Tyr Val Ala His Val Thr Gln
    130                 135                 140
His Thr Gln Gln His His Leu Val Ile Asp His Ile Arg Leu Leu His
145                 150                 155                 160
Phe Leu Thr Pro Ser Ala Met Arg Trp Ala Thr Thr Ile Ala Cys Leu
                165                 170                 175
Phe Ala Ile Leu Leu Ala Ile
            180
<210>  76
<211>  603
<212>  ADN
<213>  PRRSV
<400>  76
atgagatgtt ctcacaaatt ggggcgtttc ttgactccgc actcttgctt ctggtggctt      60
tttttgctgt gtaccggctt gtcctggtcc tttgccgatg gcaacggcga cagctcgaca     120
taccaataca tatataactt gacgatatgc gagctgaatg ggaccgactg gttgtccagc     180
cattttggtt gggcagtcga gacctttgtg ctttacccgg ttgccactca tatcctctca     240
ctgggttttc tcacaacaag ccatttttct gacgcgctcg gtctcggcgc tgtatccact     300
gcaggatttg ttggcgggcg gtacgtactc tgcagcgtct acggcgcttg tgctttcgca     360
gcgttcgtat gttttgtcat ccgtgctgct aaaaattgca tggcctgccg ctatgcccgt     420
acccggttta ccaacttcat tgtggacgac cggggagag ttcatcgatg gaagtctcca     480
atagtggtag aaaaattggg caaagccgaa gtcgatggca acctcgtcac catcaaacat     540
gtcgtcctcg aaggggttaa agctcaaccc ttgacgagga cttcggctga gcaatgggag     600
gcc                                                                  603
<210>  77
<211>  201
<212>  PRT
<213>  PRRSV
<400>  77
Met Arg Cys Ser His Lys Leu Gly Arg Phe Leu Thr Pro His Ser Cys
1               5                   10                  15
Phe Trp Trp Leu Phe Leu Leu Cys Thr Gly Leu Ser Trp Ser Phe Ala
            20                  25                  30
Asp Gly Asn Gly Asp Ser Ser Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr
        35                  40                  45
Ile Cys Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ser Ser His Phe Gly Trp
    50                  55                  60
Ala Val Glu Thr Phe Val Leu Tyr Pro Val Ala Thr His Ile Leu Ser
65                  70                  75                  80
Leu Gly Phe Leu Thr Thr Ser His Phe Phe Asp Ala Leu Gly Leu Gly
                85                  90                  95
Ala Val Ser Thr Ala Gly Phe Val Gly Gly Arg Tyr Val Leu Cys Ser
            100                 105                 110
Val Tyr Gly Ala Cys Ala Phe Ala Ala Phe Val Cys Phe Val Ile Arg
        115                 120                 125
Ala Ala Lys Asn Cys Met Ala Cys Arg Tyr Ala Arg Thr Arg Phe Thr
    130                 135                 140
Asn Phe Ile Val Asp Asp Arg Gly Arg Val His Arg Trp Lys Ser Pro
145                 150                 155                 160
Ile Val Val Glu Lys Leu Gly Lys Ala Glu Val Asp Gly Asn Leu Val
                165                 170                 175
Thr Ile Lys His Val Val Leu Glu Gly Val Lys Ala Gln Pro Leu Thr
            180                 185                 190
Arg Thr Ser Ala Glu Gln Trp Glu Ala
        195                 200
<210>  78
<211>  519
<212>  ADN
<213>  PRRSV
<400>  78
atgggaggcc tagacgattt ttgcaacgat cctatcgccg cacaaaagct cgtgctagcc      60
tttagcatca catacacacc tataatgata tacgccctta aggtgtcacg cggccgactc     120
ctggggctgt tgcacatcct aatatttctg aactgttcct ttacattcgg atacatgaca     180
tatgtgcatt ttcaatccac caaccgtgtc gcacttaccc tgggggctgt tgtcgccctt     240
ctgtggggtg tttacagctt cacagagtca tggaagttta tcacttccag atgcagattg     300
tgttgccttg gccggcgata cattctggcc cctgcccatc acgtagaaag tgctgcaggt     360
ctccattcaa tctcagcgtc tggtaaccga gcatacgctg tgagaaagcc cggactaaca     420
tcagtgaacg gcactctagt accaggactt cggagcctcg tgctgggcgg caaacgagct     480
gttaaacgag gagtggttaa cctcgtcaag tatggccgg                            519
```

<210> 79
<211> 173
<212> PRT
<213> PRRSV
<400> 79
Met Gly Gly Leu Asp Asp Phe Cys Asn Asp Pro Ile Ala Ala Gln Lys
1 5 10 15
Leu Val Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile Met Ile Tyr Ala
20 25 30
Leu Lys Val Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Ile Leu Ile
35 40 45
Phe Leu Asn Cys Ser Phe Thr Phe Gly Tyr Met Thr Tyr Val His Phe
50 55 60
Gln Ser Thr Asn Arg Val Ala Leu Thr Leu Gly Ala Val Val Ala Leu
65 70 75 80
Leu Trp Gly Val Tyr Ser Phe Thr Glu Ser Trp Lys Phe Ile Thr Ser
85 90 95
Arg Cys Arg Leu Cys Cys Leu Gly Arg Arg Tyr Ile Leu Ala Pro Ala
100 105 110
His His Val Glu Ser Ala Ala Gly Leu His Ser Ile Ser Ala Ser Gly
115 120 125
Asn Arg Ala Tyr Ala Val Arg Lys Pro Gly Leu Thr Ser Val Asn Gly
130 135 140
Thr Leu Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Val Leu Gly Gly Lys Arg Ala
145 150 155 160
Val Lys Arg Gly Val Val Asn Leu Val Lys Tyr Gly Arg
165 170

<210> 80
<211> 249
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 80
Met Gln Trp Gly His Cys Gly Val Lys Ser Ala Ser Cys Ser Trp Thr
1 5 10 15
Pro Ser Leu Ser Ser Leu Leu Val Trp Leu Ile Leu Ser Phe Ser Leu
20 25 30
Pro Tyr Cys Leu Gly Ser Pro Ser Gln Asp Gly Tyr Trp Ser Phe Phe
35 40 45
Ser Glu Trp Phe Ala Pro Arg Phe Ser Val Arg Ala Leu Pro Phe Thr
50 55 60
Leu Pro Asn Tyr Arg Arg Ser Tyr Glu Gly Leu Leu Pro Asn Cys Arg
65 70 75 80
Pro Asp Val Pro Gln Phe Ala Val Lys His Pro Leu Gly Met Phe Trp
85 90 95
His Met Arg Val Ser His Leu Ile Asp Glu Met Val Ser Arg Arg Ile
100 105 110
Tyr Gln Thr Met Glu His Ser Gly Gln Ala Ala Trp Lys Gln Val Val
115 120 125
Gly Glu Ala Thr Leu Thr Lys Leu Ser Gly Leu Asp Ile Val Thr His
130 135 140
Phe Gln His Leu Ala Ala Val Glu Ala Asp Ser Cys Arg Phe Leu Ser
145 150 155 160
Ser Arg Leu Val Met Leu Lys Asn Leu Ala Val Gly Asn Val Ser Leu
165 170 175
Gln Tyr Asn Thr Thr Leu Asp Arg Val Glu Leu Ile Phe Pro Thr Pro
180 185 190
Gly Thr Arg Pro Lys Leu Thr Asp Phe Arg Gln Trp Leu Val Ser Val
195 200 205
His Ala Ser Ile Phe Ser Ser Val Ala Ser Ser Val Thr Leu Phe Ile
210 215 220
Val Leu Trp Leu Arg Ile Pro Ala Leu Arg Tyr Val Phe Gly Phe His
225 230 235 240
Trp Pro Thr Ala Thr His His Ser Ser
245

<210> 81
<211> 249
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 81
Met Gln Trp Gly His Cys Gly Val Lys Ser Ala Ser Cys Ser Trp Thr
1 5 10 15
Pro Ser Leu Ser Ser Leu Leu Val Trp Leu Ile Leu Ser Phe Ser Leu
20 25 30
Pro Tyr Cys Leu Gly Ser Pro Ser Gln Asp Gly Tyr Trp Ser Phe Phe
35 40 45
Ser Glu Trp Phe Ala Pro Arg Phe Ser Val Arg Ala Leu Pro Phe Thr
50 55 60
Leu Pro Asn Tyr Arg Arg Ser Tyr Glu Gly Leu Leu Pro Asn Cys Arg
65 70 75 80

Pro Asp Val Pro Gln Phe Ala Phe Lys His Pro Leu Gly Met Leu Trp
85 90 95
His Met Arg Val Ser His Leu Ile Asp Glu Met Val Ser Arg Arg Ile
100 105 110
Tyr Gln Thr Met Glu His Ser Gly Gln Ala Ala Trp Lys Gln Val Val
115 120 125
Gly Glu Ala Thr Leu Thr Lys Leu Ser Gly Leu Asp Ile Val Thr His
130 135 140
Phe Gln His Leu Ala Ala Val Glu Ala Asp Ser Cys Arg Phe Leu Ser
145 150 155 160
Ser Arg Leu Val Met Leu Lys Asn Leu Ala Val Gly Asn Val Ser Leu
165 170 175
Gln Tyr Asn Thr Thr Leu Asp Arg Val Glu Leu Ile Phe Pro Thr Pro
180 185 190
Gly Thr Arg Pro Lys Leu Thr Asp Phe Arg Gln Trp Leu Ile Ser Val
195 200 205
His Ala Ser Ile Phe Ser Ser Val Ala Ser Ser Val Thr Leu Phe Ile
210 215 220
Val Leu Trp Leu Arg Ile Pro Ala Leu Arg Tyr Val Phe Gly Phe His
225 230 235 240
Trp Pro Thr Ala Thr His His Ser Ser
245

<210> 82
<211> 249
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 82
Met Gln Trp Gly His Cys Gly Val Lys Ser Ala Ser Cys Ser Trp Thr
1 5 10 15
Pro Ser Leu Ser Ser Leu Leu Val Trp Leu Ile Leu Ser Phe Ser Leu
20 25 30
Pro Tyr Cys Leu Gly Ser Pro Ser Gln Asp Gly Tyr Trp Ser Phe Phe
35 40 45
Ser Glu Trp Phe Ala Pro Arg Phe Ser Val Arg Ala Leu Pro Phe Thr
50 55 60
Leu Pro Asn Tyr Arg Arg Ser Tyr Glu Gly Leu Leu Pro Asn Cys Arg
65 70 75 80
Pro Asp Val Pro Gln Phe Ala Phe Lys His Pro Leu Gly Met Phe Trp
85 90 95
His Met Arg Val Ser His Leu Ile Asp Glu Met Val Ser Arg Arg Ile
100 105 110
Tyr Gln Thr Met Glu His Ser Gly Gln Ala Ala Trp Lys Gln Val Val
115 120 125
Gly Glu Ala Thr Leu Thr Lys Leu Ser Gly Leu Asp Ile Val Thr His
130 135 140
Phe Gln Tyr Leu Ala Ala Val Glu Ala Asp Ser Cys Arg Phe Leu Ser
145 150 155 160
Ser Arg Leu Val Met Leu Lys Asn Leu Ala Val Gly Asn Val Ser Leu
165 170 175
Gln Tyr Asn Thr Thr Leu Asp Arg Val Glu Leu Ile Phe Pro Thr Pro
180 185 190
Gly Thr Arg Pro Lys Leu Thr Asp Phe Arg Gln Trp Leu Val Ser Val
195 200 205
His Ala Ser Ile Phe Ser Ser Val Ala Ser Ser Val Thr Leu Phe Ile
210 215 220
Val Leu Trp Leu Arg Ile Pro Ala Leu Arg Tyr Val Phe Gly Phe His
225 230 235 240
Trp Pro Thr Ala Thr His His Ser Ser
245

<210> 83
<211> 249
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 83
Met Gln Trp Gly His Cys Gly Val Lys Ser Ala Ser Cys Ser Trp Thr
1 5 10 15
Pro Ser Leu Ser Ser Leu Leu Val Trp Leu Ile Leu Ser Phe Ser Leu
20 25 30
Pro Tyr Cys Leu Gly Ser Pro Ser Gln Asp Gly Tyr Trp Ser Phe Phe
35 40 45
Ser Glu Trp Phe Ala Pro Arg Phe Ser Val Arg Ala Leu Pro Phe Thr
50 55 60
Leu Pro Asn Tyr Arg Arg Ser Tyr Glu Gly Leu Leu Pro Asn Cys Arg
65 70 75 80
Pro Asp Val Pro Gln Phe Ala Val Lys His Pro Leu Gly Met Phe Trp
85 90 95
His Met Arg Val Ser His Leu Ile Asp Glu Met Val Ser Arg Arg Ile
100 105 110
Tyr Gln Thr Met Glu His Ser Gly Gln Ala Ala Trp Lys Gln Val Val

```
        115                 120                 125
Gly Glu Ala Thr Leu Thr Lys Leu Ser Gly Leu Asp Ile Val Thr His
    130                 135                 140
Phe Gln His Leu Ala Ala Val Glu Ala Asp Ser Cys Arg Phe Leu Ser
145                 150                 155                 160
Ser Arg Leu Val Met Leu Lys Asn Leu Ala Val Gly Asn Val Ser Leu
                165                 170                 175
Gln Tyr Asn Thr Thr Leu Asp Arg Val Glu Leu Ile Phe Pro Thr Pro
            180                 185                 190
Gly Thr Arg Pro Lys Leu Thr Asp Phe Arg Gln Trp Leu Ile Ser Val
        195                 200                 205
His Ala Ser Ile Phe Ser Ser Val Ala Ser Ser Val Thr Leu Phe Val
    210                 215                 220
Val Leu Trp Leu Arg Ile Pro Ile Leu Arg Tyr Val Phe Gly Phe His
225                 230                 235                 240
Trp Pro Thr Ala Thr His His Leu Ser
                245
```

<210> 84
<211> 249
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 84

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

<210> 85
<211> 249
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 85

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

```
Ser Arg Leu Val Met Leu Lys Asn Leu Ala Val Gly Asn Val Ser Leu
                165                 170                 175
Gln Tyr Asn Thr Thr Leu Asp Arg Val Glu Leu Ile Phe Pro Thr Pro
            180                 185                 190
Gly Thr Arg Pro Lys Leu Thr Asp Phe Arg Gln Trp Leu Ile Ser Val
        195                 200                 205
His Ala Ser Ile Phe Ser Ser Val Ala Ser Ser Val Thr Leu Phe Ile
    210                 215                 220
Val Leu Trp Leu Arg Ile Pro Ala Leu Arg Tyr Val Phe Gly Phe His
225                 230                 235                 240
Trp Pro Thr Ala Thr His His Ser Ser
                245
```

<210> 86
<211> 249
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV

```
<400> 86
Met Gln Trp Gly His Cys Gly Val Lys Leu Ala Ser Cys Ser Trp Thr
1               5                   10                  15
Pro Ser Leu Ser Ser Leu Leu Val Trp Leu Ile Leu Ser Phe Ser Leu
            20                  25                  30
Pro Tyr Cys Leu Gly Ser Pro Ser Gln Asp Gly Tyr Trp Ser Phe Phe
        35                  40                  45
Ser Glu Trp Phe Ala Pro Arg Phe Ser Val Arg Ala Leu Pro Phe Thr
    50                  55                  60
Leu Pro Asn Tyr Arg Arg Ser Tyr Glu Ser Leu Leu Pro Asn Cys Arg
65                  70                  75                  80
Pro Asp Val Pro Gln Phe Ala Val Lys His Pro Leu Gly Met Leu Trp
                85                  90                  95
His Met Arg Val Ser His Leu Ile Asp Glu Met Val Ser Arg Arg Ile
            100                 105                 110
Tyr Arg Thr Met Glu His Ser Gly Gln Ala Ala Trp Lys Gln Val Val
        115                 120                 125
Ser Glu Ala Thr Leu Thr Lys Leu Ser Gly Leu Asp Ile Val Thr His
    130                 135                 140
Phe Gln His Leu Ala Ala Val Glu Ala Asp Ser Cys Arg Phe Leu Ser
145                 150                 155                 160
Ser Arg Leu Val Met Leu Lys Asn Leu Ala Val Gly Asn Val Ser Leu
                165                 170                 175
Gln Tyr Asn Thr Thr Leu Asp His Val Glu Leu Ile Phe Pro Thr Pro
            180                 185                 190
Gly Thr Arg Pro Lys Leu Thr Asp Phe Arg Gln Trp Leu Ile Ser Val
        195                 200                 205
His Ala Ser Ile Phe Ser Ser Val Ala Ser Ser Val Thr Leu Phe Ile
    210                 215                 220
Val Phe Trp Leu Arg Ile Pro Ala Val Arg Tyr Val Phe Gly Phe His
225                 230                 235                 240
Trp Pro Thr Ala Thr His His Ser Ser
                245
```

<210> 87
<211> 249
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV

```
<400> 87
Met Gln Trp Gly His Cys Gly Val Lys Leu Ala Ser Cys Ser Trp Thr
1               5                   10                  15
Leu Ser Leu Asn Ser Leu Leu Val Trp Leu Ile Leu Ser Phe Ser Leu
            20                  25                  30
Pro Tyr Cys Leu Gly Ser Pro Ser Gln Asp Gly Tyr Trp Ser Phe Phe
        35                  40                  45
Ser Glu Trp Phe Ala Pro Arg Phe Ser Val Arg Ala Leu Pro Phe Thr
    50                  55                  60
Leu Pro Asn Tyr Arg Arg Ser Tyr Glu Gly Leu Leu Pro Asn Cys Lys
65                  70                  75                  80
Pro Asp Val Pro Gln Phe Ala Phe Lys His Pro Leu Gly Met Phe Trp
                85                  90                  95
His Met Arg Val Ser His Leu Ile Asp Glu Met Val Ser Arg Arg Ile
            100                 105                 110
Tyr Gln Thr Met Glu His Ser Gly Gln Ala Ala Trp Lys Gln Val Val
        115                 120                 125
Gly Glu Ala Thr Leu Thr Lys Leu Ser Arg Leu Asp Ile Val Thr His
    130                 135                 140
Phe Gln His Leu Ala Ala Val Glu Ala Asp Ser Cys Arg Phe Leu Ser
145                 150                 155                 160
Ser Arg Leu Val Met Leu Lys Asn Leu Val Val Gly Asn Val Ser Leu
                165                 170                 175
Gln Tyr Asn Thr Thr Leu Asp Arg Val Glu Leu Val Phe Pro Thr Pro
            180                 185                 190
Gly Ala Arg Pro Lys Leu Thr Asp Phe Arg Gln Trp Leu Val Ser Val
```

```
        195                 200                 205
His Ala Ser Ile Phe Ser Ser Val Thr Ser Ser Val Thr Leu Phe Ile
    210                 215                 220
Val Leu Trp Leu Arg Ile Pro Ala Leu Arg Tyr Val Phe Gly Phe His
225                 230                 235                 240
Trp Pro Thr Ala Thr His His Ser Ser
                245
<210>  88
<211>  249
<212>  PRT
<213>  Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400>  88
Met Gln Trp Gly His Cys Gly Val Lys Leu Ala Ser Cys Ser Trp Thr
1               5                   10                  15
Pro Ser Leu Ser Ser Ser Leu Val Trp Leu Ile Leu Leu Ser Ser Leu
            20                  25                  30
Pro Tyr Cys Leu Gly Ser Pro Ser Gln Asp Gly Tyr Trp Ser Phe Phe
        35                  40                  45
Ser Glu Trp Phe Ala Pro Arg Phe Ser Val Arg Ala Leu Pro Phe Thr
    50                  55                  60
Leu Pro Asn Tyr Arg Arg Ser Tyr Glu Ser Leu Leu Pro Asn Cys Arg
65                  70                  75                  80
Pro Asp Val Pro Gln Phe Ala Phe Lys His Pro Leu Gly Ile Leu Trp
                85                  90                  95
His Met Arg Val Ser His Leu Ile Asp Glu Met Val Ser Arg Arg Ile
            100                 105                 110
Tyr Arg Thr Met Glu His Ser Gly Gln Ala Ala Trp Lys Gln Val Val
        115                 120                 125
Ser Glu Ala Thr Leu Thr Lys Leu Ser Gly Leu Asp Ile Val Ala His
    130                 135                 140
Phe Gln His Leu Ala Ala Ala Glu Ala Asp Ser Cys Arg Phe Leu Ser
145                 150                 155                 160
Ser Arg Leu Val Met Leu Lys Asn Leu Ala Val Gly Asn Val Ser Leu
                165                 170                 175
Gln Tyr Asn Thr Thr Leu Asp Gln Val Glu Leu Ile Phe Pro Thr Pro
            180                 185                 190
Gly Thr Arg Pro Lys Leu Thr Asp Phe Arg Gln Trp Leu Ile Ser Val
        195                 200                 205
His Ala Ser Ile Phe Ser Ser Val Ala Ser Ser Val Thr Leu Phe Ile
    210                 215                 220
Val Phe Trp Leu Arg Ile Pro Ala Val Arg Tyr Val Phe Gly Phe His
225                 230                 235                 240
Trp Pro Thr Ala Thr Arg His Ser Ser
                245
<210>  89
<211>  249
<212>  PRT
<213>  Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400>  89
Met Gln Trp Gly His Tyr Gly Ala Lys Ser Ala Asn Cys Leu Trp Met
1               5                   10                  15
Pro Ser Leu Ser Ser Leu Leu Val Trp Leu Ile Ser Leu Phe Ser Leu
            20                  25                  30
Pro Tyr Cys Leu Gly Ser Arg Ser Gln Gly Gly Tyr Trp Ser Phe Phe
        35                  40                  45
Ser Gly Trp Phe Ala Pro Arg Phe Ser Val Arg Ala Leu Pro Phe Thr
    50                  55                  60
Leu Pro Asn Tyr Arg Lys Ser Tyr Glu Gly Leu Leu Pro Asn Cys Arg
65                  70                  75                  80
Pro Asp Val Pro Ser Phe Ala Phe Lys His Pro Leu Gly Met Phe Trp
                85                  90                  95
His Val Arg Val Ser His Leu Ile Asp Glu Met Val Ser Arg Arg Ile
            100                 105                 110
Tyr Gln Thr Met Glu His Ser Gly Gln Ala Ala Trp Lys Gln Val Val
        115                 120                 125
Ser Glu Ala Thr Leu Thr Arg Leu Ser Asp Leu Asp Ile Val Thr His
    130                 135                 140
Phe Gln His Leu Ala Ala Val Glu Ala Asp Ser Cys Arg Phe Leu Ser
145                 150                 155                 160
Ser Arg Leu Val Met Leu Lys Asn Leu Ala Val Gly Asn Val Ser Leu
                165                 170                 175
Gln Tyr Asn Thr Thr Leu Asp Arg Val Glu Leu Ile Phe Pro Thr Pro
            180                 185                 190
Gly Thr Arg Pro Lys Leu Thr Asp Phe Arg Gln Trp Leu Val Ser Val
        195                 200                 205
His Ala Ser Ile Phe Ser Ser Val Ala Ser Ser Val Thr Leu Phe Ile
    210                 215                 220
Val Leu Trp Leu Arg Ile Pro Thr Leu Arg Tyr Val Phe Gly Phe His
225                 230                 235                 240
```

Trp Pro Thr Ala Thr His His Ser Ser
245

<210> 90
<211> 265
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 90
Met Ala His Gln Cys Ala Arg Phe His Phe Phe Leu Cys Gly Phe Ile
1 5 10 15
Cys Tyr Leu Val His Ser Ala Leu Ala Ser Asn Ser Ser Ser Thr Leu
20 25 30
Cys Phe Trp Phe Pro Leu Ala His Gly Asn Thr Ser Phe Glu Leu Thr
35 40 45
Ile Asn Tyr Thr Ile Cys Met Pro Cys Ser Thr Ser Gln Ala Ala Arg
50 55 60
Gln Arg Leu Glu Pro Gly Arg Asn Met Trp Cys Lys Ile Gly His Asp
65 70 75 80
Arg Cys Glu Glu Arg Asp His Asp Glu Leu Leu Met Ser Ile Pro Ser
85 90 95
Gly Tyr Asp Asn Leu Lys Leu Glu Gly Tyr Tyr Ala Trp Leu Ala Phe
100 105 110
Leu Ser Phe Ser Tyr Ala Ala Gln Phe His Pro Glu Leu Phe Gly Ile
115 120 125
Gly Asn Val Ser Arg Val Phe Val Asp Lys Arg His Gln Phe Ile Cys
130 135 140
Ala Glu His Asp Gly His Asn Ser Thr Val Ser Thr Gly His Asn Ile
145 150 155 160
Ser Ala Leu Tyr Ala Ala Tyr Tyr His His Gln Ile Asp Gly Gly Asn
165 170 175
Trp Phe His Leu Glu Trp Leu Arg Pro Leu Phe Ser Ser Trp Leu Val
180 185 190
Leu Asn Ile Ser Trp Phe Leu Arg Arg Ser Pro Val Ser Pro Val Ser
195 200 205
Arg Arg Ile Tyr Gln Ile Leu Arg Pro Thr Arg Pro Arg Leu Pro Val
210 215 220
Ser Trp Ser Phe Arg Thr Ser Ile Val Ser Asp Leu Thr Gly Ser Gln
225 230 235 240
Gln Arg Lys Arg Lys Leu Pro Ser Glu Ser Arg Pro Asn Val Val Lys
245 250 255
Pro Ser Val Leu Pro Ser Thr Ser Arg
260 265

<210> 91
<211> 265
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 91
Met Ala His Gln Cys Ala Arg Phe His Phe Phe Leu Cys Gly Phe Ile
1 5 10 15
Cys Tyr Leu Val His Ser Ala Leu Ala Ser Asn Ser Ser Tyr Thr Leu
20 25 30
Cys Phe Trp Phe Pro Leu Ala His Gly Asn Thr Ser Phe Glu Leu Thr
35 40 45
Ile Asn Tyr Thr Ile Ser Met Pro Cys Ser Thr Ser Gln Ala Ala Arg
50 55 60
Gln Arg Leu Glu Pro Gly Arg Asn Met Trp Cys Lys Ile Gly His Asp
65 70 75 80
Arg Cys Glu Glu Arg Asp His Asp Glu Leu Leu Met Ser Ile Pro Ser
85 90 95
Gly Tyr Asp Asn Leu Lys Leu Glu Gly Tyr Tyr Ala Trp Leu Ala Phe
100 105 110
Leu Ser Phe Ser Tyr Ala Ala Gln Phe His Pro Glu Leu Phe Gly Ile
115 120 125
Gly Asn Val Ser Arg Val Phe Val Asp Lys Arg His Gln Phe Ile Cys
130 135 140
Ala Glu His Asp Gly Gln Gly Ser Thr Val Ser Thr Gly His Asn Ile
145 150 155 160
Ser Ala Leu Tyr Ala Ala Tyr Tyr His His Gln Ile Asp Gly Gly Asn
165 170 175
Trp Phe His Leu Glu Trp Leu Arg Pro Leu Phe Ser Ser Trp Leu Val
180 185 190
Leu Asn Ile Ser Trp Phe Leu Arg Arg Ser Pro Val Ser Pro Val Ser
195 200 205
Arg Arg Ile Tyr His Ile Leu Arg Pro Thr Arg Pro Arg Leu Pro Val
210 215 220
Ser Trp Ser Phe Arg Thr Ser Ile Val Ser Asp Leu Thr Gly Ser Gln
225 230 235 240
Gln Arg Lys Arg Lys Phe Pro Ser Glu Ser Arg Pro Asn Val Val Lys
245 250 255
Pro Ser Val Leu Pro Asn Thr Ser Arg

260 265

<210> 92
<211> 265
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 92

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

<210> 93
<211> 265
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 93

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

<210> 94
<211> 265
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 94
Met Ala His Gln Cys Ala Arg Phe His Phe Phe Leu Cys Gly Leu Ile
1 5 10 15
Arg Tyr Leu Val His Ser Ala Val Ala Ser Asn Ser Ser Ser Thr Leu
20 25 30
Cys Phe Trp Phe Pro Leu Ala His Gly Asn Thr Ser Phe Glu Leu Thr
35 40 45
Ile Asn Tyr Thr Ile Cys Met Pro Cys Ser Thr Ser His Ala Ala Arg
50 55 60
Gln Arg Leu Glu Pro Gly Arg Asn Met Trp Cys Lys Ile Gly His Asp
65 70 75 80
Arg Cys Glu Glu Arg Asp His Asp Glu Leu Leu Met Pro Ile Pro Pro
85 90 95
Gly Tyr Asp Asn Leu Lys Leu Glu Gly Tyr Tyr Ala Trp Leu Ala Phe
100 105 110
Leu Ser Phe Ser Tyr Ala Ala Gln Phe His Pro Glu Leu Phe Gly Ile
115 120 125
Gly Asn Val Ser Arg Val Phe Val Asp Lys Gln His Gln Phe Ile Cys
130 135 140
Ala Glu His Asp Gly Gln Asn Ser Thr Val Ser Thr Gly His Asn Ile
145 150 155 160
Ser Ala Leu Tyr Ala Ala Tyr Tyr His His Gln Ile Asp Gly Gly Asn
165 170 175
Trp Phe His Leu Glu Trp Leu Arg Pro Leu Phe Ser Ser Trp Leu Val
180 185 190
Leu Asn Ile Ser Trp Phe Leu Arg Arg Ser Pro Val Ser Pro Val Ser
195 200 205
Arg Arg Ile Tyr Gln Ile Leu Arg Gln Thr Arg Pro Arg Leu Pro Val
210 215 220
Ser Trp Ser Phe Arg Thr Ser Ile Val Ser Asp Leu Thr Arg Ser Gln
225 230 235 240
Gln Arg Lys Arg Lys Phe Pro Ser Glu Ser Arg Pro Asn Val Val Lys
245 250 255
Pro Ser Val Leu Pro Ser Thr Ser Arg
260 265

<210> 95
<211> 265
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<220>
<221> Trình tự lỗi
<222> (60)..(60)
<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên
<400> 95
Met Ala His Gln Cys Ala Arg Phe His Phe Phe Leu Cys Gly Phe Ile
1 5 10 15
Cys Tyr Leu Val His Ser Thr Leu Ala Ser Asn Ser Ser Phe Thr Leu
20 25 30
Cys Phe Trp Phe Pro Leu Ala His Gly Asn Thr Ser Phe Glu Leu Thr
35 40 45
Ile Asn Tyr Thr Ile Cys Met Pro Cys Ser Thr Xaa Gln Ala Ala His
50 55 60
Gln Arg Leu Glu Pro Gly Arg Asn Met Trp Cys Lys Ile Gly His Asp
65 70 75 80
Lys Cys Glu Glu Arg Asp His Asn Glu Leu Leu Met Pro Ile Pro Pro
85 90 95
Gly Tyr Asp Asn Leu Lys Leu Glu Gly Tyr Tyr Ala Trp Leu Ala Phe
100 105 110
Leu Ser Phe Ser Tyr Ala Ala Gln Phe His Pro Glu Leu Phe Gly Ile
115 120 125
Gly Asn Val Ser Arg Val Phe Val Asp Lys Arg His Gln Phe Ile Cys
130 135 140
Ala Glu His Asp Gly Leu Asn Ser Thr Val Ser Thr Gly His Asn Ile
145 150 155 160
Ser Ala Leu Tyr Ala Ala Tyr Tyr His His Gln Ile Asp Gly Gly Asn
165 170 175
Trp Phe His Leu Glu Trp Leu Arg Pro Leu Phe Ser Ser Trp Leu Val
180 185 190
Leu Asn Ile Ser Trp Phe Leu Arg Arg Ser Pro Val Ser Pro Val Ser
195 200 205
Arg Arg Ile Tyr Gln Ile Leu Arg Pro Thr Arg Pro Gln Leu Pro Val
210 215 220
Ser Trp Ser Phe Arg Thr Ser Ile Val Ser Asp Leu Thr Arg Tyr Gln
225 230 235 240
Gln Arg Lys Arg Lys Phe Pro Ser Glu Ser Arg Pro Asn Val Val Lys

245 250 255
Pro Ser Val Leu Pro Ser Thr Ser Arg
260 265

<210> 96
<211> 265
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 96
Met Ala His Gln Cys Ala Arg Phe His Phe Phe Leu Cys Gly Phe Ile
1 5 10 15
Cys Tyr Phe Val His Ser Ala Leu Ala Ser Asn Ser Ser Ser Thr Leu
20 25 30
Cys Phe Trp Phe Pro Leu Ala His Gly Asn Thr Ser Phe Glu Leu Thr
35 40 45
Ile Asn Tyr Thr Val Cys Met Pro Cys Pro Thr Ser Gln Ala Ala Leu
50 55 60
Gln Arg Leu Glu Pro Gly Arg Asn Met Trp Cys Lys Ile Gly His Asp
65 70 75 80
Arg Cys Glu Glu Arg Asp Gln Asp Glu Leu Leu Met Ser Ile Pro Ser
85 90 95
Gly Tyr Asp Asn Leu Lys Leu Glu Gly Tyr Tyr Ala Trp Leu Ala Phe
100 105 110
Leu Ser Phe Ser Tyr Ala Ala Gln Phe His Pro Glu Leu Phe Gly Ile
115 120 125
Gly Asn Val Ser Arg Val Phe Val Asp Lys Trp His Gln Phe Ile Cys
130 135 140
Ala Glu His Asp Gly Ser Asn Ser Thr Val Ser Thr Gly His Asn Ile
145 150 155 160
Ser Ala Leu Tyr Ala Ala Tyr Tyr His His Gln Ile Asp Gly Gly Asn
165 170 175
Trp Phe His Leu Glu Trp Leu Arg Pro Phe Phe Ser Ser Trp Leu Val
180 185 190
Leu Asn Ile Ser Trp Phe Leu Arg Arg Ser Pro Val Ser Pro Val Ser
195 200 205
Arg Arg Ile Tyr Gln Ile Leu Arg Pro Thr Arg Pro Gln Leu Pro Val
210 215 220
Ser Trp Ser Phe Arg Thr Ser Ile Val Ser Asp Leu Met Arg Ser Gln
225 230 235 240
Gln Arg Lys Gly Lys Phe Pro Ser Gly Ser Arg Pro Asn Ala Val Lys
245 250 255
Pro Ser Ala Leu Pro Asn Ile Ser Arg
260 265

<210> 97
<211> 261
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 97
Met Ala His Gln Cys Ala Arg Phe His Phe Phe Leu Cys Gly Phe Ile
1 5 10 15
Ser Tyr Leu Val His Ser Ala Leu Ala Ser Asn Ser Ser Ser Thr Leu
20 25 30
Cys Phe Trp Phe Pro Leu Ala His Gly Asn Thr Ser Phe Glu Leu Thr
35 40 45
Ile Asn Tyr Thr Ile Cys Met Pro Cys Leu Thr Ser Gln Ala Ala Gln
50 55 60
Gln Arg Leu Glu Pro Gly Arg Thr Met Trp Cys Lys Ile Gly His Thr
65 70 75 80
Thr Cys Glu Glu Arg Asp His Asp Glu Leu Ser Met Thr Ile Pro Ser
85 90 95
Gly Tyr Asp Asn Leu Lys Leu Glu Gly Tyr Tyr Ala Trp Leu Ala Phe
100 105 110
Leu Ser Phe Ser Tyr Ala Ala Gln Phe His Pro Glu Leu Phe Gly Ile
115 120 125
Gly Asn Val Ser Arg Val Phe Val Asp Lys Arg His Gln Phe Ile Cys
130 135 140
Ala Glu His Asp Gly Pro Asn Ser Thr Val Ser Ile Gly His Asn Ile
145 150 155 160
Ser Ala Leu Tyr Ala Ala Tyr Tyr His His Gln Ile Asp Gly Gly Asn
165 170 175
Trp Phe His Leu Glu Trp Leu Arg Pro Phe Phe Ser Ser Trp Leu Val
180 185 190
Leu Asn Ile Ser Trp Phe Leu Arg Arg Ser Pro Val Ser Pro Ala Ser
195 200 205
Arg Leu Ile Tyr Gln Ile Leu Arg Pro Thr Arg Pro Arg Leu Pro Val
210 215 220
Ser Trp Ser Phe Arg Thr Ser Ile Val Pro Gly Leu Thr Gly Pro Gln
225 230 235 240
Gln Arg Lys Arg Glu Ser Arg Leu Asn Val Val Lys Pro Leu Val Pro
245 250 255

Pro Ser Thr Ser Arg
260

<210> 98
<211> 260
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 98

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

<210> 99
<211> 265
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 99

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

260 265

<210> 100
<211> 183
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 100

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

<210> 101
<211> 183
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 101

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

<210> 102
<211> 183
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 102

Met Ala Ala Ala Thr Leu Phe Leu Leu Ala Gly Ala Gln Tyr Ile Met
1 5 10 15
Val Ser Glu Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Thr His Leu Ser
20 25 30
Asp Ile Glu Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Gly Phe Met Val Leu Gln
35 40 45
Asp Ile Asn Cys Leu Arg Pro His Gly Val Ser Ala Ala Gln Glu Glu
50 55 60
Ile Pro Phe Gly Lys Ser Ser Gln Cys Arg Glu Ala Val Gly Thr Pro
65 70 75 80
Gln Tyr Ile Thr Ile Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Ser Tyr Leu Tyr
85 90 95
Asn Ala Asp Leu Leu Met Leu Ser Ala Cys Leu Phe His Ala Ser Glu
100 105 110
Met Ser Glu Lys Gly Phe Lys Val Ile Phe Gly Asn Val Ser Gly Val

```
        115                 120                 125
Val Ser Ala Cys Val Asn Phe Thr Asp Tyr Val Ala His Val Thr Gln
    130                 135                 140
His Thr Gln Gln His His Leu Val Ile Asp His Ile Arg Leu Leu His
145                 150                 155                 160
Phe Leu Thr Pro Ser Ala Met Arg Trp Ala Thr Thr Ile Ala Cys Leu
                165                 170                 175
Phe Ala Ile Leu Leu Ala Ile
            180
<210>  103
<211>  183
<212>  PRT
<213>  Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400>  103
Met Ala Ala Ala Thr Leu Phe Leu Leu Ala Gly Ala Gln Tyr Ile Met
1               5                   10                  15
Val Ser Glu Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Thr His Leu Ser
            20                  25                  30
Asp Ile Glu Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Gly Phe Met Val Leu Gln
        35                  40                  45
Asp Ile Asn Cys Leu Arg Pro His Gly Val Ser Ala Ala Gln Glu Glu
    50                  55                  60
Ile Pro Phe Gly Lys Ser Ser Gln Cys Arg Glu Ala Val Gly Thr Pro
65                  70                  75                  80
Gln Tyr Ile Thr Ile Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Ser Tyr Leu Tyr
                85                  90                  95
Asn Ala Asp Leu Leu Met Leu Ser Ala Cys Leu Phe His Ala Ser Glu
            100                 105                 110
Met Ser Gly Lys Gly Phe Lys Val Ile Phe Trp Asn Val Ser Gly Val
        115                 120                 125
Val Ser Ala Cys Val Asn Phe Thr Asp Tyr Val Ala His Val Thr Gln
    130                 135                 140
His Thr Gln Gln His His Leu Val Ile Asp His Ile Arg Leu Leu His
145                 150                 155                 160
Phe Leu Thr Pro Ser Ala Met Arg Trp Ala Thr Thr Ile Ala Cys Leu
                165                 170                 175
Phe Ala Ile Leu Leu Ala Ile
            180
<210>  104
<211>  183
<212>  PRT
<213>  Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400>  104
Met Ala Ala Ala Thr Leu Phe Leu Leu Ala Gly Ala Gln Tyr Ile Met
1               5                   10                  15
Val Ser Glu Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Thr His Leu Ser
            20                  25                  30
Asp Ile Lys Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Gly Phe Met Val Leu Gln
        35                  40                  45
Asn Ile Asn Cys Leu Arg Pro His Gly Val Pro Ala Ala Gln Glu Lys
    50                  55                  60
Ile Pro Leu Glu Lys Ser Ser Gln Cys Arg Glu Ala Val Gly Thr Pro
65                  70                  75                  80
Gln Tyr Ile Thr Ile Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Ser Tyr Leu Tyr
                85                  90                  95
Asn Ala Asp Leu Leu Met Leu Ser Ala Cys Leu Phe Tyr Ala Ser Glu
            100                 105                 110
Met Ser Glu Lys Gly Phe Lys Val Ile Phe Gly Asn Val Ser Gly Val
        115                 120                 125
Val Ser Ala Cys Val Asn Phe Thr Asp Tyr Val Ala His Val Thr Gln
    130                 135                 140
His Thr Gln Gln His His Leu Val Ile Asp His Ile Arg Leu Pro His
145                 150                 155                 160
Phe Leu Thr Pro Ser Ala Met Arg Trp Ala Thr Thr Ile Ala Cys Leu
                165                 170                 175
Phe Ala Ile Leu Leu Ala Ile
            180
<210>  105
<211>  183
<212>  PRT
<213>  Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400>  105
Met Ala Ala Ala Ile Leu Phe Leu Leu Ala Gly Ala Gln His Ile Met
1               5                   10                  15
Val Ser Glu Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Thr His Leu Ser
            20                  25                  30
Asp Ile Lys Thr Asn Thr Thr Ala Ser Ala Gly Phe Met Val Leu Gln
        35                  40                  45
Asp Ile Asn Cys Phe Arg Leu His Gly Val Pro Ala Ala Gln Lys Thr
```

```
    50                  55                  60
Asn Ser Phe Gly Lys Pro Ser Gln Cys Arg Glu Ala Val Gly Thr Pro
65                  70                  75                  80
Gln Tyr Ile Thr Ile Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Ser Tyr Leu Tyr
                85                  90                  95
Asn Ala Asp Leu Leu Met Leu Ser Ala Cys Leu Phe Tyr Ala Ser Glu
            100                 105                 110
Met Ser Glu Lys Gly Phe Lys Val Ile Phe Gly Asn Val Ser Gly Val
        115                 120                 125
Val Ser Ala Cys Val Asn Phe Thr Asp Tyr Val Ala His Val Thr Gln
    130                 135                 140
His Thr Gln Gln His His Leu Val Ile Asp His Ile Arg Leu Leu His
145                 150                 155                 160
Phe Leu Thr Pro Ser Ala Met Arg Trp Ala Thr Thr Ile Ala Cys Leu
                165                 170                 175
Phe Ala Val Leu Leu Ala Ile
            180
<210>  106
<211>  183
<212>  PRT
<213>  Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400>  106
Met Ala Ala Ala Ile Leu Phe Leu Leu Ala Gly Ala Gln Tyr Leu Met
1               5                   10                  15
Val Ser Glu Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Thr His Leu Ser
            20                  25                  30
Asp Ile Lys Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Gly Phe Met Val Leu Gln
        35                  40                  45
Asp Ile Asn Cys Leu Arg Pro His Gly Val Ser Thr Ala Gln Glu Asn
    50                  55                  60
Ile Pro Phe Gly Lys Pro Ser Gln Cys Arg Glu Ala Val Gly Ile Pro
65                  70                  75                  80
Gln Tyr Ile Thr Ile Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Ser Tyr Leu Tyr
                85                  90                  95
Asn Ala Asp Leu Leu Met Leu Ser Ala Cys Leu Phe Tyr Ala Ser Glu
            100                 105                 110
Met Ser Glu Lys Gly Phe Lys Val Ile Phe Gly Asn Val Ser Gly Val
        115                 120                 125
Val Ser Ala Cys Val Asn Phe Thr Asp Tyr Val Ala His Val Ile Gln
    130                 135                 140
His Thr Gln Gln His His Leu Val Ile Asp His Ile Arg Leu Leu His
145                 150                 155                 160
Phe Leu Thr Pro Ser Thr Met Arg Trp Ala Thr Thr Ile Ala Cys Leu
                165                 170                 175
Phe Ala Ile Leu Leu Ala Ile
            180
<210>  107
<211>  183
<212>  PRT
<213>  Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400>  107
Met Ala Thr Ala Ile Leu Phe Leu Leu Ala Ser Ala Gln His Leu Val
1               5                   10                  15
Val Ser Glu Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Thr His Leu Ser
            20                  25                  30
Asn Ile Glu Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Gly Phe Leu Val Leu Gln
        35                  40                  45
Asp Ile Ser Cys Val Gln Leu Arg Gly Gly Gln Gln Thr Ser Gln Ser
    50                  55                  60
Val Thr His Gly Lys Pro Ser Gln Cys Arg Glu Ala Ile Gly Thr Pro
65                  70                  75                  80
Gln Tyr Ile Thr Ile Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Ser Tyr Leu Tyr
                85                  90                  95
Asn Ala Asp Leu Leu Met Leu Ser Ala Cys Leu Phe Tyr Ala Ser Glu
            100                 105                 110
Met Ser Glu Lys Gly Phe Lys Val Ile Phe Gly Asn Val Ser Gly Val
        115                 120                 125
Val Ser Ala Cys Ile Asn Phe Thr Asp Tyr Val Ala His Val Thr Gln
    130                 135                 140
His Thr Gln Gln His His Leu Ile Ile Asp His Val Arg Leu Leu His
145                 150                 155                 160
Phe Leu Thr Pro Ser Ala Met Arg Trp Val Thr Thr Ile Ala Cys Leu
                165                 170                 175
Phe Ala Ile Leu Leu Ala Ile
            180
<210>  108
<211>  183
<212>  PRT
<213>  Liên quan đến Lelystad PRRSV
```

<400> 108
Met Ala Ala Ala Phe Leu Phe Leu Leu Val Gly Ala Gln Tyr Phe Met
1 5 10 15
Val Ser Glu Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Thr His Leu Ser
20 25 30
Asp Ile Glu Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Gly Phe Met Val Leu Gln
35 40 45
Asp Ile Ser Cys Leu Arg Pro Tyr Gly Val Ser Ala Thr His Glu Asn
50 55 60
Ile Ser Phe Gly Lys Pro Ser Gln Cys Arg Glu Ala Val Gly Ile Pro
65 70 75 80
Gln Tyr Ile Thr Ile Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Ser Tyr Leu Tyr
85 90 95
Asn Ala Asp Leu Leu Met Leu Ser Ala Cys Leu Phe Tyr Ala Ser Glu
100 105 110
Met Ser Glu Lys Gly Phe Lys Val Ile Phe Gly Asn Val Ser Gly Val
115 120 125
Val Ser Ala Cys Val Asn Phe Thr Asp Tyr Val Ala His Val Ile Gln
130 135 140
His Thr Gln Gln His His Leu Val Ile Asp His Ile Arg Leu Leu His
145 150 155 160
Phe Leu Thr Pro Ser Thr Met Arg Trp Ala Thr Thr Ile Ala Cys Leu
165 170 175
Phe Ala Ile Leu Leu Ala Ile
180

<210> 109
<211> 183
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 109
Met Ala Thr Ala Val Leu Phe Leu Leu Ala Gly Ala Gln His Leu Met
1 5 10 15
Val Ser Glu Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Thr His Leu Ser
20 25 30
Asp Ile Lys Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Gly Phe Met Val Leu Gln
35 40 45
Asp Ile Asn Cys Leu Gln Pro Arg Gly Val Ser Ala Thr His Gly Ser
50 55 60
Ala Pro Phe Lys Lys Ser Ser Gln Cys Arg Glu Ala Val Gly Thr Pro
65 70 75 80
Gln Tyr Ile Thr Ile Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Ser Tyr Leu Tyr
85 90 95
Asn Ala Asp Leu Leu Met Leu Ser Ala Cys Leu Phe Tyr Ala Ser Glu
100 105 110
Met Ser Glu Lys Gly Phe Lys Val Ile Phe Gly Asn Val Ser Gly Val
115 120 125
Val Ser Ala Cys Val Asn Phe Thr Asp Tyr Val Ile His Val Thr Gln
130 135 140
His Thr Gln Gln His His Leu Ala Ile Asp His Ile Arg Leu Leu His
145 150 155 160
Phe Leu Thr Pro Ser Ala Met Arg Trp Ala Thr Thr Ile Ala Cys Leu
165 170 175
Phe Ala Ile Leu Leu Ala Ile
180

<210> 110
<211> 200
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 110
Met Arg Cys Ser His Lys Leu Gly Arg Phe Leu Thr Pro His Ser Cys
1 5 10 15
Phe Trp Trp Leu Phe Leu Leu Cys Thr Gly Leu Ser Trp Ser Phe Ala
20 25 30
Asp Gly Asn Gly Asn Ser Ser Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr
35 40 45
Ile Cys Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ser Ser His Phe Gly Trp
50 55 60
Ala Val Glu Thr Phe Val Phe Tyr Pro Val Ala Thr His Ile Leu Ser
65 70 75 80
Leu Gly Phe Leu Thr Thr Ser His Phe Phe Asp Ala Leu Gly Leu Gly
85 90 95
Ala Val Ser Thr Ala Gly Phe Val Gly Gly Arg Tyr Val Leu Cys Ser
100 105 110
Val Tyr Gly Ala Cys Ala Phe Ala Ala Phe Val Cys Phe Val Ile Arg
115 120 125
Ala Ala Lys Asn Cys Met Ala Cys Arg Tyr Ala Arg Thr Arg Phe Thr
130 135 140
Asn Phe Ile Val Asp Asp Arg Gly Arg Val His Arg Trp Lys Ser Pro
145 150 155 160

Ile Val Val Glu Lys Leu Gly Arg Ala Glu Val Asp Gly Asn Leu Val
165 170 175
Thr Ile Lys His Val Val Leu Glu Gly Val Lys Ala Gln Pro Leu Thr
180 185 190
Arg Thr Ser Ala Glu Gln Trp Glu
195 200

<210> 111
<211> 201
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 111
Met Arg Cys Ser His Lys Leu Gly Arg Phe Leu Thr Pro His Ser Cys
1 5 10 15
Phe Trp Trp Phe Phe Leu Leu Cys Thr Gly Leu Ser Trp Ser Phe Ala
20 25 30
Asp Gly Asn Gly Asp Ser Ser Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr
35 40 45
Ile Cys Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ser Ser His Phe Gly Trp
50 55 60
Ala Val Glu Thr Phe Val Leu Tyr Pro Val Ala Thr His Ile Leu Ser
65 70 75 80
Leu Gly Phe Leu Thr Thr Ser His Phe Phe Asp Ala Leu Gly Leu Gly
85 90 95
Ala Val Ser Ala Ala Gly Phe Val Gly Gly Arg Tyr Val Leu Cys Ser
100 105 110
Val Tyr Gly Ala Cys Ala Phe Ala Ala Phe Val Cys Phe Val Ile Arg
115 120 125
Ala Ala Lys Asn Cys Met Ala Cys Arg Tyr Ala Arg Thr Arg Phe Thr
130 135 140
Asn Phe Ile Val Asp Asp Arg Gly Arg Val His Arg Trp Lys Ser Pro
145 150 155 160
Ile Val Val Glu Lys Leu Gly Lys Ala Glu Val Asp Gly Asn Leu Val
165 170 175
Thr Ile Lys His Val Val Leu Glu Gly Val Lys Ala Gln Pro Leu Thr
180 185 190
Arg Thr Ser Ala Glu Gln Trp Glu Ala
195 200

<210> 112
<211> 201
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 112
Met Arg Cys Ser His Lys Leu Gly Arg Phe Leu Thr Pro His Ser Cys
1 5 10 15
Phe Trp Trp Leu Phe Leu Leu Cys Thr Gly Leu Ser Trp Ser Phe Ala
20 25 30
Asp Gly Asn Gly Ser Ser Ser Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr
35 40 45
Ile Cys Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ser Ser His Phe Ser Trp
50 55 60
Ala Val Glu Thr Phe Val Leu Tyr Pro Val Val Thr His Ile Leu Ser
65 70 75 80
Leu Gly Phe Leu Thr Thr Ser His Phe Phe Asp Ala Leu Gly Leu Gly
85 90 95
Ala Val Ser Thr Ala Gly Phe Val Gly Gly Arg Tyr Val Leu Cys Ser
100 105 110
Val Tyr Gly Ala Cys Ala Phe Ala Ala Phe Val Cys Phe Val Ile Arg
115 120 125
Ala Ala Lys Asn Cys Met Ala Cys Arg Tyr Ala Arg Thr Arg Phe Thr
130 135 140
Asn Phe Ile Val Asp Asp Arg Gly Arg Val His Arg Trp Lys Ser Pro
145 150 155 160
Ile Val Val Glu Lys Leu Gly Lys Ala Glu Val Asp Gly Asn Leu Ile
165 170 175
Thr Ile Lys His Val Val Leu Glu Gly Val Lys Ala Gln Pro Leu Thr
180 185 190
Arg Thr Ser Ala Glu Gln Trp Glu Ala
195 200

<210> 113
<211> 201
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 113
Met Arg Cys Ser His Lys Leu Gly Arg Phe Leu Thr Pro His Ser Cys
1 5 10 15
Phe Trp Trp Leu Phe Leu Leu Cys Thr Gly Leu Ser Trp Ser Phe Ala
20 25 30
Asp Gly Asn Gly Asp Ser Ser Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr
35 40 45

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

<210> 114
<211> 201
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 114

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

<210> 115
<211> 201
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 115

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

```
            180                 185                 190
Arg Thr Ser Ala Glu Gln Trp Glu Ala
        195                 200
<210>  116
<211>  201
<212>  PRT
<213>  Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400>  116
Met Arg Cys Ser His Lys Leu Gly Arg Phe Leu Thr Pro His Ser Cys
1               5                  10                  15
Phe Trp Trp Leu Phe Leu Leu Cys Thr Gly Leu Ser Trp Ser Phe Ala
            20                  25                  30
Asp Gly Asn Gly Asp Ser Ser Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr
        35                  40                  45
Ile Cys Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ser Ser His Phe Gly Trp
    50                  55                  60
Ala Val Glu Thr Phe Val Leu Tyr Pro Val Ala Thr His Ile Leu Ser
65                  70                  75                  80
Leu Gly Phe Leu Thr Thr Ser His Leu Val Asp Ala Leu Gly Leu Gly
                85                  90                  95
Val Val Ser Thr Ala Gly Leu Val Gly Gly Arg Tyr Val Leu Cys Ser
            100                 105                 110
Val Tyr Gly Ala Cys Ala Phe Ala Ala Phe Val Cys Phe Val Ile Arg
        115                 120                 125
Ala Ala Lys Asn Cys Met Ala Cys Arg Tyr Ala Arg Thr Arg Phe Thr
    130                 135                 140
Asn Phe Ile Val Asp Asp Arg Gly Arg Val His Arg Trp Lys Ser Pro
145                 150                 155                 160
Ile Val Val Glu Asn Leu Gly Lys Ala Glu Val Asp Gly Asn Leu Val
                165                 170                 175
Thr Ile Lys His Val Val Leu Glu Gly Val Lys Ala Gln Pro Leu Thr
            180                 185                 190
Arg Thr Ser Ala Glu Gln Trp Glu Ala
        195                 200
<210>  117
<211>  201
<212>  PRT
<213>  Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400>  117
Met Arg Cys Pro His Lys Leu Gly Arg Phe Leu Thr Pro His Ser Cys
1               5                  10                  15
Phe Trp Trp Leu Phe Leu Leu Cys Thr Gly Leu Ser Trp Ser Phe Ala
            20                  25                  30
Asp Gly Asn Gly Asp Ser Ser Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr
        35                  40                  45
Ile Cys Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ser Ser His Leu Gly Trp
    50                  55                  60
Ala Val Glu Thr Phe Val Leu Tyr Pro Val Ala Thr His Ile Leu Ser
65                  70                  75                  80
Leu Gly Phe Leu Thr Thr Ser His Leu Phe Asp Ala Leu Gly Leu Gly
                85                  90                  95
Val Val Ser Thr Ala Gly Leu Ile Gly Gly Arg Tyr Val Leu Cys Ser
            100                 105                 110
Val Tyr Gly Ala Cys Ala Phe Ala Ala Phe Val Cys Phe Val Ile Arg
        115                 120                 125
Ala Ala Lys Asn Cys Met Ala Cys Arg Tyr Ala Arg Thr Arg Phe Thr
    130                 135                 140
Asn Phe Ile Val Asp Asp Arg Gly Arg Val His Arg Trp Lys Ser Pro
145                 150                 155                 160
Ile Val Val Glu Asn Leu Gly Lys Ala Glu Val Asp Gly Asn Leu Val
                165                 170                 175
Thr Ile Lys His Val Val Leu Glu Gly Val Lys Ala Gln Pro Leu Thr
            180                 185                 190
Arg Thr Ser Ala Glu Gln Trp Glu Ala
        195                 200
<210>  118
<211>  201
<212>  PRT
<213>  Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400>  118
Met Arg Cys Ser His Lys Leu Gly Arg Phe Leu Thr Pro His Ser Cys
1               5                  10                  15
Phe Trp Trp Leu Phe Leu Leu Cys Ile Gly Leu Ser Trp Ser Phe Ala
            20                  25                  30
Asp Gly Asn Gly Ser Ser Ser Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asp Leu Thr
        35                  40                  45
Ile Cys Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ser Ser His Phe Gly Trp
    50                  55                  60
Ala Val Glu Thr Phe Val Leu Tyr Pro Val Ala Thr His Ile Leu Ser
```

65 70 75 80
Leu Gly Phe Leu Thr Thr Ser His Phe Phe Asp Ala Leu Gly Leu Gly
85 90 95
Ala Val Ser Thr Ala Gly Phe Val Gly Gly Arg Tyr Val Phe Cys Ser
100 105 110
Val Tyr Gly Ala Cys Ala Phe Ala Ala Phe Val Cys Phe Val Ile Arg
115 120 125
Ala Ala Lys Asn Cys Met Ala Cys Arg Tyr Ala Arg Thr Arg Phe Thr
130 135 140
Asn Phe Ile Val Asp Asp Arg Gly Arg Val His Arg Trp Lys Ser Pro
145 150 155 160
Ile Val Val Glu Lys Leu Gly Lys Ala Glu Val Asp Gly Asn Leu Val
165 170 175
Thr Ile Lys His Val Val Leu Glu Gly Tyr Lys Ala Gln Pro Leu Thr
180 185 190
Arg Thr Ser Ala Gln Gln Trp Glu Ala
195 200

<210> 119
<211> 201
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 119
Met Ser Ser Ser His Lys Leu Gly Arg Phe Leu Thr Pro His Ser Cys
1 5 10 15
Phe Trp Trp Leu Phe Leu Leu Cys Thr Gly Leu Ser Trp Ser Phe Ala
20 25 30
Asp Gly Asn Gly Asn Ser Ser Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr
35 40 45
Ile Cys Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ser Ser His Phe Gly Trp
50 55 60
Ala Val Glu Thr Phe Val Leu Tyr Pro Val Ala Thr His Ile Leu Ser
65 70 75 80
Leu Gly Phe Leu Thr Thr Ser His Phe Phe Asp Ala Leu Gly Leu Gly
85 90 95
Ala Val Ser Thr Ala Gly Phe Val Gly Gly Arg Tyr Val Leu Cys Ser
100 105 110
Val Tyr Gly Ala Cys Ala Phe Ala Ala Phe Val Cys Phe Val Ile Arg
115 120 125
Ala Ala Lys Asn Cys Met Ala Cys Arg Tyr Ala Arg Thr Arg Phe Thr
130 135 140
Asn Phe Ile Val Asp Asp Arg Gly Arg Val His Arg Trp Lys Ser Pro
145 150 155 160
Ile Val Val Glu Lys Leu Gly Lys Ala Glu Val Gly Gly Asn Leu Val
165 170 175
Thr Ile Lys His Val Val Leu Glu Gly Val Lys Ala Gln Pro Leu Thr
180 185 190
Arg Thr Ser Ala Glu Gln Trp Arg Ala
195 200

<210> 120
<211> 173
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 120
Met Gly Gly Leu Asp Asp Phe Cys Asn Asp Pro Ile Ala Ala Gln Lys
1 5 10 15
Leu Val Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile Met Ile Tyr Ala
20 25 30
Leu Lys Val Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Ile Leu Ile
35 40 45
Phe Leu Asn Cys Ser Phe Thr Phe Gly Tyr Met Thr Tyr Val His Phe
50 55 60
Gln Ser Thr Asn Arg Val Ala Phe Thr Leu Gly Ala Val Val Ala Leu
65 70 75 80
Leu Trp Gly Val Tyr Ser Phe Thr Glu Ser Trp Lys Phe Ile Thr Ser
85 90 95
Arg Cys Arg Leu Cys Cys Leu Gly Arg Arg Tyr Ile Leu Ala Pro Ala
100 105 110
His His Val Glu Ser Ala Ala Gly Leu His Ser Ile Ser Ala Ser Gly
115 120 125
Asn Arg Ala Tyr Ala Val Arg Lys Pro Gly Leu Thr Ser Val Asn Gly
130 135 140
Thr Leu Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Val Leu Gly Gly Lys Arg Ala
145 150 155 160
Val Lys Arg Gly Val Val Asn Leu Val Lys Tyr Gly Arg
165 170

<210> 121
<211> 173
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV

<400> 121
Met Gly Ser Leu Asp Asp Phe Cys Tyr Asp Ser Ile Ala Ala Gln Lys
1 5 10 15
Leu Val Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile Met Ile Tyr Ala
20 25 30
Leu Lys Val Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Ile Leu Ile
35 40 45
Phe Leu Asn Cys Ser Phe Thr Phe Gly Tyr Met Thr Tyr Val His Phe
50 55 60
Gln Ser Thr Asn Arg Val Ala Leu Thr Leu Gly Ala Ala Val Ala Leu
65 70 75 80
Leu Trp Gly Val Tyr Ser Phe Thr Glu Ser Trp Lys Phe Ile Thr Ser
85 90 95
Arg Cys Arg Leu Cys Cys Leu Gly Arg Arg Tyr Ile Leu Ala Pro Ala
100 105 110
His His Val Glu Ser Ala Ala Gly Leu His Pro Ile Ser Ala Ser Gly
115 120 125
Asn Arg Ala Tyr Ala Val Arg Lys Pro Gly Leu Thr Ser Val Asn Gly
130 135 140
Thr Leu Val Pro Gly Leu Arg Asn Leu Val Leu Gly Gly Lys Arg Ala
145 150 155 160
Val Lys Arg Gly Val Val Asn Leu Val Lys Tyr Gly Arg
165 170

<210> 122
<211> 173
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 122
Met Gly Ser Leu Asp Asp Phe Cys Asn Asp Ser Ala Ala Val Gln Lys
1 5 10 15
Leu Val Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile Met Ile Tyr Ala
20 25 30
Leu Lys Val Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Ile Leu Ile
35 40 45
Phe Leu Asn Cys Ser Phe Thr Phe Gly Tyr Met Thr His Val His Phe
50 55 60
Gln Ser Thr Asn Arg Val Ala Phe Thr Leu Gly Ala Val Val Ala Leu
65 70 75 80
Leu Trp Gly Val Tyr Ser Phe Thr Glu Ser Trp Lys Phe Ile Thr Ser
85 90 95
Arg Cys Arg Leu Cys Cys Leu Gly Arg Arg Tyr Ile Leu Ala Pro Ala
100 105 110
His His Val Glu Ser Ala Ala Gly Leu His Ser Ile Pro Ala Ser Gly
115 120 125
Asn Arg Ala Tyr Ala Val Arg Lys Pro Gly Leu Thr Ser Val Asn Gly
130 135 140
Thr Leu Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Val Leu Gly Gly Lys Arg Ala
145 150 155 160
Val Lys Arg Gly Val Val Asn Leu Val Lys Tyr Gly Arg
165 170

<210> 123
<211> 173
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 123
Met Gly Ser Leu Asp Arg Phe Cys Asn Glu Pro Asp Ala Val Gln Gln
1 5 10 15
Leu Val Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile Met Ile Tyr Ala
20 25 30
Leu Lys Val Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Ile Leu Ile
35 40 45
Phe Leu Asn Cys Ser Phe Thr Phe Gly Tyr Met Thr Tyr Val His Phe
50 55 60
Gln Ser Thr Asn Arg Val Ala Leu Thr Leu Gly Ala Val Val Thr Leu
65 70 75 80
Leu Trp Gly Val Tyr Ser Phe Thr Glu Ser Trp Lys Phe Ile Thr Ser
85 90 95
Arg Cys Arg Leu Cys Cys Leu Gly Arg Arg Tyr Ile Leu Ala Pro Ala
100 105 110
His His Val Glu Ser Ala Ala Gly Leu His Ser Ile Pro Ala Ser Gly
115 120 125
Asn Arg Ala Tyr Ala Val Arg Lys Pro Gly Leu Thr Ser Val Asn Gly
130 135 140
Thr Leu Val Pro Gly Leu Arg Gly Leu Val Leu Gly Gly Lys Arg Ala
145 150 155 160
Val Lys Arg Gly Val Val Asn Leu Val Lys Tyr Gly Arg
165 170

<210> 124
<211> 173

<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 124
Met Gly Ser Leu Asp Gly Phe Cys Asp Glu Pro Ala Ala Val Gln Lys
1 5 10 15
Leu Val Leu Ala Phe Ser Thr Thr Tyr Thr Pro Ile Met Ile Tyr Ala
20 25 30
Leu Lys Val Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Ile Leu Ile
35 40 45
Phe Leu Asn Cys Ser Phe Thr Phe Gly Tyr Met Thr Tyr Val His Phe
50 55 60
Gln Ser Ile Asn Arg Val Ala Phe Thr Leu Gly Ala Val Val Ala Leu
65 70 75 80
Leu Trp Gly Val Tyr Ser Phe Thr Glu Ser Trp Lys Ser Ile Thr Ser
85 90 95
Arg Cys Arg Leu Cys Cys Leu Gly Arg Arg Tyr Ile Leu Ala Pro Ala
100 105 110
His His Val Glu Ser Ala Ala Gly Leu His Ser Ile Pro Ala Ser Gly
115 120 125
Asn Arg Ala Tyr Ala Val Arg Lys Pro Gly Leu Thr Ser Val Asn Gly
130 135 140
Thr Leu Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Val Leu Gly Gly Lys Arg Ala
145 150 155 160
Val Lys Arg Gly Val Val Asn Leu Val Lys Tyr Gly Arg
165 170

<210> 125
<211> 173
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 125
Met Gly Ser Ile Asp Gly Phe Cys Asp Asp Pro Ala Ala Val Gln Lys
1 5 10 15
Leu Val Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile Met Ile Tyr Ala
20 25 30
Leu Lys Val Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Ile Leu Ile
35 40 45
Phe Leu Asn Cys Ser Phe Ala Phe Gly Tyr Met Thr Tyr Val His Phe
50 55 60
Gln Ser Thr Asn Arg Val Ala Ile Thr Leu Gly Ala Val Val Ala Leu
65 70 75 80
Leu Trp Gly Val Tyr Ser Phe Ile Glu Ser Trp Lys Phe Ile Thr Phe
85 90 95
Arg Cys Arg Leu Cys Cys Leu Gly Arg Arg Tyr Ile Leu Ala Pro Ala
100 105 110
His His Val Glu Ser Ala Ala Gly Leu His Pro Ile Pro Ala Ser Gly
115 120 125
Asn Arg Ala Tyr Ala Val Arg Lys Pro Gly Leu Thr Ser Val Asn Gly
130 135 140
Thr Leu Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Val Leu Gly Gly Lys Arg Ala
145 150 155 160
Val Lys Arg Gly Val Val Asn Leu Val Lys Tyr Gly Arg
165 170

<210> 126
<211> 173
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 126
Met Gly Gly Leu Asp Asp Phe Cys Phe Asp His Tyr Ser Ala Gln Lys
1 5 10 15
Leu Val Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile Met Ile Tyr Ala
20 25 30
Leu Lys Ala Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Ile Leu Ile
35 40 45
Phe Leu Asn Cys Ala Phe Thr Phe Gly Tyr Met Thr Tyr Val His Phe
50 55 60
Gln Ser Thr His Arg Val Ala Leu Thr Met Gly Ala Val Val Ala Leu
65 70 75 80
Leu Trp Gly Val Tyr Ser Phe Ile Glu Ser Trp Lys Phe Ile Thr Ser
85 90 95
Arg Cys Arg Leu Cys Cys Leu Gly Arg Arg Tyr Ile Leu Ala Pro Ala
100 105 110
His His Val Glu Ser Ala Ala Gly Leu His Pro Ile Pro Ala Ser Gly
115 120 125
Asn Arg Gly Tyr Ala Leu Arg Lys Pro Gly Leu Thr Ser Val Asn Gly
130 135 140
Thr Leu Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Val Leu Gly Gly Lys Arg Ala
145 150 155 160
Val Arg Arg Gly Val Val Asn Leu Val Lys Tyr Gly Arg
165 170

<210> 127
<211> 173
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 127
Met Gly Gly Leu Asp Asn Phe Cys Tyr Asp Ser Thr Ala Ala Gln Lys
1 5 10 15
Val Leu Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile Met Ile Tyr Ala
20 25 30
Leu Lys Val Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Ile Leu Ile
35 40 45
Phe Leu Asn Cys Ser Phe Thr Phe Gly Tyr Met Thr Tyr Glu His Phe
50 55 60
Glu Ser Thr Asn Arg Val Ala Leu Thr Met Gly Ala Val Val Ala Leu
65 70 75 80
Leu Trp Gly Val Tyr Ser Phe Ile Glu Ser Trp Lys Phe Val Thr Phe
85 90 95
Arg Cys Arg Leu Cys Cys Leu Gly Arg Gln Tyr Ile Leu Ala Pro Ala
100 105 110
His His Val Glu Ser Ala Ala Gly Leu His Ser Ile Pro Ala Ser Gly
115 120 125
Asn Gln Ala Tyr Ala Val Arg Lys Pro Gly Leu Thr Ser Val Asn Gly
130 135 140
Thr Leu Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Val Leu Gly Gly Lys Arg Ala
145 150 155 160
Val Lys Arg Gly Leu Val Asn Leu Val Lys Tyr Gly Arg
165 170

<210> 128
<211> 173
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 128
Met Ala Gly Leu Asp Asp Phe Cys Tyr Asp Ser Thr Ala Val Gln Lys
1 5 10 15
Leu Val Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile Met Ile Tyr Ala
20 25 30
Leu Lys Val Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Ile Leu Ile
35 40 45
Phe Leu Asn Cys Ser Phe Thr Phe Gly Tyr Met Thr Tyr Val His Phe
50 55 60
Glu Ser Ser Asn Arg Val Ala Phe Thr Met Gly Ala Val Val Thr Leu
65 70 75 80
Leu Trp Gly Ile Tyr Ser Phe Ile Glu Ser Trp Lys Phe Val Thr Ser
85 90 95
Arg Cys Arg Leu Cys Cys Leu Gly Arg Arg Tyr Ile Leu Ala Pro Ala
100 105 110
His His Val Glu Ser Ala Ala Gly Leu His Pro Ile Pro Ala Ser Gly
115 120 125
Asn Gln Ala Tyr Ala Val Arg Lys Pro Gly Leu Thr Ser Val Asn Gly
130 135 140
Thr Leu Val Pro Gly Leu Arg Gly Leu Val Leu Gly Gly Lys Arg Ala
145 150 155 160
Val Lys Arg Gly Met Val Asn Leu Val Lys Tyr Gly Arg
165 170

<210> 129
<211> 173
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 129
Met Gly Ser Leu Asp Asn Phe Cys His Asp Pro Thr Ala Val Gln Lys
1 5 10 15
Val Leu Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Val Met Ile Tyr Ala
20 25 30
Leu Lys Val Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Ile Leu Ile
35 40 45
Phe Leu Asn Cys Ser Phe Thr Phe Gly Tyr Leu Thr Tyr Val His Phe
50 55 60
Asp Ser Thr Asn Arg Val Ala Leu Thr Met Gly Ala Val Val Ala Leu
65 70 75 80
Leu Trp Gly Ile Tyr Ser Phe Ile Glu Ser Trp Lys Phe Val Val Ser
85 90 95
Arg Cys Arg Leu Cys Cys Leu Gly Arg Gln Tyr Ile Leu Ala Pro Ala
100 105 110
His His Val Glu Ser Ala Ala Gly Leu His Pro Leu Pro Ala Cys Gly
115 120 125
Asn Gln Ala Phe Ala Val Arg Lys Pro Gly Leu Thr Ser Val Asn Gly
130 135 140
Thr Leu Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Val Leu Gly Gly Lys Arg Ala
145 150 155 160

Val Lys Arg Gly Val Val Asn Leu Val Lys Tyr Gly Arg
165 170

<210> 130
<211> 70
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 130
Met Gly Ser Leu Trp Ser Lys Ile Ser Gln Leu Phe Val Asp Ala Phe
1 5 10 15
Thr Glu Phe Leu Val Ser Val Val Asp Ile Ala Ile Phe Leu Ala Ile
20 25 30
Leu Phe Gly Phe Thr Val Ala Gly Trp Leu Leu Val Phe Leu Leu Arg
35 40 45
Val Val Cys Ser Ala Leu Leu Arg Ser Arg Ser Ala Ile His Ser Pro
50 55 60
Glu Leu Ser Lys Val Leu
65 70

<210> 131
<211> 70
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 131
Met Gly Ser Leu Trp Ser Lys Ile Ser Gln Leu Phe Val Asp Ala Phe
1 5 10 15
Thr Glu Phe Leu Val Ser Val Val Asp Ile Val Ile Phe Leu Ala Ile
20 25 30
Leu Phe Gly Phe Thr Val Ala Gly Trp Leu Leu Val Phe Leu Leu Arg
35 40 45
Val Val Cys Ser Ala Leu Leu Arg Ser Arg Ser Ala Ile His Ser Pro
50 55 60
Glu Leu Ser Lys Val Leu
65 70

<210> 132
<211> 70
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 132
Met Gly Ser Leu Trp Ser Lys Ile Ser Gln Leu Phe Val Asp Ala Phe
1 5 10 15
Thr Glu Phe Leu Val Ser Val Val Asp Ile Val Ile Phe Leu Ala Ile
20 25 30
Leu Phe Gly Phe Thr Val Ala Gly Trp Leu Leu Val Phe Leu Leu Arg
35 40 45
Val Val Cys Ser Ala Leu Leu Arg Ser Arg Ser Ala Val His Ser Pro
50 55 60
Glu Leu Ser Lys Val Leu
65 70

<210> 133
<211> 70
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 133
Met Gly Ser Leu Trp Ser Lys Ile Ser Gln Leu Phe Val Asp Ala Phe
1 5 10 15
Thr Glu Phe Leu Val Ser Val Val Asp Ile Val Ile Phe Leu Ala Ile
20 25 30
Leu Phe Gly Phe Thr Val Ala Gly Trp Leu Leu Val Phe Leu Leu Arg
35 40 45
Val Val Cys Ser Ala Ile Leu Arg Ser Arg Ser Ala Ile His Ser Pro
50 55 60
Glu Leu Ser Lys Val Leu
65 70

<210> 134
<211> 70
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 134
Met Gly Ser Leu Trp Ser Lys Ile Ser Gln Leu Phe Val Asp Ala Phe
1 5 10 15
Thr Glu Phe Leu Val Ser Val Val Asp Ile Val Ile Phe Leu Ala Ile
20 25 30
Leu Phe Gly Phe Thr Val Ala Gly Trp Leu Leu Val Phe Leu Leu Arg
35 40 45
Val Val Cys Ser Ala Phe Leu Arg Ser Arg Ser Ala Ile His Ser Pro
50 55 60
Glu Leu Ser Lys Val Leu
65 70

<210> 135
<211> 70

<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 135
Met Gly Ser Leu Trp Ser Lys Ile Thr Gln Leu Phe Val Asp Ala Phe
1 5 10 15
Thr Glu Phe Leu Val Ser Val Val Asp Ile Ile Ile Phe Leu Ala Ile
20 25 30
Leu Phe Gly Phe Thr Val Ala Gly Trp Leu Leu Val Phe Leu Leu Arg
35 40 45
Val Val Cys Ser Ala Ile Leu Arg Ser Arg Ser Ala Ile His Ser Pro
50 55 60
Glu Leu Ser Lys Val Leu
65 70
<210> 136
<211> 70
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 136
Met Gly Ser Leu Trp Ser Lys Ile Ser Gln Leu Phe Val Asp Ala Phe
1 5 10 15
Thr Glu Phe Leu Val Ser Val Val Asp Ile Val Ile Phe Leu Ala Ile
20 25 30
Leu Phe Gly Phe Thr Val Ala Gly Trp Leu Leu Val Phe Leu Leu Arg
35 40 45
Leu Val Cys Ser Ala Ile Leu Arg Ser Arg Ser Ala Ile His Ser Pro
50 55 60
Glu Leu Ser Lys Val Leu
65 70
<210> 137
<211> 70
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 137
Met Gly Ser Leu Trp Ser Lys Ile Ser Gln Leu Phe Val Asp Ala Phe
1 5 10 15
Thr Glu Phe Leu Val Ser Val Val Asp Ile Val Ile Phe Leu Ala Ile
20 25 30
Leu Phe Gly Phe Thr Val Ala Gly Trp Leu Leu Val Phe Leu Leu Arg
35 40 45
Val Val Cys Ser Ala Leu Leu Arg Ser Arg Ser Ala Ile His Pro Pro
50 55 60
Glu Leu Ser Lys Ile Leu
65 70
<210> 138
<211> 70
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 138
Met Gly Ser Leu Trp Ser Lys Ile Ser Gln Leu Phe Val Asp Ala Phe
1 5 10 15
Thr Glu Phe Leu Val Ser Val Val Asp Ile Val Ile Phe Leu Ala Ile
20 25 30
Leu Phe Gly Phe Thr Val Ala Gly Trp Leu Leu Val Phe Leu Phe Arg
35 40 45
Leu Val Cys Ser Ala Ile Leu Arg Ser Arg Ser Ala Ile His Ser Ser
50 55 60
Glu Leu Ser Lys Val Leu
65 70
<210> 139
<211> 70
<212> PRT
<213> Liên quan đến Lelystad PRRSV
<400> 139
Met Gly Ser Leu Trp Ser Lys Ile Ser Gln Leu Phe Val Asp Ala Phe
1 5 10 15
Thr Glu Phe Leu Val Ser Val Val Asp Ile Val Ile Phe Leu Ala Ile
20 25 30
Leu Phe Gly Phe Thr Val Ala Gly Trp Leu Leu Val Phe Leu Leu Arg
35 40 45
Val Val Cys Ser Ala Phe Leu Arg Ser Arg Ser Ala Ile His Ser Ser
50 55 60
Glu Leu Ser Lys Val Leu
65 70