



(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)



1-0052313

(51)^{2020.01} A61P 31/14; C12N 7/02; A61K 39/12

(13) B

(21) 1-2021-08360

(22) 27/09/2019

(86) PCT/EP2019/076174 27/09/2019

(87) WO2021/037387 04/03/2021

(30) 19382734.2 29/08/2019 EP

(45) 27/10/2025 451

(43) 25/11/2022 416A

(73) 1. ELANCO US INC. (US)

2500 Innovation Way Greenfield, Indiana 46140, United States of America

2. ELANCO UK AH LIMITED (GB)

Lilly House Priestley Road Basingstoke Hampshire RG24 9NL, United Kingdom

(72) WU, Stephen Qitu (US); SUAREZ, Cinta Prieto (ES); LABARQUE, Geoffrey Gregory (FR).

(74) Công ty Luật TNHH quốc tế BMVN (BMVN INTERNATIONAL LLC)

(54) CHỨNG VIRUT GÂY HỘI CHỨNG RỐI LOẠN SINH SẢN VÀ HÔ HẤP Ở LỢN (PRRS) SỐNG ĐÃ ĐƯỢC BIẾN ĐỔI, CHẾ PHẨM SINH MIỄN DỊCH VÀ VẮC-XIN CHỨA CHỨNG VIRUT PRRS SỐNG ĐÃ ĐƯỢC BIẾN ĐỔI NÀY

(21) 1-2021-08360

(57) Sáng chế đề cập đến virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn. Virus được phân tích di truyền và lựa chọn dựa trên tập hợp các biến đổi phát sinh chủng loại bằng cách cấy chuyển lặp đi lặp lại trong nuôi cấy mô. Virus sống đã được biến đổi được đánh giá khả năng tạo ra miễn dịch bảo vệ đối với virus khác loại. Virus sống đã được biến đổi rất hữu ích đối với vắc-xin, cụ thể là trong vắc-xin mà có thể điều trị lây nhiễm ở lợn bởi vô số virus khác loại.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến virus sống đã được biến đổi gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn. Virus sống đã được biến đổi rất hữu ích trong vắc-xin, cụ thể là, trong vắc-xin tạo ra sự bảo vệ chống lại các virus khác loại.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp (PRRS), ban đầu được gọi là bệnh tai xanh, được mô tả đầu tiên ở châu Âu nhưng nay đã lan rộng ra toàn thế giới. PRRS gây ra sảy thai ở giai đoạn cuối, thai chết lưu, và vô sinh ở lợn nái tuổi sinh sản, và bệnh hô hấp, làm năng suất sinh trưởng và thậm chí gây chết ở lợn con và lợn nhỡ/xuất chuồng. PRRS gây ra thiệt hại kinh tế nặng nề.

Triệu chứng của lây nhiễm virus PRRS ở lợn trưởng thành bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chán ăn, hôn mê và sốt. Lợn nái mang thai có thể đẻ non, sảy thai hoặc đẻ ra lợn con bị chết lưu hoặc bị ướp xác, và lên đến 10% lợn nái mang thai có thể chết vì lây nhiễm virus PRRS. Lợn con bị nhiễm có thể có tỷ lệ tử vong trước khi cai sữa cao, thường gầy yếu và có thể bị phù quanh mắt. Lây nhiễm virus PRRS ở lợn con cai bú hoặc lợn nhỡ/xuất chuồng có thể gây ra, nhưng không chỉ giới hạn ở, chậm lớn, suy hô hấp, khó thở hoặc thở gấp, đốm đỏ trên da, và lông xù xì.

Virus PRRS là virus có vỏ bọc với hệ gen ARN sợi dương, mạch thẳng, xấp xỉ 15kb, và virus này được phân loại vào họ *Arteriviridae*. Cho đến nay, ít nhất mười một khung đọc mở đã được xác định trong hệ gen. Virus PRRS được chia thành hai kiểu gen. Kiểu gen châu Âu, virus PRRS typ 1 (PRRSV-1), được lấy ví dụ là chủng Lelystad, trong khi virus PRRS Bắc Mỹ typ 2 (PRRSV-2) được lấy ví dụ là chủng VR-2332.

Hai kiểu gen có thể độ tương đồng trình tự trong hệ gen của chúng ít khoảng 60%, và thậm chí trong các kiểu gen, các chủng riêng rẽ có thể có độ tương đồng trong hệ gen của chúng thay đổi lên đến khoảng 20%. Sự biến đổi này đã làm phức tạp hóa việc phát triển vắc-xin để điều trị và/hoặc phòng ngừa hiệu quả PRRS. Các biến thể virus sống đã được biến đổi (MLV) của virus PRRS có thể tạo ra miễn dịch chống lại thử thách với virus PRRS, nhưng virus có hiệu quả nhất khi thử thách với virus PRRS tương đồng di truyền với MLV. Vắc-xin MLV có hiệu quả kém chống lại thử thách với virus khác loại. Ngoài ra, MLV đã cho thấy một vài sự đảo ngược thành độc lực, sao cho virus vắc-xin gây bệnh ở động vật đã được chủng ngừa. Vắc-xin chứa virus PRRS đã bất hoạt (tức là, đã bị giết) có đặc tính an toàn tốt hơn, nhưng hiệu quả chống lại thử thách khác loại bị hạn chế.

Bởi vì vắc-xin PRRS hiện tại không có đủ độ an toàn và hiệu quả để làm giảm ảnh

hưởng kinh tế của lây nhiễm virus PRRS, cần phải có vắc-xin mới và được cải thiện. Tốt hơn nữa, các vắc-xin này vừa hiệu quả vừa an toàn. Nếu vắc-xin chứa MLV đã giảm độc lực, các MLV giảm độc lực này không nên chứng minh khả năng đảo ngược thành độc lực để được xem là an toàn để sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ, bằng cách sửa đổi chủng PRRS để sinh trưởng trong tế bào nuôi cấy mô trong ít nhất 60 lần cấy chuyển, ít nhất 70 lần cấy chuyển, ít nhất 80 lần cấy chuyển hoặc ít nhất 85 lần cấy chuyển, MLV không nên chứng minh sự đảo ngược thành độc lực. Để có hiệu quả, chủng virus vắc-xin nên có khả năng tạo ra miễn dịch bảo vệ ở lợn chống lại một dải các chủng PRRS kiểu đại đa dạng phát sinh chủng loại. Tốt hơn nữa, chủng virus vắc-xin PRRS mới có khả năng tạo ra miễn dịch bảo vệ ở lợn chống lại dải chủng PRRS kiểu đại đa dạng phát sinh chủng loại.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất chủng virus vắc-xin hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn sống đã được biến đổi, trong đó trình tự ADN bổ sung liên ứng của chủng PRRS này tương đồng ít nhất 90% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Tốt hơn nữa, chủng sống đã được biến đổi có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 95% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Tốt hơn nữa nữa, chủng sống đã được biến đổi cũng có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 98% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ đánh giá cao, do tỷ lệ đột biến của virus PRRS cao, chủng PRRS sống, đã biết đổi có thể chứa vô số tập tập con, mỗi tập con có hệ gen tương đồng nhưng không giống nhau.

Sáng chế đề xuất chủng virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (PRRS) sống đã được biến đổi, trong đó chủng virus PRRS là chủng DE 14-3073, ES 13-49, IT 14-32, hoặc PL 14-02. Chủng virus PRRS tốt hơn nữa nên được cấy chuyển ít nhất 60 lần, hoặc tốt hơn nữa 70 lần, hoặc thậm chí tốt hơn nữa nếu 80 lần, trong tế bào nuôi cấy mô. Tốt hơn nữa nữa, chủng virus PRRS được cấy chuyển 85 lần trong tế bào nuôi cấy mô. Việc cấy chuyển trong tế bào nuôi cấy mô này rất hữu ích trong việc làm giảm độc lực của chủng virus PRRS sống đã được biến đổi. Chủng virus PRRS giảm độc lực có thể gây ra bệnh cận lâm sàng nhưng không gây ra bệnh lâm sàng khi các chủng này được cung cấp cho lợn. Chủng virus PRRS sống đã được biến đổi cấy chuyển ít nhất 80 lần có xác suất trở đảo ngược thành độc lực kiểu đại thấp. Tốt nhất là, chủng virus PRRS sống đã được biến đổi cấy chuyển 85 lần có xác suất trở đảo ngược thành độc lực kiểu đại thấp.

Sáng chế đề xuất chế phẩm sinh miễn dịch chứa chủng virus PRRS sống đã được biến đổi có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 90% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Tốt hơn nữa, chủng sống đã được biến đổi có thể có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 95% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Tốt hơn nữa nữa, chủng sống đã được biến đổi cũng

có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 98% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Như người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ đánh giá, do tốc độ đột biến cao của virus PRRS, chủng PRRS sống đã được biến đổi có thể chứa vô số tập con, mỗi tập con có hệ gen tương đồng nhưng không giống nhau.

Sáng chế đề xuất chế phẩm sinh miễn dịch chứa chủng virus PRRS sống đã được biến đổi, trong đó chủng virus PRRS này là chủng DE 14-3073, chủng ES 13-49, chủng IT 14-32, hoặc chủng PL 14-02. Chủng DE 14-3073 hoặc chủng ES 13-49 hoặc chủng IT 14-32 hoặc chủng PL 14-02 có thể được cấy chuyển ít nhất 80 lần, hoặc thậm chí tốt hơn nếu 85 lần, trong tế bào nuôi cấy mô. Tốt nhất nếu, chế phẩm sinh miễn dịch chứa ít nhất một tá được được dụng. Chế phẩm sinh miễn dịch cũng có thể còn chứa thêm kháng nguyên từ virus hoặc từ chủng vi khuẩn hoặc từ ký sinh trùng khác.

Sáng chế đề xuất vắc-xin chứa chủng virus PRRS sống đã được biến đổi, trong đó trình tự ADN bổ sung liên ứng của chủng PRRS này tương đồng ít nhất 90% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Tốt hơn nếu, chủng sống đã được biến đổi này có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 95% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Tốt nhất nếu, chủng sống đã được biến đổi này cũng có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 98% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Vắc-xin còn có thể chứa thêm chất phụ gia. Vắc-xin có thể còn chứa thêm tá được được dụng, chất ổn định, chất hòa tan, hoặc chất pha loãng. Vắc-xin còn có thể chứa thêm kháng nguyên từ virus hoặc từ chủng vi khuẩn hoặc từ ký sinh trùng khác.

Sáng chế đề xuất vắc-xin để sử dụng trong ngăn ngừa hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn. Do PRRS là do virus PRRS gây ra, sáng chế đề xuất vắc-xin để sử dụng trong ngăn ngừa lây nhiễm virus PRRS. Sáng chế cũng đề xuất vắc-xin để sử dụng cho lợn để làm giảm triệu chứng do lây nhiễm virus PRRS gây ra. Lây nhiễm có thể từ chủng độc lực kiểu đại của virus PRRS. Triệu chứng có thể là, nhưng không chỉ giới hạn ở, chán ăn, hôn mê, sốt, đẻ non, sảy thai, thai chết lưu, phù nề, chậm lớn, ho, suy hô hấp, khó thở hoặc thở gấp, đốm đỏ trên da, và lông xù xì, tổn thương phổi, phát tán virus và tử vong. Sáng chế đề xuất vắc-xin để sử dụng trong ngăn ngừa PRRS ở lợn. Tốt hơn nếu, vắc-xin chứa chủng PRRS sống đã được biến đổi có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 98% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Tốt nhất là, vắc-xin chứa chủng virus PRRS sống đã được biến đổi, là chủng DE 14-3073, chủng ES 13-49, chủng IT 14-32, hoặc chủng PL 14-02. Vắc-xin còn có thể chứa thêm chất mang được dụng. Vắc-xin còn có thể chứa thêm chất phụ gia. Vắc-xin còn có thể chứa thêm kháng nguyên từ virus hoặc từ chủng vi khuẩn hoặc từ ký sinh trùng khác.

Sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa triệu chứng của hội chứng rối loạn sinh

sản và hô hấp ở lợn cho lợn, bao gồm cho lợn dùng chế phẩm sinh miễn dịch chứa chủng virus PRRS sống đã được biến đổi. Sáng chế cũng đề xuất phương pháp ngăn ngừa hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn cho lợn, bao gồm cho lợn dùng chế phẩm sinh miễn dịch chứa chủng virus PRRS sống đã được biến đổi. Tốt hơn nữa, chủng virus PRRS sống đã được biến đổi để sử dụng trong phương pháp này có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 90% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Tốt hơn nữa nếu, chủng virus PRRS sống đã được biến đổi để sử dụng trong phương pháp này có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 95% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Tốt nhất nếu, chủng virus PRRS sống đã được biến đổi để sử dụng trong phương pháp này cũng có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 98% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Chế phẩm sinh miễn dịch còn có thể chứa thêm tá dược được dùng. Chế phẩm sinh miễn dịch có thể còn chứa thêm kháng nguyên từ virus hoặc từ vi khuẩn hoặc từ ký sinh trùng khác.

Sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn, bao gồm cho lợn dùng chế phẩm sinh miễn dịch chứa chủng virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và miễn dịch ở lợn (PRRS) sống đã được biến đổi, trong đó chủng virus PRRS này là chủng DE 14-3073, chủng ES 13-49, chủng IT 14-32 hoặc chủng PL 14-02 để sử dụng trong phương pháp có thể được cấy chuyển ít nhất 80 lần, hoặc tốt hơn nữa thậm chí 85 lần, trong tế bào nuôi cấy mô. Chế phẩm sinh miễn dịch còn có thể chứa thêm tá dược được dùng. Chế phẩm sinh miễn dịch có thể chứa thêm kháng nguyên từ virus hoặc từ chủng vi khuẩn hoặc từ ký sinh trùng khác.

Sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa triệu chứng gây ra bởi lây nhiễm virus PRRS ở lợn, bao gồm cho lợn dùng chế phẩm sinh miễn dịch chứa chủng virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (PRRS) sống đã được biến đổi, trong đó trình tự ADN bổ sung liên ứng của chủng PRRS này tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Tốt hơn nữa nếu, chủng sống đã được biến đổi để sử dụng trong phương pháp này cũng có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 95% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Tốt nhất nếu, chủng sống đã được biến đổi để sử dụng trong phương pháp này cũng có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 98% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Chế phẩm sinh miễn dịch còn có thể chứa thêm tá dược mang được dùng. Chế phẩm sinh miễn dịch có thể còn chứa thêm kháng nguyên từ virus hoặc từ chủng vi khuẩn hoặc từ ký sinh trùng khác.

Sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm triệu chứng gây ra bởi lây nhiễm virus PRRS cho lợn, bao gồm cho lợn dùng chế phẩm sinh miễn dịch chứa chủng virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (PRRS) sống đã được biến đổi, trong đó chủng

virut PRRS này là chủng DE 14-3073, chủng ES 13-49, chủng IT 14-32 hoặc chủng PL 14-02 để sử dụng trong phương pháp này có thể được cấy chuyển ít nhất 80 lần, hoặc thậm chí tốt hơn nếu 85 lần, trong tế bào nuôi cấy mô. Chế phẩm sinh miễn dịch còn có thể chứa thêm tá được được dụng. Chế phẩm sinh miễn dịch có thể còn chứa thêm kháng nguyên từ virut hoặc từ chủng vi khuẩn hoặc từ ký sinh trùng khác. Lây nhiễm virut PRRS có thể là lây nhiễm bởi virut PRRS độc lực khác loại với chủng virut PRRS sống đã được biến đổi trong chế phẩm sinh miễn dịch. Hai chủng virut PRRS được xem là khác loại nếu trình tự liên ứng hệ gen của mỗi chủng virut ánh xạ đến nhóm phát sinh chủng loại khác nhau. Hai chủng virut PRRS được xem là khác loại nếu trình tự liên ứng ADN bổ sung của mỗi chủng virut ánh xạ đến nhóm phát sinh chủng loại khác.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng chủng virut PRRS sống đã được biến đổi trong sản xuất thuốc để ngăn ngừa hoặc làm giảm triệu chứng của PRRS, trong đó virut PRRS sống đã được biến đổi chứa trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 90% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Tốt hơn nếu, chủng sống đã được biến đổi cũng có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 95% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Tốt hơn nữa nếu, chủng sống đã được biến đổi cũng có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 98% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng chủng virut PRRS sống đã được biến đổi bao gồm chủng DE 14-3073, chủng ES 13-49, chủng IT 14-32, hoặc chủng PL 14-02 trong sản xuất thuốc để ngăn ngừa hoặc làm giảm triệu chứng của PRRS. Chủng virut PRRS sống đã được biến đổi nên được cấy chuyển ít nhất 80 lần, hoặc thậm chí tốt hơn nữa nếu 85 lần, trong tế bào nuôi cấy mô. Việc cấy chuyển trong tế bào nuôi cấy mô này rất hữu ích trong việc làm giảm độc lực chính xác chủng virut PRRS sống đã được biến đổi. Chủng virut PRRS giảm độc lực có thể gây ra bệnh cận lâm sàng nhưng không gây ra bệnh lâm sàng khi các chủng này được cung cấp cho lợn. Chủng virut PRRS sống đã được biến đổi cấy chuyển ít nhất 80 lần có xác suất đảo ngược thành độc tố kiểu đại thấp.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng chế phẩm sinh miễn dịch chứa chủng virut PRRS sống đã được biến đổi trong sản xuất thuốc ngăn ngừa lây nhiễm virut PRRS, trong đó chủng virut PRRS sống đã được biến đổi chứa trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 90% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Chủng sống đã được biến đổi để sử dụng cũng có thể có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 95% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Chủng sống đã được biến đổi để sử dụng cũng có thể có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 98% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng chủng chế phẩm sinh miễn dịch chứa chủng virut

PRRS sống đã được biến đổi bao gồm chủng DE 14-3073, chủng ES 13-49, chủng IT 14-32, hoặc chủng PL 14-02 trong sản xuất thuốc để ngăn ngừa lây nhiễm virus PRRS. Chủng virus PRRS nên được cấy chuyển ít nhất 80 lần, hoặc thậm chí tốt hơn nữa nếu 85 lần, trong tế bào nuôi cấy mô. Việc cấy chuyển trong tế bào nuôi cấy mô này rất hữu ích trong việc làm giảm chính xác độc lực của chủng virus PRRS sống đã được biến đổi. Chủng virus PRRS giảm độc lực có thể gây ra bệnh cận lâm sàng nhưng không gây ra bệnh lâm sàng khi các chủng này được cung cấp cho lợn. Chủng virus PRRS sống đã được biến đổi cấy chuyển ít nhất 80 lần có xác suất đảo ngược thành độc tố kiểu đại thấp. Chủng virus PRRS sống đã được biến đổi cấy chuyển 85 lần có xác suất đảo ngược thành độc tố kiểu đại thấp.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng chế phẩm sinh miễn dịch chứa chủng virus PRRS sống đã được biến đổi trong sản xuất thuốc để bảo vệ lợn không bị nhiễm virus PRRS, trong đó chủng virus PRRS sống đã được biến đổi chứa trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 90% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Chủng sống đã được biến đổi để sử dụng cũng có thể có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 95% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4. Chủng sống đã được biến đổi để sử dụng cũng có thể có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 98% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 và SEQ ID NO: 4.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng chủng chế phẩm sinh miễn dịch chứa chủng virus PRRS sống đã được biến đổi bao gồm chủng DE 14-3073, chủng ES 13-49, chủng IT 14-32, hoặc chủng PL 14-02 trong sản xuất thuốc để bảo vệ lợn không bị nhiễm virus PRRS. Chủng virus PRRS nên được cấy chuyển ít nhất 80 lần, hoặc thậm chí tốt hơn nữa nếu 85 lần, trong tế bào nuôi cấy mô. Việc cấy chuyển trong tế bào nuôi cấy mô này rất hữu ích trong việc làm giảm độc lực chính xác chủng virus PRRS sống đã được biến đổi. Chủng virus PRRS giảm độc lực có thể gây ra bệnh cận lâm sàng nhưng không gây ra bệnh lâm sàng khi các chủng này được cung cấp cho lợn. Chủng virus PRRS sống đã được biến đổi cấy chuyển ít nhất 80 lần có xác suất trở lại thành độc tố virus kiểu đại thấp. Chủng virus PRRS sống đã được biến đổi cấy chuyển 85 lần có xác suất trở lại thành độc tố virus kiểu đại thấp.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1. là hình vẽ thể hiện phân tích phát sinh loài của chủng PRRSV-1 DE 14-3073, chủng ES 13-49, chủng IT 14-32 hoặc chủng PL 14-02 và vắc-xin có sẵn trên thị trường và dòng phân lập được lựa chọn dựa trên trình tự nucleotit ORF5 được tạo thành bởi phương pháp nối trình tự hàng xóm.

Mô tả chi tiết sáng chế

Như được sử dụng trong phần thảo luận dưới đây, mạo từ số ít “a” hoặc “an” nên hiểu là bao gồm một hoặc nhiều, trừ khi được chỉ ra khác.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “virus” có nghĩa là loài virus hoặc, đơn vị lây nhiễm virus mà có thể chứa axit nucleic và protein. Đơn vị lây nhiễm riêng rẽ còn được gọi là “hạt virus” hoặc “virion”, thuật ngữ phía sau đồng nghĩa.

Như được sử dụng ở đây, “chủng” hoặc “đồng phân lập” virus có nghĩa là tập hợp các virion tương đồng về mặt di truyền. Hai virus được xem là “cùng loại” nếu các virus này ánh xạ đến cùng một nhánh phát sinh chủng loại. Hai virus được xem là “khác loại” nếu các virus này ánh xạ đến các nhánh phát sinh chủng loại khác nhau. Do virus PRRS có tỷ lệ đột biến cao, sẽ được đánh giá rằng một chủng PRRS đơn lẻ chứa nhiều virion riêng rẽ với trình tự gen liên quan nhưng có thể thay đổi. Do đó, các tập con của chủng tồn tại trong mỗi chủng PRRS, và trình tự gen của chủng PRRS là trình tự liên ứng sao cho trình tự gen của một thành viên riêng lẻ trong chủng PRRS có thể không giống với trình tự liên ứng đối với chủng này. Trình tự “liên ứng” là trình tự axit nucleic trong đó mỗi gốc axit nucleic tại vị trí cho trước xuất hiện trong >51% của polynucleotit trong chủng hoặc đồng phân lập virus PRRS.

“Phần trăm tương đồng” có thể được xác định bằng cách tính toán số lượng nucleotit hoặc axit amin tương đồng tại các vị trí giống nhau trong axit amin hoặc protein. Tính toán phần trăm tương đồng bao gồm xác định việc sắp thẳng hàng tối ưu giữa hai hoặc nhiều trình tự. Sắp thẳng hàng có thể tính đến việc thêm và mất (tức là “các khoảng trống”) trong mỗi trình tự cần kiểm tra, chẳng hạn như, nhưng không chỉ giới hạn ở, trong vùng không mã hóa của axit nucleic và trình tự polypeptit cắt hoặc kéo dài. Chương trình máy tính và thuật toán chẳng hạn như Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) có thể được sử dụng để xác định phần trăm tương đồng. BLAST là một trong số nhiều nguồn được cung cấp bởi Trung tâm Tin sinh quốc gia Hoa Kỳ. Bởi vì mã di truyền bị thoái hóa, và nhiều hơn một mã bộ ba có thể mã cho cho axit amin nhất định, vùng mã hóa của axit nucleic được xem là giống nhau nếu axit nucleic mã hóa cho các polypeptit giống nhau. Do đó, phần trăm tương đồng cũng có thể được tính toán dựa trên polypeptit được mã hóa bởi axit nucleic. Phần trăm tương đồng có thể được tính toán dựa trên trình tự hệ gen liên ứng đầy đủ chiều dài hoặc trên một phần của trình tự hệ gen, chẳng hạn như ví dụ, nhưng không chỉ giới hạn ở trên các khung đọc mở (ORF) riêng rẽ.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “virus sống đã được biến đổi” áp dụng cho bất kỳ hạt virus riêng rẽ nào (tức là, virion) hoặc vô số hạt virus mà trình tự gen của chúng đã bị biến đổi từ trình tự gen của virus kiểu đại có trong tự nhiên nhưng vẫn tạo ra khả năng miễn dịch bảo vệ chống lại virus kiểu đại. Biến đổi bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, đột biến gen, chẳng hạn như chèn thêm hoặc xóa bớt nucleotit và đột biến đồng hóa và đột biến dị hoán mà biến đổi một nucleotit thành nucleotit khác. Biến đổi có thể được thực hiện bằng cách thích nghi virus với bản sao trong hệ thống nuôi cấy mô, và tiếp tục cấy chuyển virus trong hệ thống nuôi cấy mô, nhờ đó, virus tích lũy các đột biến gen. Biến đổi cũng có thể được thực hiện sử dụng kỹ thuật phân tử. Virus đã giảm độc lực từ tập con của virus sống đã được biến đổi.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “giảm độc lực” hoặc “việc làm giảm độc lực” có nghĩa là khả năng của virus gây ra hoặc làm trầm trọng thêm bệnh lâm sàng đã giảm đi hoặc bị loại bỏ. Virus đã giảm độc lực vẫn có thể lây nhiễm tế bào chủ, hoặc *in vitro* hoặc *in vivo*, và lây nhiễm này có thể dẫn đến tác động cận lâm sàng trong cơ quan vật chủ, nhưng lây nhiễm này có thể không dẫn đến một hoặc nhiều triệu chứng bệnh lâm sàng.

Ngược lại, như được sử dụng ở đây, virus “bị bất hoạt” có nghĩa là virus mà không còn sao chép trong tế bào chủ được nữa. Virus bị bất hoạt được xem là virus đã bị giết hoặc virus đã chết. Việc bất hoạt có thể được thực hiện bằng nhiều phương pháp khác nhau bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở biến đổi hóa học của protein virus, biến đổi vật lý hoặc hóa học trong cấu trúc của virion, hoặc biến đổi vật lý hoặc hóa học trong axit nucleic của virus.

“Kháng nguyên” là bất kỳ phân tử có khả năng bị phát hiện đặc hiệu bởi hệ miễn dịch của sinh vật. Thông thường, kháng nguyên virus là protein virus được mã hóa bởi hệ gen virus hoặc có nguồn gốc từ sản phẩm của hệ gen virus. Sự có mặt của kháng nguyên virus có thể được phát hiện đặc hiệu bằng thụ thể kháng nguyên bề mặt của cả tế bào lympho T của vật chủ và tế bào lympho B của vật chủ và bằng phân tử kháng thể được tổng hợp bởi tế bào chủ.

“Tính sinh miễn dịch” dùng để chỉ khả năng của kháng nguyên tạo ra đáp ứng miễn dịch, đáp ứng miễn dịch này bao gồm cả đáp ứng đặc hiệu kháng nguyên và đáp ứng không đặc hiệu kháng nguyên hoặc đáp ứng miễn dịch bẩm sinh. “Miễn dịch bảo vệ” là đáp ứng miễn dịch có thể làm giảm hoặc ngăn ngừa triệu chứng lâm sàng khi động vật đã tạo miễn dịch được thử thách hoặc phơi nhiễm với chủng virus gây bệnh. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ đánh giá, miễn dịch bảo vệ có thể suy giảm theo thời gian hoặc tuổi của động vật đã được tạo miễn dịch tăng lên. Miễn dịch bảo vệ như được sử dụng ở đây nên có hiệu quả trong ít nhất bốn tháng, tốt hơn nếu trong ít nhất sáu tháng, từ ngày tạo miễn dịch muộn nhất. Miễn dịch bảo vệ có thể được tạo ra với một liều vắc-xin duy nhất. Liều thứ hai hoặc liều tiếp theo có thể được sử dụng để làm tăng hoặc kéo dài đáp ứng miễn dịch bảo vệ. Ví dụ, làm tăng đáp ứng miễn dịch bảo vệ cho lợn nái sinh sản có thể dẫn đến nồng độ của kháng thể có nguồn gốc từ mẹ trong lợn con tăng lên.

Ngược lại với kháng nguyên, “chất phụ gia” là chất kích thích không đặc hiệu của đáp ứng miễn dịch. Chất phụ gia có thể kích thích đáp ứng miễn dịch bẩm sinh bằng cách liên kết và hoạt hóa thụ thể nhận diện mô hình (PRR). Chất kích thích PRR này có thể là, ví dụ, axit nucleic virus hoặc vi khuẩn, lipid từ vi khuẩn hoặc ký sinh trùng, hoặc protein hoặc độc tố virus, hoặc bất kỳ chất bất chước cấu trúc nhân tạo của các phân tử này. Chất phụ gia cũng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: hợp chất vô cơ làm kết tụ kháng nguyên để tế bào lympho B dễ dàng nhận ra hoặc đại thực bào hấp thu, chẳng hạn như, phèn, nhôm hydroxit, nhôm photphat, canxi photphat hydroxit hoặc nhôm sulfat; dầu hoặc chất tẩy rửa. Chất phụ gia cũng có thể là chất trung gian truyền tín hiệu miễn dịch của vật chủ chẳng hạn như, nhưng không chỉ giới hạn ở, xytokin, lymphokin, chemokin, interferon,

anaphylatoxin, yếu tố sinh trưởng, yếu tố biệt hóa, và phân tử kết dính.

Như được sử dụng ở đây, “chế phẩm sinh miễn dịch” là chế phẩm mà tạo ra đáp ứng miễn dịch khi được cung cấp cho động vật. Chế phẩm sinh miễn dịch bao gồm ít nhất một kháng nguyên và ít nhất một tá dược được dùng. Kháng nguyên có thể là toàn bộ virus, vi khuẩn hoặc tác nhân gây bệnh khác hoặc sống hoặc đã bị bất hoạt. Kháng nguyên cũng có thể được phân lập, tinh sạch, hoặc tinh sạch một phần phân tử kháng nguyên từ virus, vi khuẩn, hoặc tác nhân gây bệnh khác. Kháng nguyên có thể là polypeptit, polysaccarit, axit nucleic hoặc lipid.

Như được sử dụng ở đây, “vắc-xin” là chế phẩm sinh miễn dịch giúp bảo vệ, chống lại, ngăn ngừa hoặc làm giảm triệu chứng bệnh khi được cung cấp cho động vật, trong đó triệu chứng này gây ra bởi sinh vật gây bệnh, ví dụ, virus. Vắc-xin PRRS có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, kháng nguyên virus hoặc virion nguyên vẹn, hoặc sống hoặc bị bất hoạt, trong chế phẩm với ít nhất một tá dược được dùng.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “điều trị”, “để điều trị”, hoặc “việc điều trị”, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, cản trở, làm chậm, ngăn chặn, làm giảm, cải thiện, hoặc đảo chiều tiến triển hoặc mức độ nghiêm trọng của triệu chứng, rối loạn, tình trạng bệnh hoặc bệnh hiện có. Điều trị có thể được áp dụng hoặc dùng liệu pháp trị liệu.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “ngăn ngừa”, “để ngăn ngừa” hoặc việc “ngăn ngừa”, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, làm giảm, làm nhẹ, hoặc cải thiện nguy cơ mắc triệu chứng, rối loạn, tình trạng bệnh hoặc bệnh, và bảo vệ động vật khỏi triệu chứng, rối loạn, tình trạng bệnh hoặc bệnh. Ngăn ngừa có thể được áp dụng hoặc dùng liệu pháp dự phòng.

Như được sử dụng ở đây, “dùng cho động vật” bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở dùng theo đường da, dưới da, trong cơ, niêm mạc, dưới niêm mạc, qua da, miệng hoặc trong mũi. Dùng có thể bao gồm dùng tại chỗ hoặc tiêm.

Thuật ngữ “tá dược được dùng” dùng để chỉ các tá dược thường được sử dụng trong điều chế dược phẩm và thuốc thú y và nên là tinh sạch và không độc trong hàm lượng được sử dụng. Theo các phương án nhất định, dược phẩm có thể chứa tá dược để làm biến đổi, duy trì hoặc bảo quản, ví dụ, độ pH, độ thẩm thấu, độ nhớt, độ trong, độ đẳng trương, tính vô trùng, độ ổn định, độ hấp thụ hoặc độ thâm nhập của chế phẩm. Một vài ví dụ về tá dược có thể chấp nhận được tìm thấy trong, ví dụ, Remington's Pharmaceutical Sciences and the Handbook of Pharmaceutical Excipients, Tái bản lần thứ 18, (A. R. Genrmo, ed.), 1990, Mack Publishing Company và các lần tái bản sau và Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lloyd V. Allen, ed., Pharmaceutical Press, London, UK, tái bản lần thứ 22, 2012. và bao gồm chất pha loãng, tá dược lỏng, chất mang, chất ổn định, chất bảo quản, dung môi, chất tạo huyền phù, chất nhũ hóa, thuốc kháng sinh, chất chống oxy hóa, chất đệm, chất tạo chelat, chất tạo phức, cacbohydrat, protein, chất pha loãng và/hoặc chất phụ gia dược phẩm. Theo các phương án nhất định, tá dược lỏng hoặc chất mang chính

trong được phẩm về bản chất có thể chứa hoặc không chứa nước. Ví dụ, tá được lỏng hoặc chất mang thích hợp có thể là nước để tiêm, dung dịch nước muối sinh lý với vật liệu khác thường có trong chế phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “lợn” dùng để chỉ chỉ lợn, bất kỳ động vật nào thuộc chi *Sus* trong họ *Suidae* có móng guốc chẵn.

Ví dụ thực nghiệm sau đây cũng minh họa cho virus PRRS sống đã được biến đổi. Ví dụ thực nghiệm sau đây cũng minh họa cho chế phẩm sinh miễn dịch chứa virus PRRS sống đã được biến đổi. Ví dụ thực nghiệm sau đây cũng minh họa việc sử dụng virus PRRS sống đã được biến đổi để ngăn ngừa hoặc làm giảm triệu chứng của PRRS ở lợn. Sẽ được đánh giá cao rằng các phương án và sử dụng khác sẽ được đánh giá cao với những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật và rằng sáng chế không bị giới hạn ở các ví dụ minh họa cụ thể này hoặc các phương án ưu tiên.

Ví dụ 1

Mục đích của nghiên cứu này là để xác định chủng tiềm năng để phát triển vắc-xin. Tổng cộng 36 dòng phân lập PRRS typ 1 được đánh giá tiềm năng của chúng dưới dạng vắc-xin. Dưới đây là việc điều chế virus gốc dự bị (Pre-MSVs) của bốn chủng virus PRRS typ 1 (PRRSV-1). DE 14-3073, ES 13-49, IT 14-32, và PL 14-02.

Dòng phân lập ban đầu đối với chủng PRRSV-1 được thực hiện sử dụng huyết thanh và mô phổi có nguồn từ đàn lợn được chẩn đoán bởi kết quả thử nghiệm dương tính PRRSV trong năm 2013 đến 2014 ở châu Âu. Đàn lợn không được chủng ngừa vắc-xin chống lại PRRSV nhưng trải qua các dấu hiệu lâm sàng đặc trưng đối với lây nhiễm PRRSV, bao gồm mất khả năng sinh sản ở lợn nái và lợn cái con mang thai (tức là, sảy thai giai đoạn muộn, đẻ sớm, đẻ non và lợn con chết non và/hoặc chết trước khi cai sữa) và/hoặc chậm lớn và các vấn đề bệnh hô hấp ở lợn giai đoạn nhỏ tuổi.

Dòng phân lập virus được thực hiện trong nuôi cấy sơ cấp đại thực bào phế nang lợn (PAM). Để thu mầm nuôi cấy PAM, lợn con 3 tuần tuổi được sử dụng làm vật hiến. Tóm lại, thu lấy phổi trong điều kiện vô trùng sau khi lợn cho được cho chết nhân đạo êm ái và sau đó rửa với muối đệm photphat để thu lấy tế bào PAM. Huyền phù tế bào thu được được ly tâm tại 800 vòng/phút trong 15 phút tại 4°C và loại bỏ dịch nổi. Tế bào co cụm được tạo huyền phù lại trong môi trường Eagle đã biến đổi của Dulbecco (DMEM) và rửa hai lần sử dụng DMEM làm chất pha loãng sau các điều kiện ly tâm ở trên.

Đếm số lượng tế bào và gieo trong các giá thể khác nhau (tức là, bình hoặc đĩa nuôi cấy tế bào có kích thước khác nhau) tại nồng độ cuối cùng là 3×10^6 tế bào/mL trong DMEM được bổ sung 10% huyết thanh thai bò (FBS) và dung dịch kháng sinh-kháng nấm (100 đơn vị/ml penexilin, 100 mg/mL streptomycin và 0,25 µg/mL amphotericin B). Các tế bào được nuôi cấy ở 37°C trong không khí ẩm với 5% CO₂.

Các mẫu lâm sàng được xử lý theo các quy trình khác nhau phụ thuộc bản chất của chúng. Do đó, các mẫu huyết thanh được lọc qua đầu lọc ống tiêm vô trùng 0,22 µm và giữ

tại -80°C cho đến khi được sử dụng cho dòng phân lập virus. Mặt khác, các mẫu mô, bao gồm amidan và phổi, được đồng nhất hóa 1:10 sử dụng DMEM làm chất pha loãng. Chất đồng nhất được gạn bằng ly tâm tại 2500 vòng/phút trong 15 phút và dịch nổi được lọc qua đầu lọc ống tiêm vô trùng $0,22\text{ }\mu\text{m}$ và giữ tại -80°C cho đến khi được sử dụng cho dòng phân lập virus.

Để lây nhiễm mẹ nuôi cấy PAM, môi trường được loại bỏ và các mẫu lâm sàng (tức là, các mẫu huyết thanh đã xử lý hoặc các mẫu mô đã xử lý) được thêm vào với hàm lượng khác nhau phụ thuộc vào giá thể được sử dụng. Sau 1,5 giờ tại 37°C , để hấp thụ, các mẹ nuôi cấy được rửa và DMEM mới được bổ sung như để bảo dưỡng tế bào được thêm vào. Quan sát sự hủy hoại tế bào hàng ngày trên các mẹ nuôi cấy. Khi quan sát thấy CPE, các mẹ nuôi cấy được thu hoạch. Sau ba chu trình cấp đông và giải đông, mảnh vụn tế bào được loại bỏ bằng cách ly tâm tại 2500 vòng/phút tại 4°C trong 15 phút và dịch nổi được cấp đông và bảo quản tại -80°C . Sự có mặt của virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (PRRSV) được xác nhận bằng phản ứng chuỗi polymeraza và phiên mã ngược (RT-PCT).

Khi không quan sát thấy CPE, mẹ nuôi cấy được xem là âm tính và mẫu lâm sàng ban đầu (tức là, mẫu huyết thanh hoặc mẫu mô) được sử dụng trong thử nghiệm sinh học và được cấy vào lợn con 3 tuần tuổi được nuôi cách ly. Với mục đích này, các mẫu lâm sàng được lọc và tiêm, bằng đường tiêm bắp, cho lợn. Sau một tuần, mẫu máu được lấy từ lợn phơi nhiễm để xác định virus trong máu bằng RT-PCR. Lợn được xác nhận là có virus trong máu được giết chết nhân đạo và thu lấy mẫu máu, amidan, phổi lúc mổ tử thi và được sử dụng làm chất để tiêm chủng cho lần thử nghiệm phân lập virus lần thứ hai trong mẹ nuôi cấy PAM theo phương pháp đã được mô tả trước đây.

Sự sinh trưởng của dòng phân lập PRRSV trong dòng tế bào MARC-145 được thử chỉ đối với các dòng phân lập mà trình tự tốt trong PAM và có thể tạo ra nguồn giống. Với mục đích này, tế bào MARC-145 trong bình nuôi cấy tế bào 25 cm^2 tại nồng độ 5×10^5 tế bào/bình được giữ tại 37°C trong không khí có 5% CO_2 trong DMEM được bổ sung 10% FBS và dung dịch kháng sinh - kháng nấm (100 đơn vị/mL penicillin, $100\text{ }\mu\text{g/mL}$ streptomycin và $0,25\text{ }\mu\text{g/mL}$ amphotericin B). Các mẹ nuôi cấy trước khi hợp lưu được lây nhiễm với dịch nổi của mẹ nuôi cấy PAM dương tính theo quy trình giống như được mô tả đối với việc lây nhiễm mẹ nuôi cấy PAM. Sau khi hấp thụ, tế bào được rửa và nuôi cấy trong DMEM được bổ sung với 5% FBS và dung dịch kháng sinh-kháng nấm đã đề cập ở trên.

Sau khi phân lập ban đầu, virus được khuếch đại và vật liệu virus sơ cấp (với thể tích ít nhất là 100 mL) được tạo ra cho mỗi dòng phân lập trong môi trường PAM. Với mục đích này, tế bào PAM được nuôi cấy trong 24 giờ tại 37°C trong không khí có 5% CO_2 trong lọ 75 cm^2 tại nồng độ 3×10^6 tế bào/mL trong DMEM được bổ sung với 10% FBS và dung dịch kháng sinh-kháng nấm như đã mô tả trước đây. Sau đó môi trường được loại bỏ, tế bào được rửa với DMEM mới và chất để tiêm chủng virus được thêm vào. Sau 1,5

giờ tại 37°C, để hấp thụ, các mẻ nuôi cấy được rửa và DMEM mới được bổ sung như để bảo dưỡng tế bào được thêm vào. Quan sát CPE hằng ngày trên các mẻ nuôi cấy. Khi hầu hết các tế bào trong mẻ nuôi cấy bị giết, mẻ nuôi cấy được thu hoạch. Sau 3 chu kỳ cấp đông và rã đông, mảnh vụn tế bào được loại bỏ bằng cách ly tâm tại 2500 vòng/phút tại 4°C trong 15 phút và dịch nổi chứa virus được cấp đông và bảo quản tại -80°C. Nồng độ virus được tính toán theo phương pháp của Reed and Muench (1938) và được biểu diễn dưới dạng TCID₅₀/mL. Nguyên liệu virus được giữ tại -80°C và được sử dụng trong nhiều mục đích khác nhau trong nghiên cứu.

Quy trình tương tự được sử dụng với mẻ nuôi cấy tế bào MARC-145. Mẻ nuôi cấy tế bào MARC-145 đã được tiêm chủng như được mô tả trước đây cho dung dịch ban đầu và duy trì tại 37 °C trong không khí có 5% CO₂. Khi CPE rõ ràng (tức là, tác động đến xấp xỉ 70-80% lớp đơn) hoặc sau 5 ngày nuôi cấy nếu không quan sát thấy CPE, các mẻ nuôi cấy trải qua ba chu trình cấp đông và rã đông, gạn bằng cách ly tâm tại 2500 vòng/phút trong 15 phút và dịch nổi được sử dụng để cấy cho mẻ nuôi cấy tế bào MARC-145 mới. Dịch nổi còn lại của mỗi lần cấy chuyển được bảo quản tại -80°C. Tổng cộng có 60 lần cấy chuyển trong dòng tế bào MARC-145 được đảm bảo cho mỗi dòng phân lập PRRSV.

Vào lần cấy chuyển 30 và 50, nguyên liệu virus được tách dòng bằng cách làm sạch mảng bám, theo phương pháp tiêu chuẩn. Tóm lại, đĩa 6 trước được gieo với MARC-145 trước đây được cấy khi mẻ nuôi cấy được hợp dòng sơ bộ với dịch pha loãng hàng loạt của mỗi vật liệu virus, từ 10¹ đến 10⁶. Sau 1,5 giờ hấp thụ, chất để tiêm chủng được loại bỏ từ mỗi giếng và tế bào được phủ bằng môi trường DMEM mới được bổ sung 5% FBS, dung dịch kháng sinh-kháng nấm đã nêu ở trên và 1% agarose nóng chảy thấp. Sau 2-4 ngày nuôi cấy, tùy thuộc vào dòng phân lập, các mảng cấy riêng rẽ được lựa chọn dưới kính hiển vi tương phản và nhạt. Ít nhất năm mảng được lựa chọn cho mỗi virus trong mỗi vòng tinh sạch dựa trên sự phân lập hoàn toàn trong lớp đơn để đảm bảo bản chất vô tính của các virus được chọn. Các mảng đã chọn được sử dụng làm chất để tiêm chủng cho vòng tinh sạch tiếp theo. Quy trình được lặp lại ba lần để đảm bảo rằng dòng dõi virus thu được bắt nguồn từ một virus duy nhất.

Ví dụ 2

Mục đích của nghiên cứu này là để tiếp tục định rõ đặc điểm của chủng phân lập PRRS-1. Một phần của ORF1 mã hóa đối với nsp2 và ORF 2 đến 7 được khuếch đại bằng RT-PCR sử dụng bộ môi đã được thiết kế trước đây. Với mục đích này, thu lấy ARN tổng số từ nguồn virus sử dụng kit QIAMP® Viral RNA Mini (Qiagen, USA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Đối với phản ứng chuỗi polymeraza và phiên mã ngược (RT-PCR), 15 µL ARN tổng số được sử dụng làm khuôn. Phản ứng được thực hiện sử dụng kit RT-PCR một bước bán sẵn (Superscript III OneStep RT-PCR PLATINUM TAQHIFI®, Invitrogen, USA), theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sản phẩm RT-PCR được tinh sạch sử dụng kit (QIAQUICK® Purification Gel Kit, Qiagen, USA) bán sẵn theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các trình tự riêng rẽ của cả chủng của cả hai sợi ADN của mỗi sản phẩm PCR được

xác định sử dụng cùng một cặp mồi sử dụng cho RT-PCR, khuếch đại các mẫu bằng PCR không đối xứng với đầu cuối huỳnh quang và phân tích sản phẩm bằng điện di trên lăng kính ABI 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA). Ít nhất hai sản phẩm RT-PCR khác nhau được giải trình tự để xác minh rằng không có lỗi xảy ra trong suốt quá trình khuếch đại và rằng trình tự thu được là chính xác. Trình tự được chỉnh sửa thủ công, loại bỏ lỗi và căn chỉnh sử dụng phần mềm Clustal Omega. Trình tự thu được được so sánh với virus Lelystad nguyên mẫu PRRSV kiểu gen 1 và chủng vắc-xin mà tạo thành cơ sở của vắc-xin PORCILIS® PRRS (MSD Animal Health) (chủng DV), UNISTRAN® PRRS (Laboratorios Hipra) (chủng VP-046 BIS) và INGELVAC PRRSFLEX® EU (Boehringer Ingelheim) (chủng 94881). Ngoài ra, chúng được so sánh với chủng VR-2332 nguyên mẫu kiểu gen 2 là chủng của vắc-xin INGELVAC PRRS® MLV vaccine (Boehringer Ingelheim), bán sẵn trên thị trường ở châu Âu.

Độ tương đồng nucleotit giữa các dòng phân lập PRRSV thu được được tính toán cũng như độ tương đồng giữa mỗi dòng phân lập và chủng vắc-xin có sẵn tại thời điểm phân lập với mục đích là để xác nhận rằng chủng phân lập không liên quan đến nhau và rằng chúng không bắt nguồn từ vắc-xin bán sẵn trên thị trường tại thời điểm thu thập mẫu lâm sàng. Ngoài ra, cây phát sinh chủng loại được xây dựng sử dụng phương pháp nổi trình tự hàng xóm và bao gồm VR-2332, nguyên bản của kiểu gen ở Mỹ, như một nhóm ngoài để xác định kiểu phụ mà các dòng phân lập Châu Âu thuộc về. Để đánh giá độ tin cậy thống kê của các dendrograms, các giá trị khởi động được tính toán (hạt số ngẫu nhiên: 123; 1,000 bản sao). Tất cả các phân tích phát sinh chủng loại được thực hiện với phần mềm MEGA 5.0.

PRRSV-1 còn tiếp tục bị giảm độc lực bằng cách cấy chuyển 10 lần (đến P70) trong tế bào MARC-145 trong môi trường sinh trưởng OPTI-MEM® I (Cat No. 31985, Life Technologies), được bổ sung với 2% huyết thanh thai bò (FBS; Cat No. 12003C và 12007C từ Sigma và Cat No. 04-4000DJ từ Gibco) và 50 µg gentamixin/mL (Cat No. 15750, Life Technologies) và bằng cách cấy chuyển thêm 15 lần nữa (đến P85) trong môi trường sinh trưởng giống nhau được bổ sung với 2% FBS không có gentamixin. Độ tương đồng của PRRSV-1 cấy chuyển lần thứ 85 (P85) được xác nhận bằng thử nghiệm miễn dịch huỳnh quang (IFA) gián tiếp sử dụng kháng thể đơn dòng đặc hiệu PRRSV và P85 PRRSV-1 được xem là virus nguồn dự bị (pre-MSV).

Quy trình sau đây được sử dụng để xác định nồng độ của PRRSV-1. Tế bào MARC-145 được gieo vào trong đĩa 96 giếng tại mật độ là $0,75$ đến $1,5 \times 10^4$ tế bào trong 100 µL môi trường sinh trưởng (OPTI-MEM® I được bổ sung thêm 5% FBS và 50 µg/mL gentamixin). Tế bào được ủ trong $37 \pm 2^\circ\text{C}$ và $5 \pm 1\%$ CO₂ trong tủ ủ trong 48-72 giờ cho đến khi tế bào hợp dòng trên 95%. Vào ngày chuẩn độ, tất cả môi trường đều được loại bỏ từ đĩa 96 giếng và thay thế bằng 100 µL môi trường sinh trưởng mới.

Dịch pha loãng 10 lần của PRRSV-1 được điều chế bằng chất pha loãng (môi trường OPTI-MEM® I, 50 µg/mL gentamixin) và biến nạp vào tế bào tương ứng trên đĩa đã chuẩn

bị như ở trên cùng với đôi chứng âm chứa một mình chất pha loãng và đôi chứng dương với nồng độ đã biết. Các đĩa chuẩn độ được ủ trong $37 \pm 2^\circ\text{C}$ với $5 \pm 1\%$ CO_2 trong tủ ủ trong 4 ngày. Tại cuối thời gian ủ, mỗi đĩa được quan sát sự xuất hiện của sự hủy hoại tế bào (CPE) do virus gây ra trong mỗi giếng mẫu sử dụng kính hiển vi nghịch đảo. Liều lượng lây nhiễm nuôi cấy mô 50% (TCID_{50}) được tính toán sử dụng phương pháp Reed-Muench và nồng độ được ghi lại dưới dạng $\log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$. Khoảng nồng độ của P85 PRRSV-1 là 8,1-8,5 $\log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$.

Ví dụ 3

Mục đích của nghiên cứu này là xác định trình tự của pre-MSV. Để xác định trình tự hệ gen của mỗi dòng phân lập virus, virus sinh trưởng trong tế bào MARC-45 được cô đặc và tinh sạch bằng siêu ly tâm trên đệm sucroza và ARN được chiết sử dụng kit MINELUTE Virus Spin Kit (Qiagen) TRIZOL LS (Invitrogen). Trình tự hệ gen đầy đủ được xác định bằng nhiều lần chạy giải trình tự next-Gen (NGS) sử dụng nền tảng ILLUMINA® MISEQ® và/hoặc hệ thống NEXTSEQ500 tại Bioreliance (Rockville, MD) và ACGT (Wheeling, IL). Trình tự và khoảng trống biến đổi và không chắc chắn được cố định bằng cách giải trình tự dideoxy Sanger và trình tự hệ gen đầy đủ liên ứng được tạo ra. Trình tự nucleotit được sắp thẳng hàng và được so sánh với PRSSV-1 được chọn đã biết và virus vắc-xin bán sẵn bằng công cụ sắp thẳng hàng nucleotit cây gần hàng xóm sử dụng phần mềm Geneious 10.1.3. (Fig. 1)

Chủng PRRSV-1 MLV được kí hiệu là Pre-MSVs được nộp lưu dưới điều kiện đảm bảo rằng việc tiếp cận với mẽ nuôi cấy trong quá trình thẩm định đơn sáng chế này đến chủng được xác định bởi ủy viên hội đồng sáng chế và nhãn hiệu để cho lên tiêu đề theo điều 37 C.F.R. §1.14 và 35 U.S.C. §122. Việc nộp lưu sẽ có sẵn như được yêu cầu bởi luật sáng chế nước ngoài ở các quốc gia trong đó bản sao của đơn hoặc thể hệ con cháu của nó được nộp. Tuy nhiên, nên hiểu rằng việc có sẵn của vật gửi không cấu thành nên giấy phép để thực hành sáng chế trong làm trái quyền sáng chế được cấp bởi chính phủ. Đối tượng nộp lưu nuôi cấy sẽ được bảo quản và được cung cấp cho công chúng theo các quy định của Hiệp ước Budapest về nộp lưu vi sinh vật, tức là, nó sẽ được lưu trữ với tất cả sự cẩn thận cần thiết để giữ cho nó có thể tồn tại và không bị ô nhiễm trong một khoảng thời gian ít nhất năm năm sau yêu cầu cung cấp mẫu gửi gần đây nhất và trong mọi trường hợp, trong khoảng thời gian ít nhất 30 (ba mươi) năm sau ngày nộp lưu hoặc đối với thời hạn hiệu lực của bất kỳ bằng sáng chế nào có thể cấp tiết lộ mẽ nuôi cấy được nộp lưu. Người nộp lưu nhận nhiệm vụ thay thế vật gửi nếu cơ quan lưu ký không thể cung cấp mẫu khi được yêu cầu, do điều kiện của khoản nộp lưu. Tất cả các hạn chế về khả năng cung cấp cho công chúng của vật gửi nuôi cấy sẽ bị hủy bỏ khi được cấp bằng sáng chế tiết lộ nó. Vật gửi PRRSV-1 Pre-MSVs đã được đưa vào bộ sưu tập vĩnh viễn của Cơ quan Lưu ký Bằng sáng chế của Phòng thí nghiệm chủng chuẩn Hoa Kỳ, đặt tại 10801 University Blvd., Manassas, Va., 20110-2209, Hoa Kỳ, vào ngày 7 tháng ba năm 2019 theo các điều khoản của Hiệp ước Budapest, theo đó các chủng này được gán số truy cập PTA- 125490 (DE 14-3073);

PTA-125489 (ES 13-49); PTA-125488 (CNTT 14-32) PTA-125487 (PL 14-02); bởi kho lưu trữ.

Tính an toàn và hiệu quả của các chế phẩm sinh miễn dịch và vắc-xin vi-rút gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn sống đã được biến đổi, có thể được xác định bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này, bao gồm đáp ứng liều lượng, sự khởi phát của miễn dịch, thời gian miễn dịch, và sự phát tán và lây truyền của virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn. Cũng có thể dễ dàng xác định được sự thiếu hụt của khả năng đảo ngược thành độc lực của bất kỳ Pre-MSV nào.

Trình tự liên ứng cADN của bốn chủng virus PRRS ở lợn cây chuyển 85 (P85) được gửi trong cơ sở dữ liệu trình tự di truyền GenBank, một bộ sưu tập có chú thích của tất cả các trình tự axit nucleic có sẵn công khai. Cơ sở dữ liệu GenBank được duy trì bởi Trung tâm Tin sinh Quốc gia (NCBI), một bộ phận của Viện Y tế Quốc gia Hoa Kỳ (NIH). GenBank là một phần của Hợp tác Cơ sở dữ liệu Trình tự Nucleotit Quốc tế.

Trình tự liên ứng cDNA của chủng PRRS DE14-3073 tại P85 đã được gán số hiệu đăng ký GenBank MK024324 (SEQ. ID. NO:1). Trình tự liên ứng cADN được gọi là SEQ. ID. NO:1.

Trình tự liên ứng cADN của chủng PRRS ES13-49 tại P85 đã được gán số truy cập GenBank MK024325 (SEQ. ID. No: 2). Trình tự liên ứng cADN được gọi là SEQ. ID. No: 2.

Trình tự liên ứng cADN của chủng PRRS IT14-32 tại P85 đã được gán số truy cập GenBank MK024326 (SEQ. ID. No: 3). Trình tự liên ứng cADN được gọi là SEQ. ID. No: 3.

Trình tự liên ứng cADN của chủng PRRS PL 14-02 tại P85 đã được gán số truy cập GenBank MK024327 (SEQ. ID. No: 4). Trình tự liên ứng cADN được gọi là SEQ. ID. No: 4.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ nhận ra đuôi poly-adenosin, nếu có, mỗi trình tự trong số các trình tự gen liên ứng có thể sẽ thay đổi chiều dài so với trình tự được báo cáo ở trên.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chủng virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome - PRRS) sống đã được biến đổi, trong đó trình tự ADN bổ sung liên ứng của chủng PRRS này tương đồng ít nhất 95% với SEQ ID NO: 2.
2. Chủng virus PRRS sống đã được biến đổi theo điểm 1, trong đó trình tự ADN bổ sung liên ứng của chủng PRRS này tương đồng ít nhất 98% với SEQ ID NO: 2.
3. Chủng virus PRRS sống đã được biến đổi theo điểm 1, trong đó chủng PRRS này là chủng ES 13-49 có tên là PTA-125489.
4. Chủng PRRS theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-3, trong đó chủng virus PRRS này được cấy chuyển ít nhất 85 lần trong tế bào nuôi cấy mô.
5. Chế phẩm sinh miễn dịch chứa chủng virus PRRS sống đã được biến đổi có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 90% với SEQ ID NO: 2, và tá dược được dụng, chất ổn định, chất làm tan hoặc chất pha loãng.
6. Chế phẩm sinh miễn dịch chứa chủng virus PRRS sống đã được biến đổi có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 95% với SEQ ID NO: 2, và tá dược được dụng, chất ổn định, chất làm tan hoặc chất pha loãng.
7. Chế phẩm sinh miễn dịch chứa chủng virus PRRS sống đã được biến đổi có trình tự ADN bổ sung liên ứng tương đồng ít nhất 98% với SEQ ID NO: 2, và tá dược được dụng, chất ổn định, chất làm tan hoặc chất pha loãng.
8. Chế phẩm sinh miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm 5-7, trong đó chủng virus PRRS sống đã được biến đổi là chủng ES 13-49 có tên là PTA-125489.
9. Chế phẩm sinh miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 5-8, trong đó chế phẩm này còn chứa chất phụ gia.
10. Vắc-xin chứa chủng virus PRRS sống đã được biến đổi, trong đó chủng virus PRRS này là chủng ES 13-49 có tên là PTA-125489.

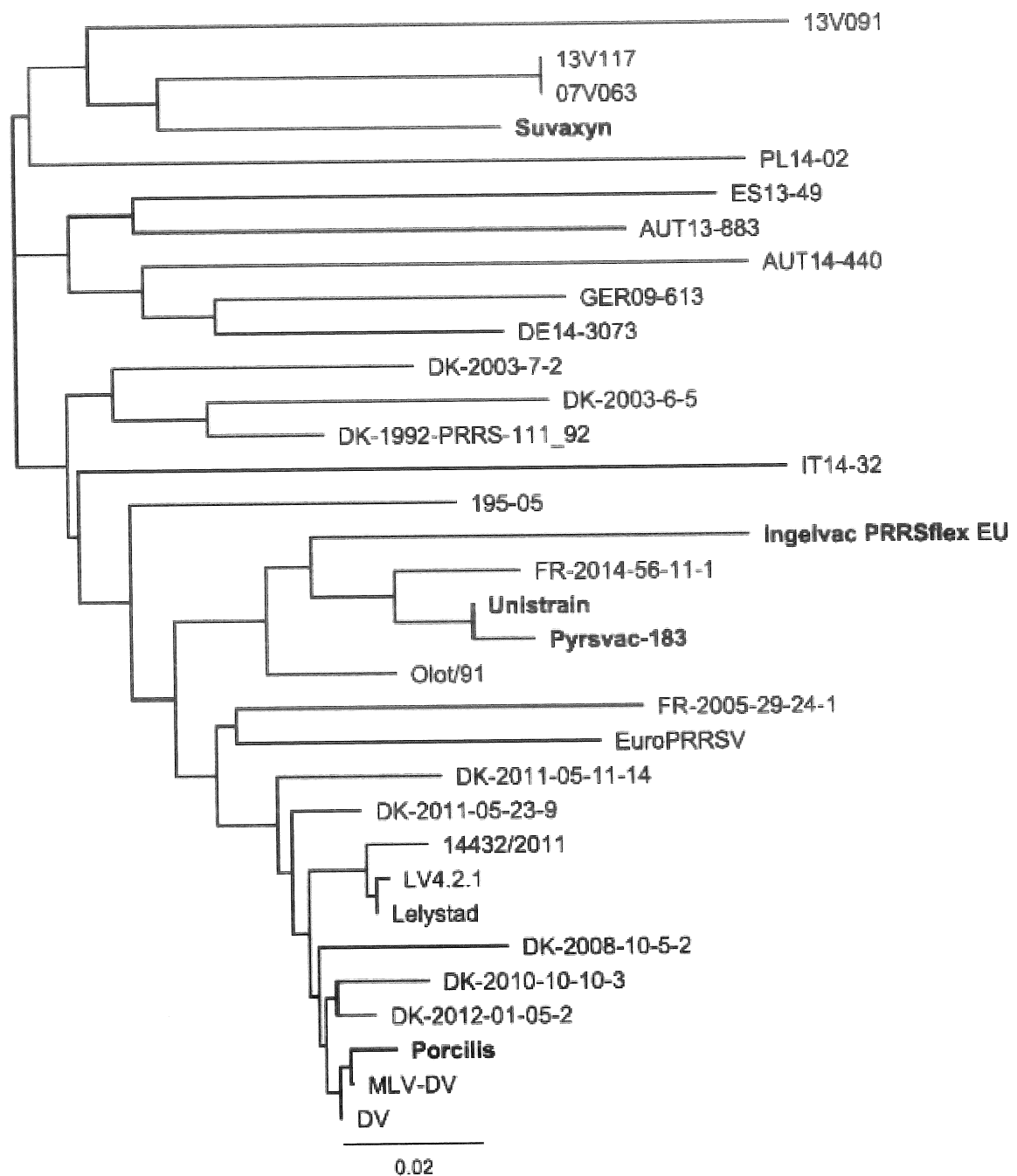


Fig. 1

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Elanco US INC.

Elanco UK AH Limited

<120> CHỨNG VIRUT GÂY HỘI CHỨNG RỐI LOẠN SINH SẢN VÀ HÔ HẤP Ở LỢN (PRRS) SỐNG
 ĐÃ ĐƯỢC BIẾN ĐỔI, CHẾ PHẨM SINH MIỄN DỊCH VÀ VẮC-XIN CHỨA CHỨNG VIRUT PRRS
 SỐNG ĐÃ ĐƯỢC BIẾN ĐỔI NÀY

<130> P3758PC00

<150> EP19382734.2

<151> 2019-08-29

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 15081

<212> DNA

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> cADN từ Virut gây Hội Chứng Rối loạn Sinh Sản và Hô Hấp ở Lợn

<400> 1

```

atgatgtgta gggatatttc cctacgtgcg caacactttt tgtgtttgtg tgcctcggag    60
gcgtgggtat agccccgccc cacctcttgg ccctgttcta gccaacagg tacccttctc    120
tctcggggcg agtgcgccgc ctgctgcttc cttgcagcgg gaaggacctc ccgagtactt    180
ccggagagcg cctgctttac gggatctcca cccttaacc atgtctggga cgttctcccg    240
gtgcatgtgc acccggcgcg ctgggtgtt ttggaacgcc ggccaagtct ttgcacacg    300
gtgtctcagt gcacggcttc ttctctctcc agagcttcag gacctcagtt ttggtgcact    360
cggcttgttt tacaagccta aagataagct tcattggaaa gttcctgttg gtatacctca    420
ggtagagtgc actccatccg ggtgctgttg gcttcagct atttccctc tggcacgtat    480
gacctccggc aaccacaact ttctccagag acttgtgaag gttgctgacg tttgtaccg    540
tgatggttgc ttggcgcccc gacatcttcg tgaactcaa gtttacgagc gcggctgcag    600
ttgttaccg attacgggac ccgtgcccgg gatgggtctg ttgcgaatt ccatgcacgt    660
atccgaccag ctttccctg gtgccacca tgtgctgact aactcgctc tgcctcaaca    720
ggcttgcgg cagcctttt gccatttga ggaggctcat tctggtttgt tcaagtggaa    780
taaattctg attttatag accccccct taacggtaga cgccgcatga tgtgggcacc    840
tgaatccgac gattcagcca acttgagggt gttgccgcct gaattagaac gtcaagtga    900

```

gattctcact cggagtttcc ctgctcacca cctgtcaac ctacgcgact gggagcttcc 960
cgactcccct gaacacgggt ttctctcag cacttatcat tctctgggt acgttgccaa 1020
aaacctgac gtgtttgata gcaagtgcgt gctttcctgt ttctgagct tgcgcctga 1080
gggtggcat cgtgaggagc tcttgctag cgcatttgg tacaacaa agtggggcgt 1140
gcatggcaaa tacctcaac gcaggctca aattaatggc atccgtgctg tggatgac 1200
agacggcccc attcacgtg aagcgtgctc ttgccccag tctggatca ggcattgac 1260
tctggacgat gaagtaacc cagggttctg tcgctgacg tctctcgca tcgtaccgaa 1320
cacagaacct accaccttc gcgtcttcg tttggggcg cataagtgt atggtgcgc 1380
cggtaaacga gctcgcgcaa agcgtgctc caagagcag aaggactcg ttactgcatc 1440
caaggctgc caaccaactc ttgcctgaa aaacaccacc tattccccac caacggacgg 1500
gtcttgggt tggcatgttc tcgcccat aatgaaccgg atgttaaat gtgactcac 1560
gtcccctta acccgtaca acagaccaga agatgattgg gcatcggatt atgacttgc 1620
tcaggcgatt caatgtctac aattacctgc taccatagc cggaatcgc cctgtcctaa 1680
tgctaaatac ctataaaac tcaacggagt tcaactggag gtagaggcaa ggtctgggt 1740
tgccctgc tccctccc gcgagtgt gtgcggtgt tgcctgaag gctgtgcgc 1800
aacacctac ccagagaatg ggctgcctaa gcgggcact gaggcctag cgtctgctta 1860
cagattgcct tccgattgc tcagtctgg cattgtgac ttcttgctg acccccctg 1920
ggagtttgg actctgaca aaatgctgac tccccatca ccgagcaat ccggcttcc 1980
tagtctgac agattgctat tagaggtgt cccgcaaaaa tgcggtgcca cggagggggc 2040
ttcatctat gccgtgaaa ggaattgaa ggattgtcca agttcaagc aggcattgac 2100
tctcctagca aaagtcaag tccatctc aaaggcctg tctgtgacct tggatgagt 2160
tttctacg gacgtccgg ccgactcaa gccagcgtc catgagaagc ctcaaagtc 2220
cgtactgt gtgtctgt gtaccggg agcagaagag tcagaaaaa tgaccctaga 2280
agaagtcgg gaggtggct ataaaacct tcgccctgca cccctactg aggtcctaa 2340
tgatgaacag gcacaagtag ctgtcggcga gcagtgagg ctacgggt gtggttggc 2400
agccgggaac gctccagccc cggctgtcc aattgacaca gtaagcagag atctccct 2460
tccgactc atgaagaaa acatgtcaa taattggag gatggacct tggattgtc 2520
ccaatcgga tcagctgtca tgacaaccc ttaggagag cacacatca aaaatccagg 2580

tcttggtatc ggtgactcc ctgtactgt tcgaggcttt acctcaacgg ggctcgtact 2640
tcgtcacgtt gagcactgcg gtacggagtt gggcgacgac agtccgcctt tggatttgc 2700
tgattcgcag acctcgaacc ggctctgga tctatcccta gctgcttggc cagtgaagac 2760
caccgcattc gaccctggct gggttcatgg tagacgcgaa cctgtctttg taaagcctcg 2820
gaatgtttc tctgatggcg attcagttct tcagtcggg ggacctcctg aatctagctc 2880
tgtcaccgag ttgaccgga caaaagatac tccggcggtc gacaccctg tcaactgac 2940
gactccaaac gagggcccc ctgtaaccga ttctcgtgaa ctgccgaac tcaaagccc 3000
gcgttttcc gcacaagccc taattgaccg aggcgggtcca ctgctgac tccatgcaga 3060
gataaaaaat cgggtatacg aacaatgcct ccaagcttgt gagcccgga gtcgtgcgac 3120
cccagccacc aagaagtggc ttgacaaaat gtgggatagg gtggacatga gaactggcg 3180
ctgcacctcg cagttcaag ctgctgcat tcttgcaccc ctgatttcc ttctgacat 3240
gatccgagac acaccacctc ctgtaccag gaagagccgg gttagtaca gtgtcgtct 3300
gaagcaacta gtgactcagt gggataagaa actgagtgtg gcccccgag aagggttat 3360
tgagtcagtg ctgacaaaa ccgtccgcc gccacggat gtccagcaag gagataccac 3420
ccctcccat gaaccaccg atgcgccgga ttgcctggc cgagtggga caagcagagg 3480
ttggaagggt cttagcttt cggcgcccc cctcggggg tctgtcagcc agcgcctcat 3540
ggcatgggt ttgaagttt actccatct cccagcttt atgctcacac tttctcgcc 3600
gcggggctct atggctcag gtgattggc tttgcaggt attgtctac ttgctctt 3660
gctctgctc tctaccaa tactcgggt cctacccta ttgggtgtct tttctggtc 3720
tctgcggcg gtcgtctgg gcgtatttg ctcttgatg gcttttctg ttttttatt 3780
cacgactcca tccaaccag tcggttctt ttgtgagcac gattgccgg aatgtcacgc 3840
tgagctctg gctctgagc agcgccaaact ttgggaacct gtgcggggc ttgtggtgg 3900
cccctcaggt ctctatgcg tattcttgg taggttact ggtgggtcac gttatctctg 3960
gcttgcttc ttacgtctat gcttgctgc agattggcc tttctctg tttatgtgt 4020
gtcccaggg cggtgccaca agtctgggg aaagtgtata aggacagccc ccacggaggt 4080
ggcttcaat gtgttccct ttcgcgcgc caccgttcc tctcttgt cctgtgtga 4140
tcgattcaa acacaaaag ggggtgatcc ggtgttctg gcaacaggt ggcgcgggtg 4200
ctggtgtgt gagagcccca ttcatcaat acacaaaaa cccatagctt acgccaact 4260

ggatgaaaag aagatatctg cccaaacggt agtcgctgtt ccatagatc ctaaccaagc 4320
tatcaaatgc ctgaaagttt tgcaggcggg gggggccatt gtggaccaac caacacctga 4380
ggtcgttcgt gtatccgaga tcccccttc agctccgtt ttcccgaaag ttccggtaaa 4440
cccagactgc aaggtagtgg tagattcgga cacttttg gctgcggtc gttgcggtta 4500
ctcaacaaca caactggtt tgggtcggg caatttgcc aagtgaatc agggcccttc 4560
taaggcctct gcttacaaa aaacgactgg tggggcctct tatactttg ctgtagtca 4620
agtgtctgtg tggacttta tccactcat tctcggcctt tgggtgatgt cgcctcaagt 4680
ttgtggtcga ggaactccg acccatggtg ttcagatcct tttcgtacc ccacttatgg 4740
cccaggcgtt gtgtgctcgt ctcaacttg tgtatccgc gatggtgta ccctaccgtt 4800
gttttcggcc gtggcccgac tttctggcag ggaggtgggg attttattt tagtgtttgt 4860
ctccttggtc gcttagccc atcgtgggc ccttaaggct gacatgttag taatctttt 4920
agcgtttgt gcttacgat ggcccatgag ttctggcta attgcctt tcccaacact 4980
cttaagggtg atcacctcc accctctcac catacttgg gtgcattcat tcttagtgtt 5040
ctgcctgccg gctgccggcg ttttctcatt agggataact ggtcttctt gggcagttgg 5100
acgtttacc caagttgccg gacttatcac acctatgac atccaccaat atacttctgg 5160
gccggtggt gcaactgtg tggccacggc tccagagggc acttacatgg ccgccgtccg 5220
gagagctgct ctaactgggc gaactctaat cttaccccg tctcgggtc ggtcccttct 5280
cgaaggtgct ttcaggactc ataaccttg cctcaacacc gtgaatgtt tgggttcttc 5340
cctcggttct ggaggagtct tcacattga tggcaggaaa actgtctca ctgccacca 5400
cgtgtgaat ggcgacacag ctgagttac cggtgactcc tacaaccga tctcacttt 5460
caagaccaat ggtgattatg cctgggtcca tctgatgac tggcagggtg ctgccccagt 5520
ggttaagatt acaaaaggat accgcggtg tcttattgg caaacatca cgggtgtcga 5580
gcccggatc attggagagg ggttcgctt ctgtttacc agctcgggtg actcggggtc 5640
gctgttata tctgaagctg gtgacctat cggcatccat actggtcaa acaaacttg 5700
ttcaggtctt gtgacaacc ctgaaggga gacctgctc attaaggaaa ctgactttc 5760
tgacctctt aagtatttg cgggtccgtg cgtccctt ggggacatta agttaagccc 5820
tgccatcatt cctgacatga catctgtcc aagcgactg gcatcgctt ttgcttctgt 5880
ccctgtcatg gagggcggtc tctgactgt tcaactttg tgtgtctt tcttctctg 5940

gcgcatgatg ggtcatgctt ggacacccat cgttgctgtg ggcttctttt tgctgaatga 6000
aatccttcca gcagtttag tccgagccgt gttctctttt gcactctttg tgcttgcag 6060
ggccaccccc tggctgcac aggtgcttat gatcagactt cttacagcgt ccctaaccg 6120
gaacaagtct tctctggcgt ttacgcatt cgggggtgtc gtcggcctgg ctgctgaaat 6180
cggaactttt gctggtaaac tacctgaatt gtctcaagct ctttcgacat actgctttt 6240
gccaagattt ctgtctgtat ctagtgtgt tccatcatic atcatcggtg ggcttcatgt 6300
tctcggcgtg attttgtgc tattcaaata ccggtacctt catgacgtgc tggttggtga 6360
tgggagtttt tcaaaagcct tcttctacg gtatttgcg gagggcaatc tcagaaagg 6420
tgtttcacaa tcctgtggca tgagtaacga gtcctaacg gctgctttgg cctgcaagtt 6480
gtcgcaagct gacctgaat tttatccag cttaacgaac ttcaagtgt tttgtctgc 6540
ctctaactg aaaaatgctg ctggccagta cattgaagca gcgtatgcca aggccctgcg 6600
ccaagagttg gcctctctag ttcaggttga caaatgaaa ggagtttgg ccaagcttga 6660
ggcctttgct gaaacagcca cccgtctct agacacgggt gatgtgattg ttctgcttg 6720
gcaacacct caccgatccg tcttcgacat aaatgtgggg actgagagga aaactgtgtc 6780
cgtgcaagag acccggagtt tggggcgctc caggttagt gttgtactg ttgtgtcaa 6840
taccctgtg gatgcctaa ccgacatccc actcaaaca ccaaccccc ttttgagaa 6900
tggtcacgc catcgtacg acgaagacga tcttaaggt gagaggaaaa agaaactg 6960
tgtgtccctc ggctccaca acatcaacgg taaggttac tgtaaaattt gggacaagtc 7020
caccggtgat acctttaca cagatgattc ccgtatact caagaccatg ttttcagga 7080
caggtcagcc gactacaggg acagggacta tgaaggtgtg caagccaccc cccacaggg 7140
atttgatcca aaatctgaaa ccccggttgg cactgtcgtg atcggcggtg tcactataa 7200
caggtatctg gtaaaaggta gagaggttct ggttctcaag cccgacaact gtctgaagc 7260
cgccaggttg tctctgagc aagctctgc tgggatgggc caaactgtg acctcacggc 7320
cgctgaagtg gaaaagctaa agcgtatcat cagtcaactt caaggcttga ccactgaaca 7380
agcttaaac ttttagccgc cagcggcttg acccgctgtg gccgcggcgg cttagtgtg 7440
actgaaacgg cggtgaaaat cataaaatac cacaacagaa ctttcactt aggcccttta 7500
gactgaaag tcacatccga ggtggaggtg aagaaatcaa ctgagcaagg ccacgtgtt 7560
gtggcaaact tatgtccgg tttgtcttg atgagacctc acccacgtc cttgttgac 7620

gttctcttga aacccggact tgacacgaca cctggtattc aaccggggca tggggccggg 7680
aatatgggcg tggacgggtc tatttgggat ttgaaaccg cacctacaaa ggcggaactt 7740
gagttgtcca agcaaataat tcaagcatgt gaagtcaggc gcggggacgc cccgaacctc 7800
caactccctt ataagctcta ccctgttaga ggggatcctg aacggcataa ggtgcctt 7860
atcaatacca ggttcggaga ttgccctat aaaactctc aggacaccaa gtccgcgatc 7920
catgcggctt gttgcttga cccaatgga gccccgtgt ctgatggcaa atccacgcta 7980
ggcaccactc ttcaacatgg tttgagctt tatgtccca ctgtgcccta tagtgtcatg 8040
gagtacctg attcacgccc tgacacctc ctcatgtca gcaaacatgg tacttccaag 8100
gctgctgcag aagatctcca aaaatatgat ctgtccacc aaggattgt cctgcctggg 8160
gttctgcgcc tagtgcgcaa attcatctc ggccacatag gtaaggcgcc gccattgtc 8220
cttccatcaa cctatccgc taagaattct atggcaggga tcaacggtca gaggtttcca 8280
acaaaggatg tccagagcat acctgaaatt gatgagatgt gtgcccgtgc cgtcaaggag 8340
aattggcaaa ctgtgacacc ttgtaccctc aagaagcagt actgttcaa gcctaaaacc 8400
aggaccatcc tgggcaccaa caattcatt gccctggctc acagatcagc actcagcggc 8460
gtcaccagg catttatgaa gaaggcttg gagtcccaa ttgctttggg aaaaaataaa 8520
ttcaaagagc tgcattgcac ggttgccggc aggtgccttg aggccgatct ggctcctgt 8580
gatgcagca cccccccat tgtaagatgg ttactgcca acctcctgta tgaactgca 8640
ggatgtgaag accatttgc cagctatgt cttactgct gtcatgacct cgtggcaaca 8700
caagatggcg ccttcacgaa acgtgggtgc ctgtcgtccg gggatccct cactagtgtg 8760
tccaacaccg tgtattcact agtgatttat gccagcaca tggattgtc agccctgaaa 8820
atgggccacg agattggtct caagttcctc gaggaacagc ttagattcga ggaccttctt 8880
gaaattcagc cttgctggt atactctgac gacctgtct tgatgctga aaaaccact 8940
tttccaatt accattggtg ggtgaacat ctgacttga tgttgggtt caagacggac 9000
ccgaagaaaa ctattataac agacaagccc agcttccttg gctgcagaat tgaggcaggg 9060
cgacaactag tcccaatcg tgaccgcat ctgccgctc ttgcatacca catgaaggca 9120
cagaacgtt cagagtatta tgcatctgt gctgcagtc ttatggattc atgtgcctgc 9180
atcgaccatg accctgagt gtagaggac ctcatctgc gcatgccag gtgcgctgt 9240
caagatggct atagtttcc cgccccgca tttttatgt ccatgtggga gagactgaaa 9300

agccacaatg agggaaagaa attccgccac tgcggcatct gtgatgcaa ggccgaccac 9360
gcgtccgcct gtggactga cttgtgtctg ttctactcat atttcacca gcactgcca 9420
gtcactctgg gttgtgtca ctatgccggt tcaaaggaat gccagcagtg tcagtcacct 9480
attggaaccg gcaagtcicc tcttgacact gtgctgaaac aaatcccgta taaacctct 9540
cgcactgtca tcatgagggt ggacaacaag acaacggccc tcgatccagg gagatatcag 9600
tcccgtcgag gcctcgtgc agtcagaaga ggcattgcag gcaatgaagt cgatcttgct 9660
gatggagact accaggtagt gcccctttg ccgacttgc aagacataaa tatggtgaag 9720
gtcgccagta atgtgctagt tagcaagttc atagtgggac cgccagggtc cggaaagacc 9780
acctggttat tgagtcaggt ccaggatgaa gatgtcattt acacaccac tcacagacc 9840
atgtttgaca tagtcagtgc tctcaaagtt tgcaggtatt ccataccagg ggcctcagga 9900
ctccctttc caccgcctgc caggtcggg ccgtgggta agtcattgc cagcgggcac 9960
gtccccggtc gagtgcgta cctcgatgag gccgatatt gcaatcattt ggatatactt 10020
agactacttt ctaaaacacc tctcgtgtgc ttgggtgacc ttcagcaact tcacctgtc 10080
gggttcgatt ccactgtta tgttttgat caaatgcctc aggagcagct gaccactatt 10140
tatagatttg gtccaacat ctgcacagcc atccagcctt gctacagaga aaaactgaa 10200
tccaaggcta ggaacaccag ggtggtttc accaccggc cagtgcattt tggcaggtg 10260
ttaacaccgt accataaaga tcgctgtgc tctgcgataa caatagattc atccaaggg 10320
gccaccttg atgtgtgac attacactg ccatctccga aatccctaaa taaatccga 10380
gcacttgtgg ccatcactc ggagagacat gggttgtca ttacgacc ccacaacaa 10440
ctccaggagt ttttaacct gactcctgag cacactgatt gtaacctagt gttcagccgt 10500
ggggacgagc tgggtggttt gagtgcggat aatacagtc caactgtagc gaaggcccta 10560
gaggtgggtc catctcgctt ccgagtgtca gaccgaggt gcaagtctct ttggctgcc 10620
tgttcggcta gtctggaggg gagctgatg ccgctaccac aagtggcaca caacctgggg 10680
ttttacttt ccccgagac ttacgattt gcacctctc cagaagagtt ggcgccacat 10740
tggccagtgg ttaccacca gaacaattgg gcgtggcctg accggcttgt tgccagcatg 10800
cgcccgattg atccccgta cagcaaacca atggtcgggt cagggtatgt agtcgggccc 10860
tccaccttc tcggcacc cgggtgtgtg tcatattatc tcactata cgtcaaaggt 10920
gagcctcagg ccttaccaga aacactgtt tcaacaggac gtatagccac agactgtcgg 10980

gagtatctcg acacggctga agaagaggca gcaagggaac tccccacgc attcattggc 11040
gatgtcaaag gtaccacgat tgggggatgt catcacatca catcaaaata ttgcccagg 11100
ttctgcccaggactctgt tgcgtagta ggagtgaagt cgctggtag agctgctaaa 11160
gccgtgtgca ctctaccga tgtgtatctt ccgaactcc gaccatatct gcaacctgaa 11220
acggcatcaa aatgttgaa actcaagta gatttcaggg acgttcgatt aatggtctgg 11280
aaaggagcta ccgctactt ccagtggaa gggcttacct ggtcagcgtt gcccgattat 11340
gccaggttta ttcagctgcc caaggacgcc gtggtataca tcgacctatg cataggaccg 11400
gcgactgcca accgcaaggt tgtgcgaacc acggattggc gggccgacct ggcagtgaca 11460
ccgtatgatt acggggccca gcacattctg acaacagctt gggttgagga cctcgggccc 11520
cagtggaaaa tttgggggtt gcagcccttc aggcgagcgc ttggccttga aaacaccgag 11580
gactgggcca ttctgcgcg ccgtatgaat gacggcaagg attacattga ctacaattgg 11640
cattgcgtcc gaggacgcc acgcgtatc tacgggcgcg ctctgacca tacttaccat 11700
tttgcttg gcacagaatt gcaggtggag ctgggtaaac cccaactgcc gcctgagctg 11760
gtaccgtgaa cctgaagtga tgcaatgggg ttgtatgga gtaaatcag ccagctgtt 11820
gtggacgcct tcacagagt cctgttagt gtggtgata tcgtatctt tctgccata 11880
ctgtttgggt tcaccgtgc aggggtgta ctggtcttt ttctcagatt ggttgctcc 11940
gcgattctcc gtgcgcgtc tgccattcac tctccgaac tatcgaagt cctatgaagg 12000
cctgtaccc aattgcaggc ctgatgtccc acaattgca ttcaagcacc cattgggtat 12060
gctttggcac atgcgagtt ccaattgat tgacgagatg gtctctctc gtgtctacca 12120
gaccatggaa caatcagtc aagcggcctg gaagcagga gttggtgagg ccaccctac 12180
gaagctatca aggtcgtatg tagttacca ctccagcac ttggccgcaa cagagcgga 12240
ttctgccgc ttcttagct cagactcgt gatgctaaag aatctgccg ttggtaatgt 12300
gagcctacag tacaacacca cgtcagacca cgtgaactc attttcca ctccaggtgc 12360
gaggcccaag ttgaccgatt tcagacaatg gctgatcagt gtccatgctt ctatttttc 12420
ctctgtgcc tcactgtta cctgtttgt ggtgcttgg cttcgagtcc caatgtacg 12480
ctatgcttt ggtttccatt ggtcacggc aacacatcat tcgagtaac tattaattac 12540
accatagca agccctgcct caccagtcaa gcggctaac aaaggctga acctggtcat 12600
agcatgtgt gcaggatagg ggacaccagt tgtgaggaga gtgaccacga tgagttgtca 12660

atgaccatcc cgtctgggta cgataacctc aaactcgagg gctattatgc ttggctggcc 12720
 ttctgtctct ttctctacgc ggccaattc catccggagc tgtttggaat agggaaacgtg 12780
 tcgcgtgttt ttgtggacaa gcgacaccag ttcatttggt cggagcatga tggaccaat 12840
 tcaaccgtgt ccattaatca taacatctcc gcacgtacg cgggtgatta ccatacatcag 12900
 gtagacggag gtaactgggt ccacttggaa tggctgcggc cgttctctc ctcttggtg 12960
 gtgtcaatg tctcatgggt tctgaggcgt tcgcctgcaa gccctgttc tcgacgcac 13020
 tatcagatat taagaccaac acgaccgcgg ctgccgggtt tatggtcctt caaaacattg 13080
 aatgtctcca acctcacacg ggccccgcag cgcaaggac catccccaa gcgaaacggt 13140
 cacaatgtcg ccaagccgtc ggcaactccc agtacatcac gataacggct aacgtgactg 13200
 acgaatcata cttgtataac gcagatttgc taatgcttc tgcgtgcctt ttctatgcct 13260
 cagaaatgag cgagaaaggc tttaaagtca tctttgggaa cgtctctggc gtcgtttccg 13320
 cttgtgtcaa ttacaggat tatgtggctc atgtgacca acataccag cagcaccatc 13380
 tggtaattga ccacgtccga ttactgcatt tctgtctcc atccacaatg aggtgggcta 13440
 caaccattgc ttgttggtc gccattctc tggcgatatg aaatgttctc acagattggg 13500
 gtgtttctg actccgcact cctgctttg gtggttttt ttgctgtga ccggcttgc 13560
 ctggtcctt gtcatggca acggcaacag ctgcacatac caatacatat ataactgac 13620
 gatatgcgag ctgaacggga ccgcctggt gtccagccac tttcttggg cagtcgagac 13680
 cttgtgctt taccagtcg tgactcatat tctctactg ggttttctca ccacaagcca 13740
 ttttttgac gcgctcggc tcggtgctgt gtccatcaca ggttttttg gcaaacggta 13800
 cgtactcagc agcatctacg gtgcttgc tctgcagcg ttcgtgtgct ttgcatccg 13860
 tgctgctaaa aattgcatgg ctgccgcta cgcgcgacc cggttcacta acttcattgt 13920
 agacaaccgg gggaggatcc atcggtgag gtctccaata tgggtggaga aattgggtaa 13980
 agctgaaatt ggcagcgacc ttgtacat caaacatgtc atctcgaag gggtaaaagc 14040
 tcaaccctg acaaggactt ctgctgagca atgggaagcc tagatggtt ttgtgatgag 14100
 cctcccgctg cgcaaaatct tgtgtagcc ttagcatta catacacacc tgtaatgata 14160
 tatgccctta aggtgtcag cggtcgact ctagggctgt tgcacatct gatattctg 14220
 aactgctct tcaatttcgg gtatatgacg tatgtgcatt ttcagtctgc caaccgtgtt 14280
 gcactcactt tgggggccgt tgtgccctc ctgtggggcg ttacagctt cacagaatca 14340

tggagtttg ttactccag atgcagattg tgctgcctag gccggcggta cattctggcc 14400
 cctgcccacc acgtagaaag tgctgcaggt ctccactcaa tcccagcgtc tggtaaccgc 14460
 gcatacgtg tgagaaagcc cggactaaca tcagtgaacg gcactctagt accaggactt 14520
 cggagcctcg tgctgggcgg caaacgagct gttaaagcag gagtggtaa cctcgtaag 14580
 tatggccgtg agaaaccagg gccagaagaa aaagaaaagt acagctcaa tggggaatgg 14640
 ccagtcagtc aatcaactgt gccagttgct gggcacaatg atgaagtccc agcgccagcg 14700
 acctagggct ggacagacta aaaggaaaaa gtctgagaag ccacatttc ccttggtgc 14760
 tgaagatgat attcggcacc acctcacca gactgaacgc tccctctgct tgcaatcgat 14820
 ccagactgct ttacaacag gcgcaggaac tgcgtcgctt tcattccagt ggaaggtcag 14880
 ctttcagtc gattttatgt tgccggtgc tcatacagt cgcttaattc gcgtgacttc 14940
 tacatccgt agtcaggatg caagttaatt cgacagtcag gtgaatggcc gcgattggcg 15000
 tgtggcctt gtagcaccta ttcaattagg gcgatcacat gggggtcata cttattaggc 15060
 aagatccatg tgaccgaaat t 15081

<210> 2

<211> 15014

<212> DNA

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> cADN từ Virut gây Hội Chứng Rối loạn Sinh Sản và Hô Hấp ở Lợn

<400> 2

atgatgtga ggggagatac cctacacaca caacactcct ggtgtttgtg tgccttggag 60
 gcgtgggtac agccccgcc cactcttgg ccctgttct agccaacag gtatccttct 120
 ccctcggggc gagtgcgccg cctgctgctc tctgcagt ggaaggacct cccgagtatt 180
 tccggagagc acctgcttta cgggatctcc acctttaac catgtctggg acgttctccc 240
 ggtgcatgtg caccgccgct gcccggtat ttggaacgc cggccaagtc tattgcacac 300
 ggtgtctcag tgcggggcct cttctctctc cagagcttca agacactgat ctgctgcaa 360
 ttggctgtt ttacaagcca agaacaagc ttactggaa ggtccctatt ggcattctc 420
 aagtggagt caccatctt ggtgtctgct ggctctcagc catctttccc atagcgcga 480
 tgacctcgg caaccacaat ttaccaaac gactcataaa ggttgccgat gtgtgtacc 540
 gtgatggtg ttgactcgt caacacctc gtgaacttca agtttatgag cgcggtgca 600

attgtaccc gattacgggg cctgtgccc gagtggctgt gtagcgaac tccatgcacg 660
 tgtccgacca gccgttcctt ggtaccaccc atgtgttaac gaactgcct ttacctcaac 720
 aggctgtcg gcagccgttc tgtccattg aggaggctca ttctaactg tataggtgga 780
 atggactcgc gattttgtg gattccactt ccgacggccg gtcccgcag atgtggacac 840
 cggggtctag cgactcgact gccttagaag tgctaccacc tggactagga cgtcaagccg 900
 aaatcctcac ccggagtttt cctgccacc accctgttaa cctcgtgac tgggagctca 960
 ccgagacccc tgaatccggt ttctcctca gcatgtctca gtcttggtt tacctgccc 1020
 aaaacctga cgttttgat ggcaagtgt ggcttctctg tttttgac ctgccgactg 1080
 aggtatggcg tcgtgaggag catctggcta gtgccttcgg ttatcaaact aaatggggcg 1140
 tgcattgcaa atacctccag cgcagacttc aaatcaatgg agttcgcgt gtagtcgatc 1200
 ctgatgttc tatccatgtt gaagcgtgt ctgccccca atcttgatc agacacctga 1260
 ctctagacgg tgactgacc ccaggattcg ttcgcctgat gtctctccgt attgtaccga 1320
 acacagaacc ggccacttc ccggtcttc ggttggagc gcataaatgg tatggcgctg 1380
 ccggcaaacg agcccgtgt aggcgtgccg ccagaaatgg gaaggactca gccactgccc 1440
 ccacggccac ccaactgatc cctgcctgtg gaacaaccac ttattcccc ccaacagacg 1500
 ggtcttggtg ctggcatgt ctcgccgcca tagttaatcg gatgatgat aatgatttta 1560
 catctcctt gactcagtat aacagaccac aggacgattg ggcgccgat tatgacctg 1620
 ctacggcaat ccagtgtat cgactgcctg ctactatagt tcgtggctgt gcctgcccta 1680
 acgccaagta ccttataaaa ctcaatggag tccattggga ggtagagggt aggtctggaa 1740
 tggctccgcg tcttcttct cgtgagtga ttgtggcgt ctgctctgaa ggctgtatcg 1800
 caacgcctta cctgaaggc gagctaccg agcgtgcact agaggccttg gcggctgctt 1860
 acagactacc ttccgactgt gtaagtctg gcattgccga ctcttctgct gaccacctc 1920
 ctacggaatt ctggaccctc gacaagatgc taacctcccc gtcaccggag cggctccggtt 1980
 tctccagttt gtataaatta ctattagagg ttgtccaca aaagtgcgga gctacggagg 2040
 gggcttctgt ctatgtgtt gagaggatgt tgaaggactg cccaagctcc aaacaggcaa 2100
 tggccctcct ggctaaagtc aaagtccgt ctccaaggc cccgtctgtg tccttgacg 2160
 agtgttccc cacggacgtt ccagccgacc ccgagccaac atctcaggaa aagcctcaaa 2220
 gttctggcac taccacagtc ctgtgttcgc cgaatacaaa agagtctgag gaggtggcct 2280

tgcaaggcgt tcaggagagc agccacaagg ccgcccactc tgcagtcctt gttgaggaac 2340
 ttagcgggaa gcgggcgag gaggttgccg gcgagctaca ggagttcggc gactgtggct 2400
 tggtaatcgg gagtgcctaa gacggcattc tggaggatga gccattggac ttgtcccgat 2460
 cagcgttggg ggccacaacg attctcgtga gaaaccaaac acccaacaat tcgggttttg 2520
 gcactggtag tctctctgcc actgttcaag agcccgtctt tacagggtc atgtcttatt 2580
 gcgttgagca ttgtaaacg gagtccgata acagcagttt acctctggat ctgtctaata 2640
 cgcaaacctc ggaccagcct ttaaatctac ccttggtgc ttggccagtg agaaccaccg 2700
 catctgacc tggtggggc caggttaggc gtgtgcctgt ctttgtaaag ccccggggca 2760
 ctctctccga tggcgattca gtcctctgt ttggggggct ttccgaatcc agctctgtta 2820
 tcgagtttga ccaatcgaaa gacgtcccag tgaccgatgc ccccgctgac ttgaccaccg 2880
 cgaacggagc cctctctggg atcgactccc ttgaattgc tgaactcaag cgcccgcgct 2940
 actccgctca agctttgatt gaccgaggtg gtccactagc cgatgttcat gcaaagataa 3000
 agagccgggt atatgaacaa tgccttcagg cttgtgagcc cggcagtcgt gcaacccag 3060
 ccaccaggga ttggctcaat aaaatgtggg aaagggttga tatgaagact tggcgctgta 3120
 cttcgagta ccaagctggt cacattctcg cgtctcttaa atttcttct gacatgatcc 3180
 aagacagccc acctctgtt cccaggaaga accgagctag tgatcatgcc gaacaaaaac 3240
 gtctgtggc gcagtgggac aagaaattga gtgtgtctc ttcccaaaa ccggttgagc 3300
 cagcgctga ccggaccacc ctttgctg cgacatcca gcaagagggt gtgcctct 3360
 ccgacagatt aacccgtgcg ccagacctcc ctagtcaagt gagcacgggc gggagtggga 3420
 aagaccgcat gcttttcggc gtcggttcg cggagtccat tggtcagcg atcacagcac 3480
 gggtttttga aactttcc catctcccag ctttgtgct cgcactttc tcgccgggg 3540
 gcgctatggc ttcaggatg ttgctgtttg caggtattgt ttacttgc ctctgtct 3600
 gtcgccctta ccagttactc ggggtcttac cttactggg tgtctttct gggctgtgc 3660
 ggcgtgttcg tctgggtgt tttgttctt ggatggctt tgctgtatt ttattctga 3720
 ctccaccga cccagtcggt tcttcttgc gccacgatt gccggagtgt catgtgagc 3780
 ttttgctct tgagcagcg caacttggg aacctgtcg cagcctgtt gttggcccct 3840
 cgggtctcac gtgcgtcatt ttggtaggt tactcgtgg gtcacgttat ctctggcata 3900
 ttctctacg ttatgcatg cttgcagatt tggcccttc tctatttat gtggtgtccc 3960

aaggcgcttg tcacaagtggt tggggacagt gtataagaac agctcctgca gaagtggctc 4020
ttaacgtctt ccttttttg cgtgccaccc gtgcctctct cgtgtccgtg tgcgaccgat 4080
tccaatcgcc aaaaggtggt gatcctgtgc acttggcaac cggctggcgt ggggtgtggc 4140
gtggtgagag tcctatccac caaccacacc aaaagcccat agcttatgcc aatttagatg 4200
aaaagaaaat atccgcaaaa acgggtggctg ctgtcccata tgatcccatg caggccatca 4260
aatgcctaaa agttctacag gcgggaggag ctattgtaga ccagcccacg ccagaggtcg 4320
ttcgcgtgtc tgaaatccct ttctcagccc cattttccc aaatgttccg gtcaaccggg 4380
attgcagggt tgtttagac tcggacactt ttgtggcagc agtccgctgt gggtactcga 4440
cggcacaatt ggttttgggc caaggcaact tcgcaaat aaaccaaacc ccccttggga 4500
gttccacctc taccagaacg actggcgggg cttcttacac ccttgcgtg gctcaagtgt 4560
ctgtgtggac cctcgttcat ttactcttg gtcttgggt cacatgcct caagtgtgtg 4620
gtcgggggac ctccgaccg tgggttcaa atccttttc atatccact tatggccccg 4680
gagttgttg ttctcacga ctctgtgtgt ctccgacgg ggtcactcta ccattgtttt 4740
cagccgtggc gcagctctcc ggtagagagg tgggaatttt tgttctggtg ctctctcct 4800
tgattgctct agctcatcgt atggtctta aggcagatat gttagtggc ttttggctt 4860
ttgggggtta cgcctggcct atgagctctt ggtaactg ttctttct ttactcctga 4920
agtggatcac tcttaccct ctaccatgc ttgggtgca ctggtttta gtgtttgtc 4980
tgcccgacg cggcgtcctc tcgtgggga taactggcct ccttgggtg actggccgtt 5040
ttaccagggt agccggaatc atcacacct atgacatcca tcagtacacc tctggccgc 5100
gtgtgtctgc tctgtggcc accgccccag aaggcactta catggccgc gttcggagag 5160
ctgccctaac cgggcgaacc ttaatttca ctccgtccgc agtcgggtct cttctgaag 5220
gtgcttcag gactcgaaa cctgcccta ataccgtgaa tgtgttgggt tcttccctg 5280
gttccggagg agtttcacc attaattgaa agaaaatct cgtcaccgt acccatgtgt 5340
tgaacggcga tgcagccaga gtcactgtg actcttaca ccgcatgcac acttcaaga 5400
ccaatggtga ttacgcctgg tctgatgcag acaactggca aggtgttgc ccatgtca 5460
aggttgcaaa ggggtatcgc ggtcgtcct actggcaaac atcaactgtt gttgaaccg 5520
gtattgtcgg ggaaggttc gccttttct tactaactg cggtgactc gggtcaccg 5580
tcatttcaga gtccggtgac ctcatcggga tccataccg ttcaaataaa ctgggctctg 5640

gccttgtagc aaccctaac ggggagacct gttccatcaa agaaactaaa ctctctgac 5700
 ttccaagta tttgctggc ccgagtgtcc ctctcggga caccaagtg agcccgacca 5760
 ttatccctga tgtgacatcc attccgagtg acttagcatc gctcctagct tccgtccctg 5820
 taatggaagg tggcttttc accgttcaac tctgtgtgt cttcttctc ctctggcgta 5880
 tgatgggtca tgcctggaca cctgtcgttg ccgtgggtt cttctgcta aatgaaattc 5940
 ttccagcagt ttagttcgt gccgtgttt ccttcgcact cttgtgctc gcgtggctta 6000
 cccctggtc cgcacagtg ctaatgatta gactcctcac agcgtccctt aaccgcaaca 6060
 agcttccct agcgttctac gcaactgggg gcatcgtcgg ttggctgct gaaattggga 6120
 cttcgttg cagactgct gatctgtctc aagctcttc gacgtactgc ttcctgccta 6180
 gggtcattgc tgtgaccagt tgtgttcca tcatcatcat tggcgggctt catgctctcg 6240
 gtgtgatct gtggtgttc aaatatcggc acctccacgc catgttggtt ggtgacgggg 6300
 ctttctaag tgcattctc ctgcggtatt ttgcagaggg taacctagg aaggggggtt 6360
 cgcagtctg tggcatgagc aacgaatccc taacggctgc cttagcttg aagttatcac 6420
 aggtgacct agattctctg tcaagctga cgaactcaa atgcttttg tctgctcaa 6480
 acatgaagaa tgtgctggc caatatatc aagcagcata tgccaaagct ctgcgccgag 6540
 agctggctc ctagtccag gtgcacaaaa tgaaaggagt cttgtccaag ttggaagctt 6600
 ttgctgagac ggccaccccg tcccttgaca caggtgacgt ggtgtgctg ctccggcaac 6660
 atccccatgg atctatcctt gacatcaatg tggggactga aagaaaaact gtgtccgtgc 6720
 aagagactc gaactgggc ggctccaagt tcagtgtctg tactgtgtg tccaacacac 6780
 ctgtggacgc cttgaccgat gtccgcttc aaacaccgac tccgctctc gagaacggcc 6840
 cgcgtaccg ctgtgaggaa gacgatcta aagtcgagag aatgaggaaa cattgtgtgt 6900
 ctctcggct ccacaatc aatggcaaaa ttattgcaa agtctggat aagtcactg 6960
 gtgacacct ttatcggat gattcccggt ataccaaga ctatgcttt caggacaggt 7020
 cagccgacta cagagaccg gactatgagg gtgtgcaagt cgcctctcaa caaggattcg 7080
 acccaaagtc tgaactcct gttggcactg tcatgatcgg cggcatcatg tataacaaat 7140
 acctagtaa aggcaggga atcttggtc ttaaacctga caactgccta gaagccgcca 7200
 ggctgtccct tgaacaggcc cttgctggga tggccagac ttgtgatctc acagccaccg 7260
 aagtggaaaa gctaaagcg atcattagtc aactccaagg tctgaccact gaacaagctt 7320

taaactgtta gccgccagcg gcttgacccg ctgtggccgc ggccgcttg ttgtaactga 7380
 aacggcggta aaaattgtaa aataccacag cagaacttc actttaggcc ctttagactt 7440
 aaaagtcgct tctgaagtgg aagtaaagaa atcaactgag cagggccatg ctgtttagc 7500
 aaatttaagt tctggtgctg tcttgatgag acctaccca ccgtcccttg tcgatgtct 7560
 cctgaaaccc ggacttgaca caacacccgg cattcaacca ggcatggag ccgggaacat 7620
 ggggtgtgac ggttctattt gggatttga aactgcaccc acaaaggcag aactgaatt 7680
 gtccaaacaa ataattcaag catgtgaggt cagacgcgga gacgccccga acctacaact 7740
 cccttacaag ctctatcctg ttggggggga cctgagcgc catgccggtc gtctcacaa 7800
 taccaggtt ggagatttg cttacaagac tccaggagac accaagtctg ccatccatgc 7860
 ggcttgtgt ctgcaccca acgggggtccc cgtgtctgat ggcaagtcca cactaggcac 7920
 taccctcaa catggtttg agcttatgt tcccacagt ccctatagt ttatggagta 7980
 ccttgattca cgctctgata cccctctat gtactacaa catggcacti ctaaggctgc 8040
 tgcagaagac ctcaaaaat atgatttacc caccaagga ttgtcctgc ctggggctct 8100
 acgccttggt cgcagattg tcttggcca catcgggaaa gcaccgccgt tgttctccc 8160
 gtccacttac cctgccaaga actctatggc agggatcaac ggccagagat tccaacgaa 8220
 agacgttcag agtatacctg aaattgatga aatgtgtgcc cgcccggtta aggaaaattg 8280
 gcagaccgtg acgccctgca cctcaagaa acagttctgt tccaagccca aaaccaggac 8340
 cattctgggc accaacaact ttattgccct ggctcaccga tcggcgctca gtggcgctac 8400
 ccaagcattt atgaagaagg ctggaagtc cccgattgcc ctggggaaaa acaattcaa 8460
 agagctacat tgcactgttg ctggcaggtg tcttgaggct gattggcct cctgtgatc 8520
 tagcaccccg gccatctga ggtggttgc tgccaacctc ctgtacgagc ttgcagggtg 8580
 tgaagagtac ttgcctagct atgtactcaa ctgtgccac gacctgtgg caacacagga 8640
 tgggtgcctc aaaaaacgcg gtggttgc atccgtgac cctgttacca gtgtgcaaa 8700
 caccatatat tcactggtga tctatgcca gcacatggtt ttgcagcct taaaatggg 8760
 tcatgagatt ggtcttaagt ttctcgagga acagctcaa ttcgaagacc tctcgaagt 8820
 ccagcccatg ttagtgtact ctgacgacct agtctgtac gccgaaaggc ccacttccc 8880
 taattaccac tgggtggctg aacacctga cctaagtctg ggttcaaaa cggacccgaa 8940
 gaaaactgta ataactgata agcccagctt cctcggctgt aaaattgaag cagggcggca 9000

gctagttccc aatcgcgacc gtatcctagc cgctcttgca taccacatga aggcgcaaaa 9060
 cgcctcagaa tattatgcat ctgctgctgc gatcctaata gattcgtgtg ctgcattga 9120
 ccacgatcct gagtggatg aggacctcat ttgtggtatt gcccggtgcg ctgccaaga 9180
 tggctatagt ttccaggcc cggcattttt catgtcgatg tgggaaaaac taaagagcca 9240
 caacgaaggg aaaaaattcc gccactgcgg tatctgtgat gccatggccg atcatgcatc 9300
 tgcctgtggg ctgatttgt gttgtttca ttgcatttt caccagcatt gtccagtcac 9360
 tctgaactgc ggtcacctg ccggcgcaaa ggaatgtccg cagtccagt cgccagtgg 9420
 ggtagcaaa tccctctcg acactgtgct agaacaaatt ccatacaaac cccctctac 9480
 tgcattatg aagtgtagt atagaacgac tgcctcgac ccgggcaggt accagtccg 9540
 tcgtggtctt gttgctgta agaggggcat tgcaggcaat gaagttgatc ttctgatgg 9600
 agactacaa gtggtgcctc tcttaccac ttgcaaagat ataaacatgg taaaggtagc 9660
 ttgcaatga ctgctgagta agttcatagt aggaccacca ggtccggaa aaaccactg 9720
 gttactagt caagtcagg acgacgatgt cattacaca cccacccatc agaccatgtt 9780
 tgatatagtc agtgcctca aggtttcag gtattctatt ccaggggcct ctgggctccc 9840
 cttccacca cctgccaggt ctgggccgtg ggtcaggctt gttgccagcg ggcacacccc 9900
 cggccgagtg tcatactcg atgaggccgg gtactgcaac catctggaca ttcttaggtt 9960
 gctttcaaa acacccctg tgtgtctggg tgacctcag caacttcacc ccgtcggtt 10020
 taattctac tgctatgtt ttgatcagat gcctcaaaag cagctgacca ccatttacag 10080
 gtttgcccc aacatctgtg cagccatcca gcctgttac agggaaaaac ttgaatcaa 10140
 ggccaggaac accaggatag ttttactac acggcctgta gcttcgggc agtcctgac 10200
 accataccac aaagatcgca tcggttcagc gataaccata gattcgtctc agggggccac 10260
 tttgacatt gtgactttgc atttaccatc gccaaagtcc ctgaataaat cccgggcact 10320
 tgtggccatc actcgggcaa ggcacgggtt gttcatctac gaccctaca atcagcttca 10380
 ggagttttc aacctagctc ctgagcgtac tgattgtaac cttgtgtta accgtgggga 10440
 tgagctagta gtctgaact cggacaatgc agtcacaacc gtggcgaaag ccctagaggc 10500
 aggcccatct cgtttcgag tatctgatcc gagtgcaag tctctcttgg ccgcttgctc 10560
 ggccagccta gaaggagct gcatgccgt gccgcaagt ggcacaaac tggggttcta 10620
 cttctccca gatagcccag catttgcacc cctgccgaaa gaactagcgc cacattggcc 10680

ggtggtcact catcagaaca accgggcatg gcctgaccga ctgttgcta gcatgcgtcc 10740
 aatcgatgcc cgttacagca agccaatggt cggcgctggg tatgtggtcg ggccatccac 10800
 tttctcggc acccccggcg tgggtcata ttatctgacg ctgtacgtca ggggtgagcc 10860
 ccaggccttg ccagaaacac tcgtgtcaac ggggcgcata gccacagact gtcgagaata 10920
 tctcgacgcc gctgaggaag aggtagcaaa agaactacc cagcattca ttggtgatgt 10980
 caagggtacc acggttgggg ggtgtcatca catcacatca aaacacctac ctaggttcct 11040
 acctaaggat tctgttccg tggttggagt aagttcacc ggcaaggctg ctaaagccgt 11100
 gtgcaccctt actgatgtgt acctaccgga actccggcca tatttgcaac ctgagacagc 11160
 gtcaaagtgc tggaagctca aactggactt cagggatgtc cgtctgatgg tctggaaagg 11220
 ggcaaccgcc tatttcaat tagaagggt ccatggtcg gcgctgccg actatgccag 11280
 gtttattcag ctgcctaagg aagccgtggt gtacatcgat ccgtgtatag gaccggcaac 11340
 agccaaccgc aaagtcgtgc gaaccacaga ctggcgggct gacctggcag tgacaccgta 11400
 tgattacggt gctcagtata tttgacaac agcctgggtc gaagacctcg ggccacagtg 11460
 gaaaattctg ggggtgcaac ctttaggcg atcgcttggc ttgagaaca ccgaagattg 11520
 ggcaatcctt gcacgccgta tggatgacgg caaagattac atcgactaca actggaattg 11580
 tgttcaaac cgtccacttg ctatccacgg gcgctcgtg gaccacacat atcacttcgc 11640
 cctcggcaca gattgacagg tggaactggg caaaccccg ctgccgccg agcaagtga 11700
 gtgaaccgg agtgatgcaa tggggtcact gtggagtaaa atcagccagt tttcgtgga 11760
 cgctttcact gatttctcg ttagtgtggt tgacattgc attttcctg ccatactgtt 11820
 tgggttcaca gtgccgggt ggtactggt ctctctttc agaatggtt gctccgcgat 11880
 tctccgtcg cgtctgcca ttactctcc cgaactatc aagtcctat gaaggcctgc 11940
 taccacactg caggccagat gtcccacaa tcgattcaa gcatccactg ggcttgctt 12000
 ggcatatcg agtttccat ttgattgat aaatggtctc ccgtcgtatt taccagacta 12060
 tggaacattc aggtcaagcc gcttgaagc aagtgtcgc tgaggctacc ctcacaaaac 12120
 tatcaaggct tgacgtatc actcatttc aacatctggc cgcggtggag gcggattctt 12180
 gccgttctc cagctcacga ctgcaatgt tgaaaaacct tgccgttggc aatgtgagct 12240
 tgcagtataa caccacattg gacagagtg agctcgtctt ccctacgccg ggttcgagac 12300
 ccaagttgac tgattcaga caatggctca tcagtgtca cgttccatc ttcttctg 12360

tagcttcgtc tgtcaccttg ttcatagtgc tctggcttcg aattccagcc ttacgctatg 12420
tttttggttt ccattggccc acggtataac atcattcgag ctaacatca actatacaat 12480
atgtatgccc tgtcttaccg gccaaagcggc tagtcagagg ctgagcctg gccgcaacat 12540
gtggtgtaga atagggtacg acagctgtga agaactgtac catgatgagc tgtcaatgtc 12600
catcccgtct gggtagcaca acctcaaact cgagggttat tacgcttggc tggcattctt 12660
gtccttctcc tacgccgctc aattccatcc agaattgttc ggaataggga atgtgtcacg 12720
cgtttctgtg gacaaacaac accaagccat ttgtgctgtg catgacggac aaaattccac 12780
catatccgct gagtacaaca ttctgcatt gtacgcggca tactaccacc accaagtaga 12840
cgggggcaac tggtttcac tagaatggct gcggccattc ttttctct ggctggtgct 12900
caatatttca tggtttctga ggcgttcgcc tgcaagccct gcttctcggc gcatctatca 12960
gatgtaaga ccaacacaac tgcggctgcc ggtttcatgg tccttcagaa cattgaatgc 13020
cttcgacacg gaggctcaac aacgcaaaat ggcccttccc ttcggaagcc gtcgaatgt 13080
cgtgaagcgg ttggcacccc tcagtacatc acaattacgg cgaatgtgac cgatgaatca 13140
tattgtaca acgtgactt gctgatgctt tctgcgtgcc tctttacgc ctctgaaatg 13200
agcgagaaa gcttcaaagt catcttcggg aacgtttctg gcgttgtctc tgcctgcgtt 13260
aattttacag actatgtggc ccatgtgact caacacaccc agcagcatca cctggttaatt 13320
gatcacattc gattgcttca ctcttgtca ccgtctgcaa tgagggtggc tacaaccatt 13380
gcttgcttgc tcgccattct ctggcgata tgagatgtc tcacaaactg gaggcttctt 13440
cgactccgca ctctgtctcc tgggtgcttt tttgctgtg taccggcttg ttctgtctt 13500
ttccgatgg caacggcaac agcccgacat accaatacat atataacttg acgatatgcg 13560
agctgaatgg gaccgagtg ttgtctaacc attttaattg ggccgtcgaa acctttgtgc 13620
tctaccagtc cgcaactcac attattcac tgggttttct tacaacaagt catttcttg 13680
atgcgctcgg tctcggcgct gtgtcgtca ccgatttta caacaaccgg tatgtgctaa 13740
gcagtgtcta ctgcgcctgt gcttttcag cactcgtgtg cttgtcatc cgtgccgcta 13800
aaaattgcat ggttgccgc tatgccgca cccggtttac taatttcac gtggacaacc 13860
gggggaggat ccaccgatgg aagtctcaa tagtggtgga gaagtgggg aaagctgagg 13920
ttggtagega cttgtcacc atcaaacatg ttgtcctga aggggttaa gctcaacctt 13980
tgacaggac ttcggctgag caatgggaag cttagacaat tttgcggtg atcctgccgc 14040

cgtacaaaag ctgtgtctgg ccttttagcat tacatataca cctataatga tatacgccct 14100
 taagggtgca cgcggccgac tcttaggact attgcacatc ctaatttct tgaattgttc 14160
 ttccacattt gggatatatga cttatgcga ttttaatcc accagtcgtg tcgcgcttgc 14220
 tctgggggct gttgtcacc tcctgtgggg catttacagt cttacagagt catggaagtt 14280
 tgtcgcttcc agatgcagaa tgtgtgtct aggccggcga tacatcctgg cccctgccca 14340
 tcacgtagaa agtaccgag gtcctcattc aatcccagcg ttggcaacc gagcatacgc 14400
 tgtgagaaag cccggactaa catcagtga cggcactctg gtaccaggac ttcggagcct 14460
 cgtgctgggc ggcaaacgag ctgttaaagc aggagtgggt aacctcgtca agtatggccg 14520
 gtaaaagcca gagccagaag aaaaagaaaa atacagctcc aatggggaat ggccagccag 14580
 tcaatcaact gtgccaattg ctgggttcga tgataaggtc ccagcggcag caacctagga 14640
 gaggacaggc gaaaaaaga aagcctgata agccacattt tcccctagct gctgaagatg 14700
 acattcgga ccacctcacc cagactgaac gttccctctg ctgcaatcg atccaaacgg 14760
 ctttaacca aggcgcaggt gttgcgtgc ttcatccag cgggaaggtc agtttcagg 14820
 ttgagttcat gttgccggtt gctcatacag tgcgcctaata tcgcgtgact tctgcatccg 14880
 ctatgcagaa tgtagattaa ttgacagtc aggtgaatga ccacgattga cgtgtggcct 14940
 ctaagtcacc tattcaatta gggcgatcac atgggggtca aacttaattg ggcgagaacc 15000
 atgtgaccga aatt 15014

<210> 3

<211> 14876

<212> DNA

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> cADN từ Virut gây Hội Chứng Rối loạn Sinh Sản và Hô Hấp ở Lợn

<400> 3

atgatgtgta gggatatccc cttgttttg cagcactcct agtgtttgtg tgcctcggag 60

gcgtgggtac agccccgccc cactcttgg cccctgtcct aaccgacag gtacccttct 120

ccctcggggc gagecgcgag cctgctgctt tcttgcggcg ggaaggacct cccgagtatt 180

tctggagagc acctgttta cgggatctcc acccttaac catgtctggg atgttctccc 240

ggtgcatgtg caccocggct gctcgggtgt ttggagtgc cggtaagtc tattgcacac 300

ggtgtctcag tgcacggcct cttctccctc cagggtgca agacactgac ctcgcagcaa 360

ttggcttggt ctacaagccc aaagataaac ttactggaa agttcctatc ggcatccctc 420
 aggtggagtg tactccgtct ggatgctgct ggctctcggc catcttcccc ttggcgcgca 480
 tgacctccgg caaccacaac ttttctcagc gactcataaa agttgccgaa gtgtgttacc 540
 gtgatggctg ttgactccc cgacaccttc gtgagcttca agtttacgag cgtggttgca 600
 gttggtaccc gatcaccggg cccgtgcccc gagtaggtgt gtacgcgaac tccatgcacg 660
 tgtccgatca atcgtttctt ggtgccactc atgtgctgac gaactgcct ctacctcagc 720
 aagcttgctg acagcctttc tgtcattcg atgaggcccg ctctgacgtg tacaagtga 780
 acgaatttgt ggtttctgtg gattcctct cggcggtca attacgcatg atgtggatgc 840
 cgggatccga tgattcggc gccattgaag cattatgcc tgagttggaa cgtcaggttg 900
 aaatccttgt tcggagttc cctgccacc accctgttaa cattgccgac tgggagcttg 960
 ctgagtcccc ggagcacggt ttttctctg gcacgtctca tctagtgtt taccttacc 1020
 gagacccttg gggttttgat ggcaaatgtt ggctctcttg ctcttgggc ctcccacta 1080
 gatttcagca tcataggag tacctagccg acgccttcgg ttaccaaac aagtggggcg 1140
 tgcacggtag gtatcttcag cgcaggcttc aagtcaacgg tgtccgtgct gtggtgatc 1200
 ctgacggccc catccacgtt gaagcgtgt cttacccca gtcttgatc aggcacctga 1260
 cttttgacga tgatgttacc ccaggattcg ttgcctgat gtctcttcgc attgtgccga 1320
 atacagaacc taccactct ccaattttcc ggtttggggc gcataaatgg tatggagcag 1380
 ctggcaaacg agctcgcgcc aagcgtgctg ccaaaaacaa gggggattcg aattccacc 1440
 ccgaagtgcg ccgagtggct tctaccagtg aggtgttac ctattccca ccggcagacg 1500
 ggtcttggtg ctggcatgtt gttgccgcca tgatgaacca catgatgaac ggtaactca 1560
 cgtccccctt gactccgtac aacagaccag aggacactg ggtctctgat tatgatctt 1620
 tcaagataat tcaatatttg caactgccc caaccgtagt tcgggcccgt actgtcca 1680
 acgctaagta ccttgtaaaa ctcaatggg tccattggga agttgagatg aggccagaag 1740
 tagctccttg ctctcttcc cgcgaatgtg tggttggtgt ctgttctgag ggctgtgttg 1800
 cgtgcctct tccagaagg gggctgcctg accgcgact tgaggccctg gcgtccgctt 1860
 acagattgcc ttccgactgc gttggtgatg ctgttctga ctctctcc agcccgcct 1920
 ctcaagaatc ctggaccctc gataaatgt tgacctccc atcaccagag cagtccggtt 1980
 tttctagctt gtacaaactg ctactggagg ttgtccgca gaagtgcgga gccacggagg 2040

gggccttcgt ctatgctgtt gagaggatgc tgaaagattg tccgagcccc aaacaggcca 2100
tgccctttt gggaaaaatc aaaatcccat cctcaaaagc ctgctcgtg tccttagacg 2160
agtgccttcc cactgatgtt ttgcaagagg gtaaccacag gacctccac cccgtggctc 2220
ctgctgatgg acttgacaaa cagcaagcac cgttggttga ggatgaacaa ttaggattcg 2280
gtggtcacga ttcggccgtt gcggcggta gtggcaatca ggagagtga ccgttgacc 2340
tttcccgatc ggcaccagtt gtaacaacga ccttcgtga agggcgagt cccggcgacc 2400
cgggccctg caccagcgac cgtccgctg ttgtcaaga gttagttag cgtatgacg 2460
cggagtcaaa tgacggcagt ttgcccctgg atgtgactaa agtgcaaacc cccaatcaac 2520
ctctgatatc atcttagct gcttgccag tgaagaccac tgcattgac cccggtggg 2580
ttgacgtag acgcgaacc gtcttcgtca agcctcgcg tgcttctct gacagtgagt 2640
cggcttccg gtttgaggga gtttctgaga ccggccctgt catcggttt gatcgggtaa 2700
aagaaattcc ggcggctgac accccatcg acttaacaat ctcaaaagag actcttccg 2760
gggcagacc ctctgagtt gccgcacta agcggccg tttctcgct caagcctga 2820
ttgaccgagg tggccactt gctgatgcct gtgcaaagat aaagaatga gtgtatgagc 2880
ggtgcctcca ggcttgcga cctggcagtc gtgcgactcc agccacaaag gagtggctcg 2940
acaagatgtg ggaaagggtc gacatgaaga ctggcattg tacctgcag ttccaaacag 3000
tctatattct cgggccctt aaattctat cagatatgat tagtgacacg ccacctctg 3060
tccctaggag ggatcggtt agtgacagt ccagcttga acaattagc gcacagtggg 3120
atgagaaat gaacacagtc ccccccaag ggccggttga gccggggctt agtcgagccg 3180
ccccctgcc tgcgaatgcc cagcgagaag gcatcaacc ctccgatgag ccacccaaa 3240
cgccgaacc ctctggacaa actgttctg atgggggtgt caaaagactt gtgtcctcg 3300
ggtccgcct ttagggtcc accagccagc gccttatgac atgggtttt gaaattfact 3360
cccatctccc agcttttatg ctacactat tctgcgcg gggtctatg gttgcagtg 3420
attggtgtt tgagggtt gtgttactg ctctctgt ttgtcttct taccagtgc 3480
tcggatgcct tccctattg ggtgtctt ctggtctgt acggtgtgt cgtctggcg 3540
tttttggtc ttgtaggtt ttgtgtat tttattct aactcaacc aaccagtcg 3600
gttctcttg tgaccagat tcgccgagt gtcattgta gctttggct cttgagcagc 3660
gccaaattg ggaacctgt cgcggcctg tggggggc ctcgggcctc ctatcgctca 3720

ttcttgcaa gctactcggg gggcacggt atctctggca tgtctctta cgtttatgca 3780
 tgcttgcgga ttggccctt tctctattt atgtgggtg ccaagggcgt tgcacaagt 3840
 gttggggaaa atgtataagg acggctccag ccgagggtgg cctcaacata ttccctttct 3900
 cacgtgccac ccgtgcttc cttgtatcct tgtcgatcg gttccaagcg ccaaagggg 3960
 ttgaccccg acacttggca acaggggtgg gcgggtgtg gcgcggtgag agccctattc 4020
 atcaggcgca ccagaaacct atagcttatg ccaacttga tgagaagaaa atatccgcc 4080
 aaacagtggg tgcgtccct tatgaccca gtcaggccgt caaatgttg aaagtctgc 4140
 aggggggggg ggccatcgta gatcagccc tacctgaagt ggtccgtgtg tccgagatcc 4200
 cttttcggc tccattctt caaaagttc cagtcaacc agattgcagg gttgtgtgg 4260
 attcggacac ttctgggt gcagtcgct gtggttact gacaacgaa ctggtcttg 4320
 gtcaaggcaa cttgccaag ttgaacaaca cccctctaa gaattccgt tccaccaaga 4380
 cgattggagg ggcctctac accctgccg tggtcagg gtccgtgtg actctgttc 4440
 atttgtaat cggcttttg ttaatgcgc ctcaagtgt tggccgagg acctctgacc 4500
 cttggtgctc aaatccctt tcatatccta ctatggtcc cggggtgtg tgttctccc 4560
 ggctttgtgt gtctccgat ggagtcact taccattgt ttcagctgt gcccaactgt 4620
 ctggtagaga ggttgggac tttatttgg ttttgtctc ttaatgcc ttggctaacc 4680
 gcctagctct taagtctgac atattagtgg tatttctgg actttgtgt tatgcttggc 4740
 ccatgagctc ctggctaate tgttcttc ctatactt gaggtggac accctccacc 4800
 ctcttaccat gctttgggt cattcgtct tagtattctg ttgccagcc gccggtgtcc 4860
 tgtaaatagg ggttactggc ttctttgg cgattggtcgt ttcacacaa gtcgccgaa 4920
 ttatcacacc ttatgacatt catcaatata cctccgggcc acgcggtgcg gctgctgtag 4980
 caacggcccc agagggtact tacatggcag ccgtccggag ggccgccctg accggacgga 5040
 ctttaattt tacccatct gcagttgggt ctctcttga gggcgcttc aggaccaca 5100
 agccctgtct caacaccgta aatgtcgtg gttctccct cgttctgga ggggtctca 5160
 ctatgacgg cagaaagact gtcattactg ctgcccattg attgaacgg gacaccgcta 5220
 gggtcaccg cgactcctat aatcgatgc acactttaa aaccaatgg gattatgcct 5280
 ggtcccatgc tgacgattgg cagggccct ctccatagt caaagtcgc aagaggtatc 5340
 gggccgcgc ttactggcaa acatcgactg gtgtcgaacc aggcacatc ggggaagggt 5400

tcgctttctg tttaccaat tgggcgatt caggttcacc tgcattctct gaagctggcg 5460
 acctcatcgg gatccatact ggttcaaata aacttgatc tggacttggt accgcccctg 5520
 acggggaaac ctgctccatc aaagagacca aactttctga cctatctagg tactttgcag 5580
 gtccaagcgt ccctctcgga gacataaagt tgagtcacg tatcatccct gatgtggcct 5640
 ctgtcccag tgacttgga tcacttttg ctccgtgcc tggatggag ggcggccttt 5700
 cgaccgttca acttctgtgt gttttctcc ttcttggcg catgatgggc catgcctgga 5760
 ccccgctgt tgcgtgggc ttcttttgc tgaacgaaat cctcccagca gtcttagtcc 5820
 gcgctgtgt ttctttgca ctctttgtgc ttcatgggt caccctgg tctgcacagg 5880
 tgcgtgatg cagactcctc acggcagcac tcaatcgtaa caggtttcc ttggtctttt 5940
 acgcactcgg gggcgctgc ggcttggctg ctgagattgg gactttgct ggtaactga 6000
 ctgaaactgc ccaggccttg tccatact gcttctacc tagggtgct gccatgacta 6060
 gttgcgttc catcatc atcggtgggc tccacacct tgggtgatt ctgtggctgt 6120
 tcaaataccg tggctccac aacatgtgg tcggtgatgg gagtttctca agcgccttct 6180
 ttctgcgga tttgcagaa ggcaatctaa ggaaaggcgt ttcgcagtct tgggcatga 6240
 gtaatgaat ttaacggct gccctggcct gtaagtgtc acaggctgac ctgattttc 6300
 tgtccagcct gacgaactc aagtcttg tgtctgctc aaacatgaaa aatgctgctg 6360
 gccagtacat tgaagcagc tacgccaagg ccctgcgta ggagtagct tctctagtc 6420
 aagttgataa aatgaaagga gtcctgtcca agctcgaagc tttgctgaa acagcaaccc 6480
 catccctgga cacaggagat gtgattgtc tactcggga acatcctcac gggtcggtc 6540
 ttgacatcaa tgttgggact gaaaggaaga ccgtgtcagt gcaagagacc cggagcctag 6600
 gcgggtctaa attcagtgc tgcaccgtg tgtccaacac accagtcgac acctgaccg 6660
 gcatccact taaacgccg acccactct ttgaaatgg cccgcccac cgcggtgagg 6720
 atgacgacct taaagttag aggatgaaga aacactgcgt ctccctcggg ttccataaca 6780
 tcaatggcaa aatttactgc aaggtctggg acaagtccac cggagacacc ttctacagg 6840
 atgattcccg gtataccaa gactatgcct ttcaggacag atcggtgat tacagagaca 6900
 gagattatga ggggtgcaa actgccctc aacaaggatt tgaccgatg tctgaaaccc 6960
 ccgttggtat tatcgtgatt ggcggtgca cgtacaacag gtacttagct aaaggcaagg 7020
 aggtttgat ccccaaact gataaccatc tcgaggccgc taggtttcc ctcgagcaag 7080

ccctcgctgg gatgggcaa acttgtatc ttacggctgt cgaggaggag aagttgaagc 7140
gcattatcag tcaactcaa ggcttgacca ctgagcaggc tttaaactgt tagccgccag 7200
cggcttgacc cgctgtggcc gcggcggtt agttgtgaca gaaacggcgg tgaagattgt 7260
gaaataccac agtagaactt tcacctggg tcctctagac ttgaaagtca cttctgagc 7320
ggaagtaaag aaatcaactg agcagggccca cgctgtgtg gcaaacttat gctccggtgt 7380
cgtctaatg aggcctcacc cgccatctct cgttgatgta cttctggtgc ccggactga 7440
cacagcacc ggcatcaac cagggcattg gcccggaac atgggtgtga acggtgctat 7500
ttgggatttc gagactgcac ccactaaggc agagctcgag ttgtccaagc agataatcca 7560
ggcctgtgag gtagggcgcg gggacgcccc gaatctccag ctctctaca agctttacc 7620
tgtaggggg gatcctgaac ggcgcaatgg ctgtctcacc aacaccaggt tcggagatt 7680
gccctataag actcctcaag acaccaagtc cgcgaccac gcggcttgc gcctgcacc 7740
cgatggggcc ccggtgtctg atggcaagtc tacattaggt tccaccctcc aacgtggtt 7800
tgagctttac gtccccacag tgccttacag tgtttggag taccttgatt cacgcctga 7860
caccctctc atgtgtacca aacatggcac ttctgaggct gctgcggagg acctccaaa 7920
atacaactg tccactcaag gattgtcct gcctggagtc cttcgtttag ttgcagatt 7980
cattttcgc catatcgga aggccacc gttgtacct ccatcaacct atcctgcaa 8040
aaactccatg gcagggatta atggccaaag gttccgaca aaggatgtcc agagcatacc 8100
tgaaattgac gaaatgtgcg ctgcgcccgt caaagagaat tggcagactg tgacgcctg 8160
caccctcaag aagcagtact gttccaaacc caaaactaga accatcctgg gactaaca 8220
cttcattgcc ttggcgaca gatcagcact cagtgtgtc accatgcgt tcatgaagaa 8280
agcctggaaa tctccaattg ccttgggaaa gaacaaattt aaggagtgc actgtactgt 8340
cgccggcagg tgcctgagg ccgactggc ttctgtgat cgcagcacc cagccatgt 8400
aagggtggtt actgctaact tttgtatga actgcaggg tgtgaggagt actgcctag 8460
ctatgtgctc aactgctgc atgatcgt ggcaactcag gatggcgctt ttcaaagcg 8520
tggtgtctg tcgtctggg acccggtac cagtgtgtc aacactgtgt actcactgt 8580
gatttacgc cagcacatgg tctgtcagc actgaagatg ggccacgaaa ttggcctcaa 8640
gttctcgag gaacaactca agttcgagga cttattgaa attcagcca tgttggtga 8700
ctctgatgac ctgctctgt atgtgagaa gccacctt cctaattacc actggtgggt 8760

cgagcacctt gatttgatgc tgggtttcaa gacggacca aaaaaacta ttataactga 8820
caaaccacgc ttctcggct gcagaattga ggcagggcgg cagttagtc ccaatcgca 8880
ccgcatcctg gccgcccttg cataccacat gaaagcgag aacgcttcag aatattacgc 8940
gtctgtgcc gcaatcctga tggattcatg tgctgtatt gactatgacc ctgagtggta 9000
tgaggatctc atctcggca ttgcccgtg cgctcgtcaa gatggctata gtttccagg 9060
cccgcattt ttatgtcca tgtgggaaa gctgaaaagt cacaatgaag ggaaaaatt 9120
ccgccactgc ggtatctgt atgccaaggc tgaccatgcg tccgcctgcg ggcttgatt 9180
gtgtttgtc cattctact ttcacgca ttgccagtc atgcttagct gtggtcatca 9240
cgctggtta aaagaatgcc cgcagtga gtcaccagtc ggggctggca agtcccctc 9300
tgacaccgtg ttgaacaaa tcccgataa accacccga actgtcataa tgaagtgaa 9360
cagtaaaaca acagccctg acccggggag gtatcagtc cgtcggggtc ttgtcgagt 9420
caagagggga attgcaggca atgaggtga tctcgtgac ggggactacc aggtggtacc 9480
cctctgccg acctgcagag acataatat ggtgaagtg gcttgcagt tactactcag 9540
caaattcata gtaggccac ccggctcgg aaagactacc tgggtgctga accaagtcca 9600
agatgatgat gttatcata caccaccca tcagaccatg ttgatatag tcagtctct 9660
taaggtttg aggtattcaa tcccaggagc ctgaggactc cttttccac cgcctgccag 9720
atccggacca tgggtcaggc ttatgccag cgggcacatc cctggccggg tctcatacct 9780
tgacaggcc gggattgca atcatctga catcctcaga ctgcttcca aaacaccct 9840
cgtgtgttg ggcgatctc aacaactca ccctgtcggc ttgattcct gttgtatgt 9900
tttaatcag atgccacaca aacagctgac caccattac aggttcggcc ctaatatctg 9960
tgccgccatc cagcctgtt acaggagaa gcttgaatcc aaggcaagaa acaccagggt 10020
ggtttcacc actcaacctg tggcctatgg tcaagtgtg acaccattc acaaggatcg 10080
cgtagactca gccataacca tagattcatc tcagggtgcc accttgacg tcgtgacgtt 10140
acactggcg acgcaaaat cctgaacaa atcccagca ctgtggcta tcaccgggc 10200
gaggcatggg ctgttcatt atgacctca taaccaact caggagtct tcaacctaac 10260
ccctgagcg acgattgca acctgtgtt caaccgtgg gatgaactgg tcgtcctgga 10320
tccagataat gcagtcacga ccgtagcaa ggccctggg gccggccgt ctcaattccg 10380
ggtgtccgat ccgaggtga agtccctct ggccgttgc tcagtcagcc tggaagggtg 10440

ctgcatgccg ctgccgcagg tggcccataa ttgggggttt tatttctccc cagacagtcc 10500
 ggcgtttgca cctctgccaa aagaactggc accacattgg ccggtgggta cctgccagaa 10560
 caaccgggca tggcctgac gactcgttg cagcatgcgc ccgattgacg cccgttacag 10620
 caagcctatg gttgggtcgg ggtatgttgt tgggccgtcc accttcttg gaacccttg 10680
 tgtagtgca tattacctca cactgtacat caagggtgag cccaagccc taccagaaac 10740
 actcgtttcg acagggcgta tagccacaga ctgccgggaa taccttgata cagctgaaga 10800
 agaagcagct aaagaactcc ctcatgttt cataggtgat gtcaaaggca ccacagtagg 10860
 ggggtgtcac cacattacat caaaatactt acccaggtcc ctaccaagg actctgttc 10920
 agtgggtggg gtgagctcac ctggcaaggc tgccaaagcg gtgtgcactc tactgatgt 10980
 gtacctccct gacctcggc cgtatctgca accagagaca gcatcaaat gctggaaact 11040
 caaattggag ttcaggacg tcagattgat ggttggaaa ggggccactg cctattcca 11100
 attggaagga ctacatggt cggcattacc cgactatgcc aggttcattc agtacccaa 11160
 agatgccgta gtatacttg acccgtgat aggaccggca acggccaacc gcaaggttgt 11220
 gcgaaccact gactggcgag ctgacctggc ggtaacaccg tatgattacg gtgccagac 11280
 tattctgaca acagcctggt tcgaggacct cggaccacaa tggaaaatcc tggggctgca 11340
 gcccttaag cgggcatttg gcctgaaaa cactgaagac tgggcaatcc tcgcacgccg 11400
 tatgagtac gccagagatt acaccgacta caactggact tgtgttcgag aacgcccga 11460
 cgctatctac gggcgcgctc gtgaccacac gtatcattc gccctggca cagaattgca 11520
 ggtagaactg ggcaaacccc ggctcccgt tgagttagta ctgcggctcg aaagccatgc 11580
 aatggggta ctgtggagta agatcactca gctgtttgt gatgcctca ctgaattcct 11640
 tgtagtggt gttgacattg ttatcttct tgccatacta ttcgggttca cagtcgcagg 11700
 atggttactg gtctttctac tcagagtgtt ttgctccgcg attctccgtt cgcgcactgc 11760
 cattcactct cccgaattat cgaaggtcct atgaaggcct gctgccaat tgcagaccgg 11820
 atgttcaca attcgcaatc aagcatccat tgggcatcct ttggcacatg cgagtttccc 11880
 atctaattga tgaatgggtc tctcgtcgtg tctaccaaac catggaacat tcaggccaag 11940
 cggcctggaa gcaggcagtt gctgaagcca cactacaaa gctatcgag cttgacatgg 12000
 tcaccactt ccagcatctt gccgcagtgg aagcggattc ttgtcgttc ctgagttcgc 12060
 gactcgtgat gctaaaaaac ctgctgtcg gcaatgtaag tctgctgtac aataccacat 12120

tggaccgtgt tgaactcatt ttccccacgc caggtgcgag gcccaaattg accgatttca 12180
gacaatggct catcagtggt catgcttcta ttttctcttc tgtagcttcg tcagtcactt 12240
tgttttagt gctttggctt cgaattccag tgctacgcta tgttttgggt ttccattggc 12300
ccacggcaac acgtcgftcg aactgacat caattacacc gtatgcaagc ctgcattac 12360
tagacaagct gctgccaac gactcgagcc tggtcgtaac atgtggtgca aaattgggta 12420
cgatcactgt gaagagcgtg atcacgatga gttgtcaatg gccatcccgt ccgggtacga 12480
caacactaaa ctgaaggct attatgcttg gcttgccttc ttgtctttt ctatgcggc 12540
ccagtttcat ccagagctgt ttggaatagg gaatgtgtca cacgttttcg tggacaagca 12600
gcatcaatc atctgtgccg agcatgatgg gcaaaattca accataccca acccacaca 12660
catctctgca ttgtatgcgg tgtattatca ccaccaagtg gacgggggca actggttcca 12720
tctagaatgg ctgcggccat tcttctctc ctggttggtg ctcaatattt catggtttct 12780
gaggcggtcg cctgcaagcc ctgtttctcg acgcatctat cagatattaa aaccaacaca 12840
accgcggctg ccggtttcat ggtccttcaa gacattagct gttccaacc ccatgagaga 12900
tcgggcacgc ggtcgctcgt tcgcgggaag ccatccaat gtcgtacagc catcggcacc 12960
cccctgtaca tcacgtaac ggcgaaatg actgatgaat ctattttgta caatgctgat 13020
ttattgatgc tttctgcttg cctgttttac gcctcgaaa tgagtgagaa gggcttcaa 13080
gtcattttt gaaacgtctc tgggtgtgtt tccgcgtgcg tcaatttcac agactatgtt 13140
acctatgta ctcagcatac ccaacagcat catctggtag tcaaccatat ccggttgcgtg 13200
cactttatga caccgtcaac gatgaggtgg gccacaacca tcgcttgtt gctcgccatt 13260
ttattggcga tatgagatgt ttcccagat tggggcggtt ttgactcct cactcttact 13320
tctggtggct ttctttgttg tgtaccggtt tctctggtc ctttgccgat ggcgacggca 13380
acagcccgac ataccaatac atatataact tgacgatatg tgagctgaat gggaccacct 13440
ggctgtcaa caatttttac tgggcagtcg aaactttgt gctttaccg gtggtgacct 13500
acatcgtctc actgggttc ctcaacta gccatttctt tgacgcgctc ggcctcgag 13560
ctgtgtccgc tgtgggattt gctggcgggc ggtatgtcct cagcagcata tacggcggtt 13620
gtgcattcgc agcgtcgtg tgtttcatca tccgtgtgt taaaaattgc atggcgtgcc 13680
gctatgcccg tactcggttc accaactca ttgttgacga ccgaggaaga attcacagat 13740
ggaagtcccc aatagtgggt gaaaaatgg gtaaggccga agttggcagc agtctcgtca 13800

ccatcaagca tgttttctc gaaggggtta aagctcaacc cttgacgagg actccggctg 13860
 agcaatggga agcctagatg acttttgcta tgattccgcc gctacacaaa agcttctact 13920
 agctttcagt atcacatata cacctgttat gatatacgcc ctttaaggtat cacggggcgg 13980
 acttttgggg cttttgcaca tcttgatttt cctgaattgt tccttcacat tcggatacat 14040
 gacctatgag cgtttcatt ccaccaatcg tgtggcgctt actatgggag ctgtgtgcgc 14100
 tctcctgtgg ggcatctata gcctcacaga atcatggaag ttattactt ccaggtgcag 14160
 attgtgttgc ctaggccggc aatacatcct ggcccctgcc caccacgtag aaagtccgc 14220
 aggactccat tcaatccggc cgcttgcaa ccgagcatac gccgtgagaa agcccggatt 14280
 aacatcagt aacggcactt tagtaccagg gcttcggagc ctctgtttgg gcggcaagcg 14340
 agctgttaaa cgaggagtgg ttaacctgt caaatatggc cggtaaaaac cagagccaga 14400
 agaagaagaa aaatacagct ccaatgggga atggccagtc agtcaatcaa ctgtgtcagt 14460
 tgctgggcac gatgatgaga tccagcgcc agcgatcaa ggggggacag gccaaaaga 14520
 aaaagcttga gaagccgcat tccccctgg ccgctgaaga tgatgtccgg caccacctca 14580
 cccaaaccga acgttccctt tgctgcaat cgatccagac agcctttaat caaggtgcgg 14640
 gaactgcgtc gctttcatcc agtgggaagg tcggttttca ggttgagttt atgtgtccgg 14700
 ttctcatatc ggtgcgcctg attcgcgtga ctccacatc cgccagtcag ggtgcaaatt 14760
 aatttgatag tcaggtgaat ggccacgatt ggcgtgtggc ctctgagtca cctattcaat 14820
 tagggcgatc acatgggggc tagacttaat caggcgagaa ccatgtgacc gaaatt 14876

<210> 4

<211> 15043

<212> DNA

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> cADN từ Virut gây Hội Chứng Rối loạn Sinh Sản và Hô Hấp ở Lợn

<400> 4

atgatgtgta ggggagatac cctacacaca caacactcct agtgtttgtg taccttggag 60
 gcgagggtac agccccgcc cactccttgg cccctgttcc agcccaacag ggacccttct 120
 cccctggggc gagtgtgccg cctgtgtctc tctgcagcg ggaaggacct cccgagtatt 180
 tccggagagc acctgttca cgggatctcc acccttaac catgtctggg atgttctccc 240
 ggtgcatgtg caccocggct gcccggtat ttggaacgc cggccaagtc tttgcacac 300

ggtgtctcag tgcgcgggtct ctctccctc tagagcttca ggactctgac ctggcgctg 360
 ttggctgttt ttataagcct agggacaagc ttcatggaa ggtcccatg ggcacccctc 420
 aggtggagtg cactccatcc ggatgctgtt ggctcgcagc cattttcct atagcgcgta 480
 tgacctccgg caatcacat ttctccagc gacttgtgaa agttgctgat gttttgtacc 540
 gcgacgggtg tctaaccct caacacctc gtgaactcca agtttacgaa cgcggtgca 600
 actggtacc gatacgggg ccagtcccc ggatgggtt atttgcgaac tccgtgcacg 660
 tgtctgacca gccgtcccc ggcgccactc atgtttaac caactacca ttgcctcagc 720
 aggttgtcg acagccgttc tgtccattg aggtggctca ttctaacgta tacagtgagg 780
 gggagtttg gatcttttg gactctctt ccggcggtcg atcgctatg atgtggacac 840
 cgggatccag tgactggct gccctagaag cgttaccgc cgcattagaa cgtcaggccg 900
 gagtcttgt tcgaagttc cctgccacc acccgcga cctgtctgac tgggagctta 960
 ccgaatcccc tgaacagggt tttctctca gcacattca ttctgtgtt taccttgctc 1020
 aaaacccga aagtttgac ggtaagtgt ggctttcctg ctctctgggc ttgccgaccg 1080
 gcgtgcggcg ttgtaggaa ttttagctg gcgccttgg ttatcaaacc aaatgggggg 1140
 tgcacggaaa gtacctcaa cgtaggcttc agattaacgg ccttcgcgt gtggtcgatc 1200
 ctgacgtcc catcatgtt gaagcactt ctgtcccca gtcttgatc aggcactga 1260
 ctttgacga tgatgcacc ccgggattcg ttcgctaac atccctcgc attgtgtaa 1320
 atacagagac cacctctcc cagatcttc ggtcggggc gcataagtgg tacggcgctg 1380
 ccggcaagcg ggctcgcgt aagcgtgct caaagagtga gaagaaatg gttccaccc 1440
 ccgagactgt tccgtgacc ccgcctgtg gagtacat ctattccca ccggcagacg 1500
 ggctctgtg ttggcatgcc ctgcgccca tattgaacca gatgatgaac ggtgactca 1560
 cgtccccctt gcctcagta aacaggccag aggatgattg ggctctgac aacgacctg 1620
 ctcaagcaat tcaactctg cgactaccg ctaccatgt tcggactcgt gcctgtccta 1680
 atgccaggta cttataaag ctgaatggg ttactggga agtgaggag aggtgggga 1740
 cggctcttg ctcccttct cgtgaatgt tggttggtt ttgctctgaa ggctgtgtc 1800
 catgcctta tccaacagac ggggtaccag agcgtgcact cgaggcctg gcatctgctt 1860
 acagactacc ctccgattg ttgtctctg gtatttctga ctctctacc gaaccgctc 1920
 ctcaggaact ctggactct gacaggatg tgacctctc atcacctgag cgtccggct 1980

tctccagttt gtataaatta ctgctcgagg ttgtccctca aaaatgcggt gctacggaag 2040
 gggctttcac ctatgctgtt gagagaatgt tgagggactg ccgaagctcc aaacaagcca 2100
 tggctctttt ggcgaaaatt aaagttccgt ctcaaaaggc ttcattctgtg tccctggacg 2160
 agtgtttccc tacgggtgct ccaggtgatt ctgagccagc acttcaggag gggcctcgaa 2220
 gcctcggtgc tgccgtgtgc ccatgcctgc ctggtgcaaa aggattcgag gaagcagccc 2280
 cggaaggggt tcatgagaat ggctacgatg ccaccacccc tgcgctcttt gctgagcgtt 2340
 ctaccaacga gcaggcacga atggcagccg gtaggcaatt ggggttcagc gatcgtgatt 2400
 tggcagtcaa gaacattaat gaaggtgatt cggtctcggt tggccaaca gaaggcacac 2460
 tcaatggta gggagacgaa ccaactgatt tgtcccgacc agcactgacc actacaacga 2520
 cccttatggg agaacgagaa cccgacaacc ctggttctga tgccggtgct tcccctgata 2580
 ctgttcgaga attttccttg acggggctca cattccgtca tgttgagcac tgtgttacgg 2640
 agtcgggtga cagcgattcg cctttggatt tgtctgacac gcagaccag gaccaacctt 2700
 tagatctatc cctggcctct tggccagtga aagctaccgc atctgacccc ggctgggttc 2760
 acggtaggcg tgagcctgtc tttgtgaagc ctcgaaatgc tttctctgat ggcgattcag 2820
 tccttcagtt tggagggcct tctgaaccg gctctgtcat cgagcctgac cagataaaaag 2880
 gtgccccggt gactgacacc cctaccgacc taacgacttc tgacgagtc tttccgcag 2940
 gtgatcctct tgaactcgct gagcttaagc gccacagtt ctccgtacag gccttaattg 3000
 atcgaggggg cccacttgct gcattttatg caaaaataaa gaatcgggta tatgaacagt 3060
 gcctccaagc ctgtgagccc ggtagtcgtg caaccccggc cactaaggag tggtcaaca 3120
 aaatgtgggg tagggtagac atgaagactt ggcgtgtgac ttcgcagttc gaagctggtc 3180
 gctctcttgc gtccctgaa ttctccctg atatgatcaa cgacactcca cccctgttc 3240
 ccaggaataa cgggtcagtt gacgacgccg gcttgaagca actggtagca caatgggata 3300
 agaaattgag cgcaccccc ccccaaaac tggttgggcc agtgatcgac cagagcgccc 3360
 tcccaccagc aggtgtccaa caggaaaata tcacccttc cgatgggccg cctcaagcgc 3420
 cggattttcc tggtcgagcg ggtacaggca gaggttgaa aggctttgtg cttccggca 3480
 ctctcttgc agagtctgtt agtcagcgcc ttatgacgtg gggtttgaa gtctactccc 3540
 atcctccagc ttttatgctc gcactttct cgccacgggg ctctatggtt ccaggtgatt 3600
 ggtgtttgc aggtgtgtg ttactgtctc tctgtctg tcgttcttac ccagtactcg 3660

ggtgtctacc ctactgggt gtaattctg gtctctacg gtgtgtcgt ctgggtgtt 3720
 ttggtcttg gatggcttt gctgtattt tattctaac tccagccgat ccagtcggt 3780
 ctcttgta ccacgattcg ccgaagtgc atgctgagct ttggctctt gagcagcgcc 3840
 aactttggga acctgtgcgc ggccttggtg tgggccctc ggtctctta tgcgtcattc 3900
 ttggcaagt actcgggtggg tcacgttatc tctggcatgt ttcttacgt ttatgcatgc 3960
 ttgcggaatt ggccctttct ctgtttatg tgggtccca ggggcgtgt cgcagtggt 4020
 ggggaaagt tataaggaca gtcctatgg aggtggccct caacgtattc ccttttcgc 4080
 gtgccaccg ctctctctc gtgtcctgt gtgatcgtt tcaaacgcca aaaggggtg 4140
 atcctgtga cctggcaacg ggttggcgcg ggtgctgtg cggtagaggt cccatccatc 4200
 aatcacatca aaagcccata gcttatgcca atttgatga aaagaaaata tctgccaaa 4260
 cagtagtac tgtccatat gatccagtc aggtgtcaa gtgcctaaaa gtttgcagg 4320
 cagggggggc catcgtagac cagccacac ctgaggtcgt tctgtgtcc gagatccct 4380
 tctcagccc attttccca aaagtcccg tcaacccaaa ttgccgggt gtagtggtt 4440
 cagacactt cgtggccgca gtccgatcg gttactaac agcacaactg gttctaggcc 4500
 gtgtaactt tgctaagta aatcaggccc ctccaaaaa ctctgccctc accaaagcaa 4560
 ctggtggggc ttctacacc ctgtgttg ctcaagtgc tgtgtggact ctgttcatt 4620
 tcaccttgg catttgctc acaacacctc aagtgtgtg acgagggacc gtcgacccat 4680
 ggtgtacaaa cccctttcg taccctact acggcccg agttgtgtc tctgtcgac 4740
 ttgtgtgtc cggcgacggg gttaccctgc cgtgttctc tgccgtggca cagctctcg 4800
 gtagggaggt agggatctt attttggtac tcgcctttt ggtgtctt gtccaccgcc 4860
 tggctctaa ggcagacatg ttaatgtct ttttgctt ttgtcttac gcctggccta 4920
 tgagctctg gttgattgc ttctccca tactctgaa gtgggtcaca cttaccccc 4980
 tcaccatgt ttgggtacac tcatttttag tgtttgtct gccagcagcc ggtatcctt 5040
 cactgggagt gactgtctt ctctgggcaa ttggccgtt taccaggtt gccggaatta 5100
 ttacacctta tgatccat cagtacacct ctgggccag tgggtcggcg gctatagcca 5160
 cagccctga aggcacttac atggccgccc tccggagagc cgcttaact gggcgaactt 5220
 tgatctcac ccgctcagca gtaggatccc ttctgagg agccttagg acccgtaaac 5280
 cctgcctcaa caccgtgaat gtcgtgggt cttcccttg ttcaggagg gtttcaccg 5340

ttggtggaaa gaaaataatc gtcaccgcag cccacgtgct gaatgggtgac acggctagag 5400
 tcaccgggtga ctctacaac cgcttgacaca ccttcaatac taatgggtgat tacgcctggt 5460
 ctcatgtga agactggcag ggcgtgtccc ctgcagtaaa cattgcgaag gggtagccgc 5520
 gccgcgccta ttggcaaacg tcaaccgggtg tcgagccccg agttgttggg ggagggtttg 5580
 ccttctgttt tactaactgc ggagactcgg ggtcacctgt tatctcagaa tctggtgatc 5640
 ttattgggat tcacaccggc tcaacaaac tcggctctgg tcttgaaca acccctgaag 5700
 gggaaacctg cactattaaa gaaaccaagc tctctgacct ttctaaacac ttgcaggcc 5760
 caagcgtcc cctcggggac atcaaatga gtccggccat tatccctgac gtgacatcca 5820
 ttccgagtga ctggcgctg ctctgactt ctgtccctgt aatggaaggc ggcctctcga 5880
 ccgtccaact ttgtgtgtc ttttcttc tctggcgcat gatgggcat gcctggacac 5940
 ccgttgttc cgtgggttc ttctgtga atgaaatcct ccagcagtc ttggtccgga 6000
 ctgtgtttc tttgcactc ttgtgctgg catgggcaac cccttggct gcacagggtt 6060
 taatgatcag gcttctcag gcatctctca atcgtaacag gtctcttta gtgtctacg 6120
 catttgagg catcgtcggc ttggccgtg aaatcgggac ctctctggc agattgcctg 6180
 cattgtctca agcccttgc acatattgct tttaccag agccctgtc atgaccagct 6240
 gtgtccccc cattatcatt gggggattcc atatcctcg tgtaatcttg tggttgtca 6300
 aataccgta cctccacaac atgctggctg gtgatgggag ttttcaagc gccttttcc 6360
 tacggtattt tgctgaaggc aatctcagga aggggtgtct aaagtctgt ggcagtagta 6420
 acgagtcct aacggctgca ctggcctgca aattatcaca ggctgacct gattttctat 6480
 ccagcttgac gaacttaag tgctttgtat ccgttcaaa catgaaaaat gctccggcc 6540
 agtacattga agcagcgtat gccaggccc tgcgccaaga gttggcctcc ctagtcaag 6600
 tcgacaaaat gaaaggagtc ttgtccaagc tcgaagcttt tgctgagaca gccactccgt 6660
 cccttgacgc gggtgacgtg atgttttc taggacaaca tcctcacggg tctgttctcg 6720
 acatcaatgt gggggctgaa aggaaaactg tatctgtaca agagacccgg agtctaggcg 6780
 gctccaaatt cagcgtctgc actgtcgtg ccaacacacc catcgtgac ttaactagta 6840
 ttccactcca gacaccaacc ccactctcg agaattgtcc gcgtcatcgt ggcgaggagg 6900
 acgatctcaa agttgagagg atgaagaac actgtgtgtc cctcggcttt cacaacatca 6960
 atggcaaagt ttactgtaaa atttgggaca agtctaccgg cgacaccttc tacacagatg 7020

attcccggta taccaggac tatgctttc aagacagatc agtcgattac agggacaggg 7080
 actatgaggg cgtacaaacc gtctccatc agggattcga tccaaagtc gaaaccctg 7140
 tcggcactgt tgtgatcggc ggcatcactg ataacaggta tctgacaaag ggtaaagaaa 7200
 ttctggttcc caggcctgac aactgccttg aagctgctaa attgtcctta gagcaagctc 7260
 tcgccgggat gggtcagact tgcgaactta cgaccgccga gatggaaaag ttgaagcgca 7320
 tcattagtca actccaaggt ttgaccactg aacaagcttt aaactgctag ccgccagcgg 7380
 ctgaccgccg tgtggccgcg gcggcctagt tgtactgaa acggcggtaa aaattgtgaa 7440
 ataccatagt agaactttta ccttaggtc ctagacctg aaggtcgctt ccgaggtaga 7500
 ggtaaaaaag tcagctgagc aaggccacgc tgtgtggca aacttatgct ccggtgtcat 7560
 ttgatgaga cccacccac cgtccctgt tgatgttctt ctgaaaccg gacttgacac 7620
 aaaaccggc attcaaccag ggcattgggc cggaacatg ggcgtggatg gtttacttg 7680
 ggattttgag accgcgcca caaaggcaga gcttgagtta tcgaagcaga taaccaagc 7740
 atgtgaagt aggcgcggag acgtcccaa cctcaactc cttacaaac ttaccctgt 7800
 cagggggaac cctgagcggc atgacggcg tctactaac accaggttg gagattgcc 7860
 ttacaagacc cctcaggaca ctaaatccg aatccacgc gcttgttgc tgcacccaa 7920
 tggggtcccc gtatctgatg gcaaatctac actaggtacc actctcaac atggttcga 7980
 gctttatgtc cctaccgtgc cctatagtgt catggagtac ctgattcgc gttctgacac 8040
 ccctctcatg tgtactagac atggcacttc caaagctgcc gcagaggacc tccaaaagta 8100
 tgatttatcc acccaggggt ttgtcctgcc tgggtccta cgccttgc gcaagttgt 8160
 tttggccat gttgtaagg caccgccatt gttcctcca tcaacctacc ccgcaaaaa 8220
 ctccatggca ggggtcaatg gccaaaggt tctacaaaa gatgtcaga gcatacctga 8280
 agttgatgaa atgtgtgtc gcgccgcaa ggagaattgg caaactgtga cgcctgtac 8340
 tcttaagaaa cagtactgt ccaagctcaa aaccagaacc atcctgggca ccaacaattt 8400
 tattgcccta gccacagat cggcgtgag tggcgtcacc caggcttta tgaagaaggc 8460
 ctggaattcc ccaattgcct tggggaaaaa taaattcaa gagctgcact gtgtgtcgc 8520
 cggcaggtgc ctgaggtg atctggcctc ctgtgaccgc agcaccctg ccgttgaag 8580
 atggtttgt gccaacctcc tgtacgaact cgcggggtgt gaagagtatt tgcctagcta 8640
 tgtctcaat tgtgccatg atctcgtagc aacacaggat ggtgcctta cgaacgcgg 8700

tggcctgtcg tctggggacc ccgtcactag cgtgtccaac actgtgtatt cactgataat 8760
 ttatgccag catatggtgt tatcagcttt gaaaatgggt cacgaaattg gtctcaagtt 8820
 ccttgaggaa cagcttaaatt tcgaagacct tcttgaaatt cagcccatat tgggtatttc 8880
 tgatgacctc gtattgtatg ccgaaagacc aactttccc aactaccact ggtgggttga 8940
 gcatcttgac ctaatgtcgg gcttcaaac ggaccggca aaaaccgtca taaccgacaa 9000
 gccagcttc ctggctgtga gaattgaggc agggcggcag ctagtccca atcgcgaccg 9060
 catcctgggt gctctcgcac accacatgaa ggcgagaac gcctcagagt attatgcgtc 9120
 tgctgtgca atcctaattg attcatgtc ttgcattgac cacgaccctg agtggtatga 9180
 ggacctcatt tgcggtattg cccggtgcgc ccgccaggat gggtacagct tcccaggctc 9240
 accatttttc atgtctatgt gggagaaatt gagaagtcac aatgagggga agaaattccg 9300
 ccattgcggc atctgcgacg ccaaagccga ccatgcgtcc gcttgcgggc ttgatttgtg 9360
 tttgtccat tcgcacttc atcaacactg ccagtcact cttactgcg gtcacatgc 9420
 cggttcaaag gaatgttcgc ggtgccagtc acctgttggg gctggaaaat cacctcttga 9480
 tgccgtgcta gaacaaattc catacaaacc tcctgcact gtcacatga atgtgaacag 9540
 tggaacgacg gcccttgatc caggagagta ccagtccctg cgtggcctcg ttgcagttaa 9600
 gaggggtatc gcaggtaatg aagtgtatct cctgatgga gactatcaag tgggtcctct 9660
 ttaccgact tgcaaagaca taaacatggt gaaggtggct tgcaatgtc tgctcagtaa 9720
 gtcatagtg gggccgccag gtccgggaa aaccacctgg ctattgagtc aagttcagga 9780
 cgatgacgtc atttacacac ctaccacca gaccatgtat gacatagta ggcacctcaa 9840
 ggtttgtagg tattctatcc caggagcctc gggacttct tttccgccac ctgccagatc 9900
 cgggcccgtg gttaggcttg ttgctagcgg ctacgtccct ggccgagtgt catacctga 9960
 tgaggctgga tattgcaatc acctggacat tcttagactg ctttctaaa cacccttgt 10020
 ttgttgggt gacctccagc aacttcccc tgtcggcttt gattcctact gttatgtgt 10080
 tgatcagatg cctcagaagc agttgactac cattataga ttcggtccta acatctgtc 10140
 agccatacag ccttgttaca gggagaaact cgaatccaag gctaggaata ccagggtggt 10200
 cttcaccacc cgacctgtgg ctttggcca ggtgctgaca ccatacata aagatcgcgt 10260
 cgactccgcg ataaccatag attcgtcaca gggggccacc ttgcacattg taacgttgca 10320
 tttgcatca ccaaatcct taaacaaatc ccgagcactt gtagccatca ctcgggctag 10380

gcacgggttg ttcatftacg atccccataa ccagctcagg gagttttca acctgacccc 10440
tgagcgtact gaatgaacc tcgtgttcag ccgtggggat gagctggtgg ttctgaacgc 10500
ggacaatgca gtcacgactg tagtaaaagc cctagagggtg gggtcatccc agtttcgagt 10560
gtcagacccg aggtgtaaat ctctcttagc tgctgttca gccagtctgg aggggagctg 10620
tatgccgtta ccccaagttg ctcataacct agggttttat tttcccctg acagtccggc 10680
atttgacccc ctgccaaaag agttggcacc acattggcca gtagttactc accagaataa 10740
tcgggcatgg ccagaccggc tcgtcgctag catgcgcca attgatgctc gctacagtaa 10800
accaatgatt ggtgctggtt atgtagtcgg accatccacc tttctcgga ctcttgccgt 10860
agtgtcatac tatctacccc tatacattag gggtagagccc caggccttgc cagaaacact 10920
cgtgtcaaca ggacgcatag ccacagattg tcgggagtat ctgatacag ccgaggaaaa 10980
tgccggcaaaa gaactccctc acgcatttat tggtagtggt aaaggcacta cggtcgggtg 11040
gtgccatcat attacatcaa aatacctgcc taggaccttg cctaaggact ctgttgccgt 11100
ggtcggagtg agttgccccg gcaaggctgc taaagccatg tgtaccctca ccgatgtgta 11160
ccttctgaa ctccgacat atctgcaacc aaagacggca tcaaatgct ggaaactcaa 11220
glttagacttc agggacgtcc gactgatggt ctggaagggg gctaccgcct acttcagct 11280
tgaagggtc acatggtctg cgctgcctga ttaccgagg ttcatccagc taccacgaa 11340
tgccgtcgtg tacatcgacc cgtgcatagg accggcagca gccaaccgta aagttgtcgc 11400
aaccacggat tgagagcgg acctggcggg aacaccatat gactacggtg ctcaaaccat 11460
tctgacgaca gcctggttcg aggacctcgg gccacagtgg aaaattttag gactacagcc 11520
cttcaggcga gcattaggct ttgacaacac tgaggactgg gcaattctg cacgcctat 11580
ggatgacggt aaggattaca ttgactacaa ctggagtgtg gttcgaaacc gccatgcgc 11640
tatccatgga cgtgcgcgtg accacaccta tcattttgct catggtacgg aattaggggt 11700
ggagctgggt aaacctcggg taccgcctga ataagacccc ctggaacca aagcaatgcg 11760
atgggttcat tatggagcaa aatcagtcaa ttgtcgtgg acgttttac cgaattcctt 11820
gttagcgtgg ttgatattgt catctttctt gccatattgt tcgggttcac agtcgctgga 11880
tggtcctcgg tctttttct cagagtgggt tgctccgca ttctccgttc gcgtctgcc 11940
attcactctc ccgagttatc gaaggctcta tgagggcctg ctgccaatt gcaaaccaga 12000
tgtcccacaa ttgcaatca agcaccact aggtttgctc tggcacatgc gagtctctca 12060

gtaaatcgac gagatggctc ctgcgcgat ttaccagacc atggaacact caggtcaggc 12120
agcctggaag caggtagtca gtgaggccac ccttacaag ttgtcaaggc tcgatgtagt 12180
tgccccattc caacattgg ctgcagtga ggcggattcc tgcaactcc tcagtcacg 12240
acttgtgatg ctgaaaaatt tagctgtcgg taacgtgagt gtattttaca acgccacgtt 12300
ggaccgcgtt gaactcgtc tccccagcc aggcacgagg cccaattga ccgactttag 12360
gcaatggctt atcagcgtgc atgcttccat ttctcctct gtggttcat cggttacctt 12420
gttcattgtg cttggcttc gggttccaac tctacgctat gttttggtt tccattggcc 12480
cacggcaaca cgtcattcga gctgaccatc aactacacca tatgtatgcc ctgtcccacc 12540
agccaagcgg ctcaacaag gctcgaacc ggctgtaata tgtggtgcaa gattggatac 12600
tctacgtcgg aggagcatga tcacgatgaa ctgtcgatgg ctataccacc tgggtatgac 12660
aatctcaaac ttgaaggcta ttatgcatgg ttggctttct tgccttttc ttacgcggct 12720
caattccatc cggagtatt cggaataggg aatgtgtcgc gcgttttct ggacaagcag 12780
catcagttca ttgcgccga gcatgatgga cccaattcaa ccgtaaccac tggacataac 12840
attccgcat tgtatgcggt gtactacat caccaagttg acgggggcaa ctggtttcat 12900
ttaaatggc tgcggccgtt cttctctcc tggctggtgc tcaatatctc atggtttctg 12960
aggcgttcgc ctgcaagccc tgtttctga cgcattatc agatattaag accaacacga 13020
ccgcggctgc cggtttcatg gtcttcaga acatcgactg cctctcagca gcgcagagga 13080
gtgtccccgt cataaagta tctaatgcc gtgaagccat tggtaacca cagtacatta 13140
cgataacagc aaatgtgacc gatgaagcgt attgtacaa tgcagactta ctgatgctt 13200
ctgcatgcct ttctatgcc tcagaactga gcgagaaagg ctttaaagtt atctttggga 13260
atatctccgg tgcgtctct gcatcgtca attcacgga ttatgtgact catgtgactc 13320
aacacacaca acagcatcat ttggtgatcg atcagttcg gttgctgcat ttctgacac 13380
cgtcagtgat gaggtgggct acaaccatcg cttgcttact tgccatcctt ctggcgatat 13440
gagatgttct cacaaattgg ggtgttttc gactctgtat tctgtctct ggtggcttcc 13500
tttctgtgt accggcttgt cctggtcctt gtctgatggc aacggcgaca gctcgacata 13560
ccaatatata tataatttga cgatatgcga gctgaatgga accaaatggt tgtccaacca 13620
ttttgattgg gcagtcgaga cttctgtct ttaccggtc accactcaca tcattcatt 13680
gggttcttc acaacaagcc attttttga cgcgctcggc cttagcgctg tatccattgt 13740

aggatttgct gatgagcggc acgtacttag tgggtgtgtac ggtgcttgct cttttgccgc 13800
 gctcgtgtgt ttgtcatcc gtgctgctaa gaactgtatg gcttgcgct atgcccgtac 13860
 ccggttcacc aatttcattg tggacgaccg gggggaaatc caccgctgga agtcaccgat 13920
 agtgggtgaa aagtgggca aagctgaagt cggatgatgt cttgtcacca tcaagcatgt 13980
 cgtcattgaa ggggttaaag ctcaaccctt gacgagaact tcggccgagc aatggcaaac 14040
 ctagatgact tctgcaatga tccactgcc gcgcaaaagc ttgtgctagc cttcagtatt 14100
 acatacacac ctataatgat atatccctc aaagtgtcac gcggccggct cctggggctg 14160
 ttgcacatcc tgatattct gaactgttct ttcacgtttg ggtacatgac gtatgtgcat 14220
 ttcaatcca ccaatcgtgt cgcgttact atgggggctg ttgtgccct ttgtggggc 14280
 atctatagtt ttacagaatc atggagggtt gtcacctca ggtgcagact gtgttccta 14340
 ggccggcgat acattctggc ccctgccat cactggaaa gtgccgagg tctccattca 14400
 atcccagcgt ctggcaaccg agcatagct gtgagaaagc ccgactaac atcagtgaac 14460
 ggcaacttag taccaggact tcggagcctc gtgctgggcg gcaaacgagc tgtaaacgg 14520
 ggagtgggta acctcgtcaa gtatggccgg taagaaccag agccagaaga aaaagcaaaa 14580
 tacagctcct atggggaatg gccagtcagt caatcaactg tgccagctgc tgggtgtaat 14640
 gatgaaatcc cagcgccaac ggcctagggg aggcagggc aaaaagaaaa agcctgagaa 14700
 gccacatttc cccctggctg ctgaggatga cattcggcac cacctaccc aaactgaacg 14760
 ttctctctgc ttgcaatcga tcaaaccgac ttcaaccaa ggccgaggaa ttgcgtcgt 14820
 ttcaccagc gggaaggta gtttcaggt tgagtttatg ttgccggtg ctcatacagt 14880
 gcgcttgatt cgcgtgactt ctacaccgt cagtcagggt gctagttaat ttgacagtca 14940
 ggtgaatggc cgcgattgac gtgtggcctc taagtcacct attcaattag ggcatcaca 15000
 tgggggttac acttaattag gcgagaacca tgtgaccgaa att 15043