

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 546 933**

51 Int. Cl.:

A61K 39/12 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

C12N 15/09 (2006.01)

C07K 14/005 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.06.2005 E 05766550 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.06.2015 EP 1755664**

54 Título: **Vacunas de subunidades contra el PRRSV**

30 Prioridad:

17.06.2004 US 581350 P

16.06.2005 US 154617

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

30.09.2015

73 Titular/es:

BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA, INC.

(100.0%)

2621 North Belt Highway

St. Joseph MO 64506-2002, US

72 Inventor/es:

VAUGHN, ERIC M. y

STAMMER, RICHARD

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 546 933 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Vacunas de subunidades contra el PRRSV

5 Lista de secuencias

Esta solicitud está acompañada por una Lista de Secuencias impresa, y también se ha presentado con un contenido idéntico en forma de un archivo de ASCII legible por ordenador en un CD-ROM.

10 Antecedentes de la invención

Campo de la invención

15 La presente invención concierne en líneas generales a vacunas contra el síndrome reproductor y respiratorio porcino (PRRS). Más particularmente, la invención concierne a la prevención del PRRS en cerdos mediante la administración de una vacuna que comprende subunidades del ADN del virus PRRS (PRRSV). Aun más particularmente, la invención se refiere al uso de porciones seleccionadas del ORF 1 tanto solas como junto con otras porciones del genoma del PRRSV o junto con otras vacunas contra el PRRSV.

20 Descripción de la técnica anterior

El PRRS es una importante enfermedad en la industria porcina en todo el mundo. El PRRS está causado por una infección por el PRRSV. Actualmente, existen vacunas de virus vivos modificados (MLV) que cuando se usan correctamente, proporcionan protección a los cerdos frente a la enfermedad clínica resultante de una infección por el PRRSV. Las vacunas de PRRS MLV requieren la replicación en el animal vacunado con objeto de asegurar que se induce una respuesta inmunitaria eficaz (por ejemplo, véase Meng, X J, Heterogeneity of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus: Implications for Current Vaccine Efficacy and Future Vaccine Development; 74 Vet. Micro., 309 - 329 (2000)). Sin embargo, dicha replicación presenta problemas ya que el PRRS MLV puede permanecer en el animal durante varias semanas después de la vacunación y también puede ser diseminado a otros cerdos negativos para el PRRSV. La diseminación del PRRS MLV a partir de animales vacunados puede ser un problema en algunas explotaciones porcinas que no tienen establecidas unas buenas medidas de bioseguridad para prevenir la diseminación del PRRS MLV desde los animales vacunados hacia la población sin exposición previa al PRRSV. Aunque se han usado millones de dosis del PRRS MLV sin preocupaciones, también existen informes esporádicos en la bibliografía relativos a la capacidad del PRRS MLV de revertir hacia una cepa más virulenta, la cepa natural del PRRSV. Se han realizado intentos de resolver los problemas de la diseminación del PRRS MLV y la posible reversión hacia virulencia también mediante la utilización de una vacuna formada por virus inactivados del PRRS (es decir, PRRS KV). Sin embargo, la investigación ha demostrado que a pesar del hecho de que el PRRS KV puede inducir una fuerte respuesta humoral en los cerdos vacunados, no es eficaz en la prevención de la enfermedad asociada al PRRS.

Consecuentemente, lo que se necesita en la materia es un método de vacunación y una vacuna que puedan inducir una respuesta inmunitaria protectora sin los problemas relacionados con el PRRS MLV. Preferiblemente, la administración de la vacuna no se replicaría de forma activa en el animal vacunado e induciría una fuerte respuesta inmunitaria humoral y celular.

45 Sumario de la invención

La presente invención resuelve los problemas inherentes y la técnica anterior proporciona un avance significativo en el estado de la técnica proporcionando vacunas de ADN del PRRSV. Teóricamente, la vacuna de plásmido de ADN que expresa el antígeno del PRRS sirve como molde para sintetizar los antígenos del PRRSV (es decir, como un PRRS MLV), pero también tiene la característica de no replicarse activamente en el animal (es decir, como un PRRS KV). Los inmunógenos protectores necesarios para inducir una respuesta protectora en el hospedador frente al PRRSV no se conocen. Dado que el PRRS MLV puede inducir una respuesta protectora en un cerdo vacunado, se cree que la replicación del PRRS MLV en el animal vacunado debe inducir una fuerte respuesta inmunitaria tanto humoral como celular en el animal vacunado.

El ORF1 del PRRSV codifica para la maquinaria de replicación necesaria para la replicación del PRRSV y la generación de una nueva progenie. El ORF1 tiene dos regiones, denominadas ORF1a y ORF1b, que comprenden el complejo de la replicasa del ORF1 (Dea, et al., Current Knowledge on the Structural Proteins of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (Prrs) Virus: Comparison of the North American and European Isolates; 145 (4) Archives of Virology, 659 - 688 (2000)). Se cree que las proteínas codificadas por la replicasa son los inmunógenos clave en otras familias de virus (Leitner et al., DAN and RNA-Based Vaccines: Principles, Progress and Prospects; 18 Vaccine 765 - 777 (2000)). Cuando una célula es infectada por el PRRSV, la actividad de la replicasa vírica puede proporcionar un potente efecto coadyuvante ya que los antígenos asociados a la replicasa son expresados durante la infección de la célula. Los antígenos asociados a la replicasa pueden servir como "señales de peligro" generadas en las células transfectadas e inducir fuertes respuestas inmunitarias en el hospedador (es decir,

IFN, HSP, apoptosis). Por lo tanto, las "señales de peligro" asociadas a la replicasa podrían ser un factor clave en por qué el PRRS MLV puede inducir una protección, mientras que el PRRS no replicante (es decir, el antígeno inactivado del PRRS KV) no confiere protección tras una exposición.

5 El ORF1 tiene aproximadamente 12.000 nucleótidos de longitud, lo que dificulta la transfección y la expresión adecuada en una célula eucariota. Por lo tanto, el ORF1 se dividió secuencialmente y arbitrariamente en secciones menores mediante el uso de una inmunización con bibliotecas de expresión (ELI) como herramienta para determinar los inmunógenos protectores de varios patógenos. La ELI corta el genoma de un patógeno en particular en pequeños fragmentos que se clonan en un vector de vacuna de ADN y a continuación se administra a un
10 hospedador para determinar si algún fragmento es capaz de inducir una respuesta inmunitaria (Johnston and Barry; Genetic to Genomic Vaccination; 15 (8) Vaccine, 808 - 809 (1997)). Preferiblemente, la respuesta inmunitaria es protectora. La invención se fundamenta en la hipótesis de que las respuestas inmunitarias del hospedador frente a las proteínas generadas por el ORF1 son esencialmente para la protección frente a la exposición al PRRSV. Es relativamente fácil poner las regiones que codifican para los ORF del PRRSV 2 - 7 en un vector de vacuna de ADN, dado que estos ORF tienen entre 317 - 720 nucleótidos de longitud. Como se ha mencionado anteriormente, el tamaño de la región del ORF1 del PRRSV es de aproximadamente 12.000 nucleótidos de longitud. La colocación de una región de este tamaño en un vector de vacuna de ADN no sería susceptible de una transfección y posterior expresión en una célula eucariota. Consecuentemente, era esencial romper la región del ORF1 en secciones más pequeñas para asegurar mejor una expresión adecuada de todas las áreas del ORF 1. La inmunización por bibliotecas de expresión (ELI) se ha empleado como una herramienta para determinar los inmunógenos protectores de varios patógenos. La ELI emplea el corte del genoma de un patógeno en particular en fragmentos pequeños. Estos fragmentos pequeños son clonados a continuación en un vector de vacuna de ADN y después administrados al hospedador para determinar si algún fragmento es capaz de inducir una respuesta inmunitaria protectora. En el presente documento, la técnica de ELI se ha modificado para el desarrollo de una vacuna de ADN del PRRSV que está formada secuencialmente por la región codificante del ORF 1 del genoma del PRRSV. Este método se ha denominado SELI (inmunización secuencial con bibliotecas de expresión). Esto contrasta con Barfoed et al., (DNA Vaccination of Pigs with Open Reading Frame 1 - 7 of PRRS Virus; 22 Vaccine, 3628 - 3641 (2004)) que usaba la totalidad de la región ORF1 como una vacuna de ADN.

30 Las vacunas de la presente invención comprenden porciones del ORF1 del PRRSV solas, seleccionándose dichas porciones del grupo que consiste en los ID. SEC. N° 2 - 6, 9 y combinaciones de los mismos, junto con otras porciones del ORF1 del PRRSV, y junto con otras composiciones eficaces para generar una respuesta inmunitaria frente a una infección por el PRRSV, incluyendo otras vacunas del PRRSV. Las porciones del ORF1 útiles para los fines de la presente invención tienen un tamaño suficiente para provocar una respuesta inmunitaria en un animal que
35 recibe la vacuna.

La(s) porción(es) seleccionada(s) puede(n) ser clonada(s) en un vector de expresión adecuado. Algunos ejemplos de vectores adecuados incluyen vectores de adenovirus, vectores de Shigella, pVC1650 (Valentis, Inc., Burlingame, California), WRG720 (W. R. Grace, Nueva York, Nueva York) y pADnc3 (Invitrogen, Carlsbad, California). Algunos
40 vectores preferidos contienen el promotor inmediato temprano de citomegalovirus, el intrón A y una porción de poli-a adenilación (por ejemplo, hormona de crecimiento bovina (BGH) u hormona de crecimiento humana (HGH)). Adicionalmente, las proteínas codificadas del PRRSV podrían ser expresadas en un cultivo de células de insecto mediante el uso de, por ejemplo, el sistema de expresión de baculovirus. Después, dichas proteínas podrían combinarse con un coadyuvante y administrarse. Por supuesto, los expertos en la materia serían capaces de seleccionar los sistemas de expresión y los vectores adecuados que pueden dirigir la expresión de varios ORF del PRRSV en células eucariotas. Preferiblemente, después de la clonación de las respectivas porciones del ORF1 en un vector de expresión adecuado, se verifica la orientación del clon.

En un ejemplo de la presente invención, se seleccionó el virus VR-2332 del PRRSV para su uso de acuerdo con la presente invención. Se usó el Genbank U87392 para generar 13 clones solapantes del ORF1. Este ORF1 incluye 12.071 pares de bases de nucleótidos. Las porciones tenían un tamaño que variaba entre 773 pb y 975 pb. Los clones se denominaron con las letras A - M siendo el clon A (ID. SEC. N° 2) de 939 pb, siendo el clon B (ID. SEC. N° 3) de 957 pb, siendo el clon C (ID. SEC. N° 4) de 976, siendo el clon D (ID. SEC. N° 5) de 954 pb, siendo el clon E (ID. SEC. N° 6) de 939 pb, siendo el clon F (ID. SEC. N° 7) de 957 pb, siendo el clon G (ID. SEC. N° 8) de 957 pb,
55 siendo el clon H (ID. SEC. N° 9) de 852 pb, siendo el clon I (ID. SEC. N° 10) de 917 pb, siendo el clon J (ID. SEC. N° 11) de 972 pb, siendo el clon K (ID. SEC. N° 12) de 966 pb, siendo el clon L (ID. SEC. N° 13) de 783 pb y siendo el clon M (ID. SEC. N° 14) de 774 pb. Los clones A - H son de la región 1a y los clones I - M son de la región 1b del ORF1. El clon A utiliza el auténtico codón de inicio ATG del ORF1A. El resto de los clones del ORF1 tenían un codón de inicio ATG en marco añadido a sus cinco extremos principales. Cada uno de estos clones fue clonado respectivamente en el vector de expresión de ADN pVC1650. Este vector contiene el promotor inmediato temprano de citomegalovirus y el intrón A, y dirigen la expresión de los varios ORF del PRRSV en células eucariotas. La Tabla 1 proporciona información relativa a cada clon y de qué región de la secuencia de nucleótidos deriva cada clon.
60

Tabla 1

Clones mediante inmunización secuencial con bibliotecas de expresión (SELI) del ORF1 del BIV del PRRSVa/1b						
ID. SEC.	SELI del clon del ORF1	Tamaño (pares de bases)	Región del clon	Nucleótidos que abarca el clon (usando Genbank U87392 como referencia)	Estado Clonado en el vector de expresión pVC1650 y orientación verificada	Reacción de IFA después de la transfección mediante el uso de suero de convaleciente porcino anti-PRRSV
2	A	939	ORF1a	190 - 1128	✓	⊕
3	B	957	ORF1a	1126 - 2082	✓	⊕
4	C	976	ORF1a	2082 - 3057	✓	⊕
5	D	954	ORF1a	3037 - 3990	✓	⊕
6	E	939	ORF1a	3985 - 4923	✓	⊕
7	F	957	ORF1a	4924 - 5880	✓	-
8	G	957	ORF1a	5863 - 6819	✓	-
9	H*	852	ORF1a	6808 - 7659	✓	⊕
10	I*	917	ORF1b	7735 - 8651	✓	-
11	J	972	ORF1b	8634 - 9605	✓	débil ⊕
12	K	966	ORF1b	9588 - 10553	✓	-
13	L	783	ORF1b	10536 - 11318	✓	-
14	M	774	ORF1b	11298 - 12071	✓	-

* Nota: los clones originales H e I flanquean la región de cambio de marco del ORF1a/1b menos 1 y se diseñaron nuevos cebadores para dar unos productos ligeramente más pequeños en la RT-PCR.

Cada porción se utilizó después en varias combinaciones, así como solas, en preparaciones de vacuna que comprenden otros ORF del PRRSV.

5 En otro ejemplo se clonaron los clones A - M y los clones del ORF 2 - 6 en el vector de expresión pVC1650 y se clonó un clon para el ORF7 en el vector de expresión WRG720. Por supuesto, los expertos en la materia serán capaces de seleccionar los vectores adecuados. Adicionalmente, las secuencias de ácidos nucleicos de la presente invención pueden ser producidas mediante técnicas convencionales, que incluyen, sin limitación, clonación molecular común, mutagénesis y técnicas de síntesis química de ácidos nucleicos.

10 En un aspecto de la presente divulgación, cada uno de los clones A - M se usó individualmente como un componente de vacuna. Los animales se inmunizaron con la vacuna mediante su administración a través de cualquier medio convencional. Algunos ejemplos de métodos de administración incluyen oral, transdérmica, intravenosa, subcutánea, intramuscular, intraocular, intraperitoneal, intrarrectal, intravaginal, intranasal, intragástrica, intratraqueal, intrapulmonar o cualquier combinación de las mismas. Los modos de administración preferidos son intramuscular, subcutáneo e intranasal. Si se desea o si fuera necesario, pueden administrarse inmunizaciones de refuerzo una o varias veces en diversos intervalos. Después de la administración de dicha vacuna se desencadena una respuesta inmunitaria en el animal y se reducen los signos clínicos de la infección por el PRRSV en incidencia y/o en gravedad después de la exposición a una forma virulenta del PRRSV.

15 En otro aspecto de la presente divulgación, se administran combinaciones de los clones A - M a los animales como se ha descrito anteriormente. Dichas combinaciones incluyen dos o más de los clones mencionados anteriormente. Debido a que algunos de estos clones (A, B, C, D, E, H y J) desencadenan una reacción de IFA después de la transfección mediante el uso de suero de convalecientes porcinos anti-PRRSV, se prefieren las combinaciones de estos clones para los fines de la presente invención.

20 En otro aspecto de la presente divulgación, se usan los clones A - M, tanto individualmente como en combinaciones, como se ha descrito anteriormente, en combinaciones con otro(s) ORF del PRRSV en preparaciones de vacuna. Algunos ORF adecuados incluyen los ORF 2 - 7.

25 En otro aspecto de la presente invención, se combina el ADN del ORF del PRRSV con otra vacuna del PRRSV, según se define en las reivindicaciones. Preferiblemente la vacuna es eficaz en la inducción de una respuesta inmunitaria antes de la adición del ADN del ORF1 del PRRSV.

30 En otro aspecto más de la presente invención, se proporciona un vector. Los vectores de acuerdo con la presente invención tienen insertado ADN foráneo (no derivado del vector) que comprende al menos una porción del ADN del

ORF1 del PRRSV, según se define en las reivindicaciones. En las formas preferidas, el vector es un plásmido. Esta segunda porción se selecciona del grupo que consiste en al menos 21 nucleótidos contiguos de un ORF del PRRSV distinto al ORF1, al menos 21 nucleótidos contiguos del ORF1, y combinaciones de los mismos. En las formas de realización que tienen 21 nucleótidos contiguos del ORF1 adicionales, estos 21 nucleótidos son distintos de los al menos 21 nucleótidos contenidos en la primera porción del ADN del ORF1 del PRRSV.

Otro aspecto de la presente invención engloba células hospedadoras que contienen los plásmidos de la invención. Esto incluiría los plásmidos creados mediante la introducción de los diversos fragmentos del ORF1 según se define en las reivindicaciones. En las formas preferidas, el plásmido en la célula comprenderá una segunda porción del ADN del PRRSV seleccionada del grupo que consiste en al menos 21 nucleótidos contiguos de un ORF del PRRSV distinto al ORF1, al menos 21 nucleótidos contiguos del ORF1, y combinaciones de los mismos.

En otro aspecto de la presente invención, las composiciones de la presente invención son útiles en métodos para la inducción de respuestas inmunitarias en animales, así como para la prevención completa o una reducción en la gravedad de las afecciones y los síntomas provocados por una infección por el PRRSV.

Las composiciones de la presente invención pueden incluir coadyuvantes, transportadores, y/o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Según se usa en el presente documento, se aplicarán las siguientes definiciones: "identidad de secuencia", como se sabe en la materia, se refiere a una relación entre dos o más secuencias de polipéptidos o dos o más secuencias de polinucleótidos, a saber, una secuencia de referencia y una secuencia dada que va a ser comparada con la secuencia de referencia. La identidad de secuencia se determina mediante la comparación de la secuencia dada con la secuencia de referencia después de que las secuencias se han alineado óptimamente para producir el mayor grado de similitud de secuencia, determinado por la coincidencia entre las hebras de dichas secuencias. Después de dicha alineación, la identidad de secuencia se averigua sobre una base de posición por posición, por ejemplo, las secuencias son "idénticas" en una posición en particular si en esa posición los nucleótidos o los residuos de aminoácidos son idénticos. El número total de dichas identidades de posición se divide entonces por el número total de nucleótidos o de residuos de la secuencia de referencia para dar el % de identidad de secuencia. La identidad de secuencia puede calcularse fácilmente mediante métodos conocidos, que incluyen, pero no se limitan a, los descritos en *Computational Molecular Biology*, Lesk, A. N., ed., Oxford University Press, Nueva York (1988), *Biocomputing: Informatics and Genome Projects*, Smith, D. W., ed., Academic Press, Nueva York (1993); en *Computer Analysis of Sequence Data*, Parte I, Griffin, A. M. y Griffin, H. G., eds., Humana Press, Nueva Jersey (1994); en *Sequence Analysis in Molecular Biology*, von Heinge, G., Academic Press (1987); en *Sequence Analysis Primer*, Gribskov, M. y Devereux, J., eds., M. Stockton Press, Nueva York (1991); y en Carillo, H. y Lipman, D., *SIAM J. Applied Math.*, 48: 1073 (1988). Los métodos preferidos para determinar la identidad de secuencia están diseñados para proporcionar la mayor coincidencia entre las secuencias ensayadas. Los métodos para determinar la identidad de secuencia están codificados en programas informáticos disponibles públicamente que determinan la identidad de secuencia entre las secuencias dadas. Algunos ejemplos de dichos programas incluyen, pero no se limitan a, el paquete informático GCG (Devereux, J., et al., *Nucleic Acids Research*, 12 (1): 387 (1984)), BLASTP, BLASTN y FASTA (Altschul, S. F. et al., *J. Molec. Biol.*, 215: 403 - 410 (1990)). El programa BLASTX está disponible públicamente en el NCBI y en otras fuentes (BLAST Manual, Altschul, S. et al., NCVI NLM NEH Bethesda, MD 20894, Altschul, S. F. et al., *J. Molec. Biol.*, 215: 403 - 410 (1990)). Estos programas alinean de forma óptima las secuencias mediante el uso de los pesos por hueco por defecto con objeto de producir el mayor nivel de identidad de secuencia entre la secuencia dada y la de referencia. Como ilustración, por un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos con al menos, por ejemplo, una "identidad de secuencia" del 95 % con una secuencia de nucleótidos de referencia, se entiende que la secuencia de nucleótidos del polinucleótido dado es idéntica a la secuencia de referencia excepto porque la secuencia de polinucleótidos dada puede incluir hasta 5 mutaciones puntuales por cada 100 nucleótidos de la secuencia de nucleótidos de referencia. En otras palabras, en un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos con una identidad de al menos el 95 % con respecto a la secuencia de nucleótidos de referencia, hasta un 5 % de los nucleótidos de la secuencia de referencia pueden estar delecionados o sustituidos por otros nucleótidos, o varios de los nucleótidos hasta un 5 % de los nucleótidos totales de la secuencia de referencia pueden estar insertados en la secuencia de referencia. Estas mutaciones en la secuencia de referencia pueden producirse en las posiciones terminales 5' o 3' de la secuencia de nucleótidos de referencia o en cualquier parte entre esas posiciones terminales, intercaladas bien individualmente entre los nucleótidos de la secuencia de referencia o bien en uno o más grupos contiguos dentro de la secuencia de referencia. De forma análoga, por un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos dada con al menos, por ejemplo, una identidad de secuencia del 95 % con una secuencia de aminoácidos de referencia, se entiende que la secuencia de aminoácidos dada del polipéptido es idéntica a la secuencia de referencia excepto porque la secuencia del polipéptido dado puede incluir hasta 5 alteraciones de aminoácidos por cada 100 aminoácidos de la secuencia de aminoácidos de referencia. En otras palabras, para obtener una secuencia de un polipéptido dado con una identidad de secuencia de al menos el a 95 % con una secuencia de aminoácidos de referencia, hasta un 5 % de los residuos de aminoácidos de la secuencia de referencia pueden estar delecionados o sustituidos por otros aminoácidos, o varios de los aminoácidos hasta un 5 % el número total de residuos de aminoácidos de la secuencia de referencia pueden estar insertados en la secuencia de referencia. Estas alteraciones en la secuencia de referencia pueden producirse en las posiciones terminales amino o carboxi de la secuencia de aminoácidos de

referencia, o en cualquier parte entre esas posiciones terminales, intercaladas bien individualmente entre los residuos de la secuencia de referencia o bien en uno o más grupos continuos dentro de la secuencia de referencia. Preferiblemente, las posiciones de los residuos que no son idénticas difieren por unas sustituciones de aminoácidos conservativas. Sin embargo, las sustituciones conservativas no son incluidas como coincidencia cuando se determina la identidad de secuencia.

De forma análoga, "homología de secuencia", según se usa en el presente documento, también se refiere a un método para la determinación del parentesco entre dos secuencias. Para determinar la homología de secuencia se alinean de forma óptima dos o más secuencias como se ha descrito anteriormente, y se introducen huecos si fuera necesario. Sin embargo, al contrario que en la "identidad de secuencia", las sustituciones de aminoácidos conservativas cuentan como coincidencia cuando se determina la homología de secuencia. En otras palabras, para obtener un polipéptido o un polinucleótido con una homología de secuencia del 95 % con una secuencia de referencia, el 95 % de los residuos de aminoácidos o de los nucleótidos de la secuencia de referencia deben coincidir o comprender una sustitución conservativa con otro aminoácido o nucleótido, o pueden insertarse en la secuencia de referencia varios aminoácidos o nucleótidos hasta el 5 % del total de residuos de aminoácidos o de nucleótidos, sin incluir sustituciones conservativas, de la secuencia de referencia.

Una "sustitución conservativa" se refiere a la sustitución de un residuo de aminoácido o de un nucleótido por otro residuo de aminoácido o nucleótido que tiene unas características o propiedades similares incluyendo tamaño, hidrofobicidad, etc., de forma que la funcionalidad global no se modifique significativamente.

"Aislado" significa alterado "por la mano del hombre" a partir de su estado natural, es decir, si aparece en la naturaleza, ha sido modificado o extraído de su entorno original, o ambos. Por ejemplo, un polinucleótido o un polipéptido presente de forma natural en un organismo vivo no está "aislado", pero el mismo polinucleótido o polipéptido separado de los materiales con los que coexiste su estado natural está "aislado", según se emplea el término en el presente documento.

"Ácido nucleico" se refiere a polinucleótidos tales como ácido desoxirribonucleico (ADN), y, cuando sea apropiado, ácido ribonucleico (ARN). También debería entenderse que el término incluye, como equivalentes, análogos de cualquiera del ARN o del ADN elaborados a partir de análogos de nucleótidos, y, según sea aplicable a la forma de realización que se está describiendo, polinucleótidos individuales (sentido o antisentido) y bicatenarios.

"Promotor" significa una secuencia de ADN que regula la expresión de una secuencia seleccionada de ADN unida operativamente al promotor, y que efectúa la expresión de la secuencia de ADN seleccionada en células. El término engloba promotores "específicos tisulares", es decir, promotores que efectúan la expresión de la secuencia de ADN seleccionada únicamente en células específicas (por ejemplo, en células de un tejido específico). El término también cubre los denominados promotores "débiles", que regulan la expresión de un ADN seleccionado principalmente en un tejido, pero también provoca la expresión en otros tejidos. El término también incluye promotores no específicos de tejidos y promotores que son expresados constitutivamente o que son inducibles (es decir, los niveles de expresión pueden ser controlados).

"Transfección" significa la introducción de un ácido nucleico, por ejemplo, a través de un vector de expresión, en una célula receptora mediante una transferencia génica mediada por un ácido nucleico. "Transformación", según se usa en el presente documento, se refiere a un proceso en el que se modifica el genotipo de una célula como resultado de la captación celular de un ADN o de un ARN exógeno, y, por ejemplo, la célula transformada expresa una forma recombinante de un polipéptido, o en el caso de la expresión antisentido a partir del gen transferido, se disrumpe la expresión de la forma natural de la proteína. La transfección también puede usar un reactivo químico (es decir, un lípido).

El término "vector" se refiere a una molécula de ácido nucleico capaz de transportar otro ácido nucleico al que ha sido unido. Un tipo de vector preferido es un episoma, es decir, un ácido nucleico capaz de una replicación extracromosómica. Los vectores preferidos son aquellos capaces de una replicación y de una expresión autónoma de los ácidos nucleicos a los que están unidos. Los vectores capaces de dirigir la expresión de los genes a los que están unidos operativamente se denominan en el presente documento "vectores de expresión". En general, los vectores de expresión de utilidad en las técnicas de ADN recombinante están a menudo en forma de "plásmidos" que se denominan generalmente bucles de ADN circular bicatenario que, en su forma de vector, no están unidos al cromosoma. En la presente memoria descriptiva, "plásmido" y "vector" se usan de forma intercambiable ya que el plásmido es la forma de vector usada más habitualmente. Algunos vectores incluyen también otros replicones tales como fagos o cósmidos, en los que puede insertarse otro segmento de ADN, de forma que se consiga la replicación del segmento insertado. La invención pretende incluir esas otras formas de vectores de expresión que realizan funciones equivalentes y que se han conocido en la materia subsiguientemente al presente documento.

"Amplificación" de ácidos nucleicos o de polinucleótidos es cualquier método que dé como resultado la formación de una o más copias de una molécula de ácido nucleico o de un polinucleótido (amplificación exponencial) o la formación de una o más copias únicamente del complemento de una molécula de un ácido nucleico o de un polinucleótido (amplificación lineal). Algunos métodos de amplificación incluyen la reacción en cadena de la

polimerasa (PCR) que se basa en ciclos repetitivos de desnaturalización, hibridación con cebadores oligonucleotídicos y extensión del cebador mediante una polimerasa de polinucleótido dependiente del molde termófilo, dando como resultado un aumento exponencial en las copias de la secuencia deseada del analito polinucleótido flanqueadas por los cebadores. Los dos cebadores diferentes de la PCR, que hibridan con hebras opuestas del ADN, están posicionados de forma que el producto de la extensión de un cebador catalizada por la polimerasa puede servir como la hebra de molde para el otro, conduciendo a la acumulación de un fragmento bicatenario individual cuya longitud está definida por la distancia entre los extremos 5' de los cebadores oligonucleotídicos. Los reactivos para la realización de dicha amplificación incluyen cebadores oligonucleotídicos, una polimerasa de nucleótido y trifosfatos de nucleósidos tales como, por ejemplo, trifosfato de desoxiadenosina (dATP), trifosfato de desoxiguanosina (dGTP), trifosfato de desoxicitidina (dCTP) y trifosfato de desoxitimidina (dTTP). Otros métodos para la amplificación incluyen la amplificación de un polinucleótido monocatenario mediante el uso de un único cebador oligonucleotídico, la reacción en cadena de la ligasa (LCR), la amplificación basada en la secuencia de ácidos nucleicos (NASBA), el método de la replicasa Q-beta y 3SR.

Descripción detallada de la forma de realización preferida

El siguiente ejemplo establece una forma de realización preferida de la presente invención. Sin embargo, debe entenderse que este ejemplo se proporciona a modo de ilustración y nada en el mismo debería interpretarse como una limitación del ámbito global de la invención.

EJEMPLO 1

Este ejemplo proporciona datos relativos a la eficacia de las vacunas de ADN que comprenden varias regiones del genoma del PRRSV. El ejemplo comienza con 40 cerdos de ambos sexos negativos para el PRRSV de Spring Prairie Colony, Hawley, MN 56549. Los cerdos tenían 3 - 4 semanas de edad al comienzo del estudio. A lo largo del estudio a los cerdos se les proporcionaron alimentos suficientes en función del tamaño, la edad y el estado de los animales. Se proporcionó agua *ad libitum*.

Para generar las vacunas de ADN del PRRSV, se generaron diecinueve clones de ADNc a partir del virus PRRS. Se generaron trece clones de ADNc que representan secuencialmente la región del marco abierto de lectura (ORF) 1a/1b del genoma del pRRSV. El clon A utiliza el auténtico codón de inicio de ATG del ORF1a. El resto de los clones del ORF1a/1b desde B hasta M tenían el codón de inicio ATG añadido en sus respectivos extremos 5'. Todos los clones anteriores se clonaron respectivamente en el vector de expresión de ADN pVC1650. El vector pVC1650 contiene el promotor inmediato temprano del citomegalovirus y el intrón A para dirigir la expresión de los diversos ORF del PRRSV en células eucariotas. Los seis clones adicionales de ADNc representaban los ORF 2, 3, 4, 5, 6 y 7 de la proteína estructural del PRRSV. Los clones de los ORF 2, 3, 4, 5 y 6 también se clonaron respectivamente en el vector de expresión de ADN pVC1650 descrito anteriormente. El gen del ORF 7 se clonó en un vector de expresión similar denominado WRG7020. El vector WRG7020 también contiene el promotor inmediato temprano de citomegalovirus y el intrón A para dirigir la expresión del ORF del PRRSV 7 en células eucariotas.

Se crearon dos conjuntos de vacunas, denominados "A1 - 19" y "T1 - 19". Para las vacunas A1 - 19, los clones mencionados anteriormente se clonaron en el plásmido de expresión de Valentis, Inc. pVC1650. Cada constructo de plásmido se formuló por separado con fosfato de aluminio (Adju-Phos®) (Ulmer et al., Enhancement of ADN Vaccine Potency Using Conventional Aluminum Adjuvants; 18 Vaccine, 18 - 28 (1999) para producir 250 µg del respectivo clon del ORF con 1.000 µg de aluminio calculados en una dosis de 1 ml. La vacuna final consistió en una dosis individual de 1 ml 1 M de cada clon del ORF formulado. Para las vacunas T1 - 19, los clones mencionados anteriormente se clonaron en el plásmido de expresión de Valentis, Inc. pVC1650. Cada constructo de plásmido se formuló por separado con el polímero TGV200 PINC para producir 250 µg del respectivo clon del ORF en una dosis de 1 ml. La vacuna final consistió en una dosis individual de 1 ml 1 M de cada clon del ORF formulado.

Para generar un control se crearon vacunas de ADN que consisten en clones del ADNc del PCV2 del ORF y el gen HA del SIV. Ambos ORF se clonaron por separado en el plásmido de expresión de Valentis, Inc. pVC1650. Tanto el constructo de plásmido del ORF2 del PCV2 como el del gen HA del SIV se formularon por separado con fosfato de aluminio (Adju-Phos®) para producir 250 µg del respectivo clon del ORF con 1.000 µg de aluminio calculados en una dosis de 1 ml (denominados A20 y A21). Adicionalmente, tanto el constructo de plásmido del ORF2 del PCV2 como el del gen HA del SIV se formularon por separado con el polímero TGV200 PINC para producir 250 µg de cada clon respectivo en una dosis de 1 ml (denominados T20 y T21). La vacuna final consistió en cuatro dosis individuales de 1 ml 1 M de cada clon formulado. La Tabla 2 muestra todas las vacunas creadas, incluyendo las vacunas de control.

Tabla 2

Plásmido	Región del clon	Nucleótidos del clon (usando el Genbank U87392 como referencia)
1	ORF1a	190 - 1128
2	ORF1a	1126 - 2082
3	ORF1a	2082 - 3057

ES 2 546 933 T3

Plásmido	Región del clon	Nucleótidos del clon (usando el Genbank U87392 como referencia)
4	ORF1a	3037 - 3990
5	ORF 1a	3985 - 4923
6	ORF 1a	4924 - 5880
7	ORF 1a	5863 - 6819
8	ORF 1a	6808 - 7659
9	ORF 1b	7735 - 8651
10	ORF 1b	8634 - 9605
11	ORF 1b	9588 - 10553
12	ORF 1b	10536 - 11318
13	ORF 1b	11298 - 12071
14	ORF2	NA
15	ORF3	NA
16	ORF4	NA
17	ORF5	NA
18	ORF6	NA
19	ORF7	NA
20	ORF2	NA
21	HA del SIV	NA

5 Los cuarenta cerdos se dividieron en cuatro grupos: al grupo 1 se les administraron dosis de 19 x 1 ml de A1 - A19 Adju-Phos los días 0, 21 y 42. Al grupo 2 se les administraron dosis de 19 x 1 ml de T1 - T19 TGV200 los días 0, 21 y 42. Al grupo 3 se les administraron las respectivas dosis de 4 x 1 ml de A20, A21, T20 y T21 los días 0,21 y 42. Al grupo 4, el control negativo, no se le administró ningún tratamiento.

10 El día 56 del estudio, a todos los cerdos de los grupos 1, 2 y 3 se les administró la cepa virulenta SDSU#73 del PRRSV. La cepa virulenta SDSU#73 del PRRSV se diluyó a 1:10 en EMEM con un 4 % de suero bovino fetal antes de su administración a los cerdos. Se administraron intranasalmente a los cerdos apropiados un total de 2 ml del virus de exposición diluido, administrándose en cada fosa nasal 1 ml del virus diluido. El título vírico antes y después de la exposición al virus PRRSV era de $10^{4.59}$ TCID₅₀/ml y de $10^{4.65}$ TCID₅₀/ml, respectivamente.

15 Se extrajeron muestras sanguíneas de los cerdos los días 0, 21, 42 y 56 del ensayo para controlar la seroconversión a la vacunación. También se extrajeron muestras sanguíneas de los cerdos los días 57, 59, 61, 63, 66 y 70 del ensayo para controlar la seroconversión y la viremia después de la exposición. Se registraron diariamente las observaciones clínicas a partir del día 54 - 70. El día 70 se le realizó una necropsia a los cerdos y se registraron unas lesiones pulmonares macroscópicas como un porcentaje de afectación del pulmón debido al como PRRSV. Los cerdos se pesaron antes del inicio del estudio y en los días 56 y los días 70. En la Tabla 3A puede observarse un resumen del protocolo de este ejemplo.

Tabla 3

Grupo	Cerdos / grupo	Primera vacunación (Día = 0)	Segunda vacunación (Día = 21)	Tercera vacunación (Día = 42)	Exposición (Día = 56)	Recolección de muestras y finalización del estudio (Día = 70)
1	10	A1 - A19 Adju-Phos	A1 - A19 Adju-Phos	A1 - A19 Adju-Phos	2 ml de la SDSU#73 virulenta del PRRSV administrados intranasalmente	Se evalúa la salud clínica, la temperatura rectal. Se evalúan las lesiones pulmonares de los animales en la necropsia y se recoge el tejido pulmonar designado
2	10	T1 - T19	T1 - T19	T1 - T19	Igual que anteriormente	Igual que anteriormente
3	10	A20 - A21	A20 - A21	A20 - A21	Igual que anteriormente	Igual que anteriormente
		T20 - T21	T20 - T21	T20 - T21		
4	10	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Igual que anteriormente

Con objeto de evaluar los resultados del ejemplo, el principal criterio usado para la determinación de la eficacia de los tratamientos del ensayo fue el desarrollo de lesiones pulmonares características del PRRSV. Se evaluaron la respuesta serológica, la ADG tras la exposición y las temperaturas rectales como criterios de apoyo. Los resultados del ejemplo se resumen en la Tabla 4.

5

Tabla 4

Grupo	Puntuaciones pulmonares medias por grupo	Porcentaje de cerdos de cada grupo con unas puntuaciones de consolidación de ≥ 20 %	Mayor temperatura promedio por grupo tras la exposición ($^{\circ}$ F)	Mayor porcentaje de picos de viremia tras la exposición	ADG promedio por grupo tras la exposición
1 (A1-A19 Adju-Phos)	19,84	37,5	105,9	100 %	0,16
2 (T1-T19 TGV200)	28,42	70,0	106,0	100 %	0,43
3 (Exp., Ctrl)	37,68	70,0	106,1	100 %	0,68
(Neg., control)	0,0 A	0,0	103,9	0 %	1,48

No se produjo seroconversión al PRRSV según se determinó mediante el ELISA de IDEXX para el PRRS en ninguno de los cerdos que recibieron tres dosis de los correspondientes prototipos de vacuna de ADN A1 - A19 Adju-Phos o T1 - T19 TGV200. Después de la exposición al PRRSV virulento, parecía haber un aumento más rápido en las proporciones S/P del ELISA en los cerdos del grupo 2 que en los del grupo 1. Los cerdos del grupo 3 (no vacunados / controles expuestos) tenían unas proporciones S/P negativas hasta que se expusieron al PRRSV virulento. Los cerdos de control negativo estricto del grupo 4 tuvieron unas proporciones S/P negativas a lo largo del estudio. Los resultados serológicos se recogen en la Tabla 5.

10

15

Tabla 5

Grupo	Cerdo	Día 0	Día 21	Día 42	Día 56	Día 59	Día 61	Día 63	Día 66	Día 70	Día 70
		ELISA	ELISA	ELISA	ELISA	ELISA	ELISA	ELISA	ELISA	ELISA	ELISA
			VI	VI	VI						
			(3 dpc)	(0 dpc)	(0 dpc)	(3 dpc)	(5 dpc)	(7 dpc)	(10 dpc)	(14 dpc)	(14 dpc)
1	802	0,14	-0,09	0,01	0,22	0,21	0,97	2,29	2,66	2,69	N
1	808	0,00	-0,01	-0,01	0,02	0,02	0,08	0,66	1,01	1,22	N
1	812	-0,02	0,01	-0,02	0,00	0,02	0,10	0,60	0,92	1,21	N
1	814	-0,03	0,01	-0,03	0,02	0,02	0,13	0,54	1,15	1,80	N
1	818	0,01	-0,01	0,36	0,23	0,18	0,83	2,74	2,97	3,24	N
1	826	0,00	0,00	-0,02	0,01	0,01	0,10	0,37	0,45	ND	ND
1	830	-0,01	0,00	0,04	0,02	-0,01	0,06	0,39	0,97	1,68	N
1	832	-0,02	0,00	-0,02	0,03	0,04	0,18	0,93	1,39	1,71	N
1	839	0,01	-0,05	0,01	0,08	0,06	0,13	0,36	0,72	1,13	POS
1	842	0,02	-0,01	-0,01	0,17	0,19	0,92	2,30	2,48	ND	ND
	Media	0,01	-0,02	0,03	0,08	0,07	0,35	1,12	1,47	1,84	
2	806	0,01	0,05	0,11	0,31	0,26	0,58	2,51	3,22	3,34	N
2	813	-0,02	0,00	-0,03	0,05	0,07	0,22	0,83	1,47	1,73	N
2	821	0,00	0,05	0,04	0,07	0,10	0,15	1,12	2,28	2,52	N
2	822	-0,01	0,00	-0,01	0,03	0,05	0,41	1,78	2,37	2,01	POS
2	836	-0,02	0,05	0,12	0,22	0,23	0,79	2,93	3,52	3,62	N
2	844	0,00	-0,02	0,00	0,05	0,03	0,31	1,72	2,33	2,17	N
2	845	0,04	0,01	0,06	0,32	0,19	1,00	2,80	3,44	3,26	N
2	846	-0,01	-0,02	-0,03	0,09	0,09	0,75	2,57	3,17	3,06	N
2	847	-0,01	0,01	0,02	0,04	0,02	0,43	2,05	2,94	2,96	N
2	849	0,03	-0,02	-0,01	0,11	0,08	0,45	1,97	2,48	2,56	N
	Media	0,00	0,01	0,03	0,13	0,11	0,51	2,03	2,72	2,72	
3	811	-0,03	-0,02	0,02	0,00	0,01	0,05	0,55	1,44	1,77	N
3	815	0,00	-0,01	0,06	0,06	0,03	0,07	0,57	1,32	1,33	N
3	819	-0,01	0,00	0,04	0,01	0,02	0,08	0,25	0,87	1,13	N
3	823	0,00	-0,01	0,03	0,02	0,01	0,04	0,44	1,13	1,61	N
3	831	0,00	-0,02	0,00	0,01	0,01	0,07	0,78	1,48	1,75	POS
3	833	-0,02	-0,02	0,00	0,01	0,01	0,03	0,15	0,43	0,90	N
3	840	0,00	-0,02	0,01	0,05	0,12	0,18	0,41	1,30	2,15	POS
3	841	-0,02	-0,01	-0,02	0,06	0,06	0,14	0,71	1,33	1,50	N

Grupo	Cerdo	Día 0	Día 21	Día 42	Día 56	(0 dpc)	Día 59	(3 dpc)	Día 61	(5 dpc)	Día 63	(7 dpc)	Día 66	(10dpc)	Día 70	(14 dpc)
		ELISA	ELISA	ELISA	ELISA	VI										
3	843	0,00	-0,02	-0,01	0,02	N	0,02	N	0,11	POS	0,41	POS	0,84	N	0,80	N
3	848	0,03	-0,02	0,00	0,05	N	0,05	POS	0,10	POS	0,30	POS	0,74	N	1,35	N
	Media	0,00	-0,02	0,01	0,03		0,03		0,09		0,46		1,09		1,43	
4	803	-0,03	0,00	0,04	0,04	N	0,04	N	0,04	N	0,02	N	0,01	N	-0,02	N
4	804	0,01	-0,03	0,02	0,12	N	0,11	N	0,12	N	0,08	N	0,13	N	0,10	N
4	805	0,03	-0,01	-0,03	0,00	N	-0,01	N	0,00	N	0,01	N	-0,01	N	-0,03	N
4	810	0,01	-0,06	-0,03	0,08	N	0,08	N	0,06	N	0,02	N	0,02	N	0,02	N
4	817	0,03	-0,02	-0,15	-0,02	N	-0,01	N	-0,01	N	-0,04	N	-0,04	N	-0,10	N
4	828	-0,02	-0,03	0,04	0,00	N	-0,01	N	0,01	N	-0,02	N	0,00	N	-0,01	N
4	834	-0,01	-0,02	0,03	0,00	N	0,00	N	0,00	N	-0,17	N	-0,02	N	-0,01	N
4	837	0,00	-0,03	0,01	0,03	N	0,03	N	0,05	N	0,02	N	0,03	N	-0,02	N
4	838	0,00	-0,01	0,00	0,08	N	0,11	N	0,11	N	0,09	N	0,07	N	0,01	N
4	850	0,04	-0,01	0,03	0,09	N	0,06	N	0,07	N	0,08	N	0,07	N	0,06	N
	Media	0,01	-0,02	0,00	0,04		0,04		0,05		0,01		0,03		0,00	

* dpc = días tras la exposición

ES 2 546 933 T3

Las temperaturas de los cerdos se controlaron desde los dos días anteriores a la exposición a lo largo de catorce días después de la exposición. La temperatura promedio en el momento inicial del grupo a lo largo del periodo de exposición para el grupo 4 de controles vacunados / no expuestos fue de 103,4 °F.

5 Las temperaturas promedio por grupo entre todos los grupos expuestos al PRRSV fueron elevadas en el mismo punto después de la exposición, sin embargo había una diferencia temporal en los días después de la exposición en los que aparecía el pico de temperatura promedio del grupo. Los picos de temperatura promedio por grupo en todos los grupos expuestos al PRRSV variaban entre 105,9 y 106,1 °F, mientras que el pico de temperatura promedio de los grupos de control negativo era de 103,9. El grupo 3 mostró un aumento gradual en la temperatura tras la
 10 exposición, con un pico de 106,1 °F nueve días después de la exposición. Los grupos 1 y 2 mostraron un abrupto aumento en las temperaturas a los dos días de la exposición, con unos picos de temperatura de 105,9 °F y de 105,6 °F, respectivamente. Es de destacar que la forma en la que las temperaturas posteriores a la exposición de los cerdos vacunados con el ADN del grupo 1 y 2 aumentaron rápidamente, es similar a la forma en la que los animales vacunados con el PRRS KV responden después de la exposición. Se ha observado que los cerdos vacunados con prototipos experimentales del PRRS KV tienen habitualmente una "sensibilización humoral" (es decir, son seropositivos para el PRRSV después de la vacunación). Los animales vacunados con estos prototipos experimentales del PRRS KV también muestran un rápido aumento en la temperatura poco después de la
 15 exposición, según se observó en este estudio en los cerdos vacunados con el ADN de los grupos 1 y 2. Esta similitud en la rápida elevación de la temperatura después de la exposición al PRRSV es una indicación adicional de que los sistemas inmunitarios de los cerdos vacunados con el ADN estaban de hecho sensibilizados frente al antígeno PRRSV.
 20

Los cerdos del grupo 3 mostraron las lesiones pulmonares que se encuentran de forma característica en una exposición con éxito al PRRSV. Los cerdos del grupo 4 no presentaban lesiones pulmonares en la necropsia. Los
 25 cerdos del grupo 1 y 2 tenían unas lesiones pulmonares promedio por grupo de 19,84 y de 28,42, respectivamente. Las puntuaciones pulmonares de los cerdos individuales se recogen en la Tabla 6.

Tabla 6

Grupo	Animal	Puntuaciones pulmonares
1	802	2,00
1	808	0,90
1	812	55,00
1	814	0,20
1	818	1,00
1	826	ND
1	830	70,00
1	832	2,90
1	839	26,75
1	842	ND
	Media	19,84
2	806	23,00
2	813	32,50
2	821	4,00
2	822	28,95
2	836	37,50
2	844	67,00
2	845	16,70
2	846	52,50
2	847	14,00
2	849	8,00
	Media	28,42
3	811	2,75
3	815	33,50

ES 2 546 933 T3

3	819	51,00
3	823	72,00
3	831	75,00
3	833	15,50
3	840	39,00
3	841	37,50
3	843	9,50
3	848	41,00
	Media	37,68
4	803	0,00
4	804	0,00
4	805	0,00
4	810	0,00
4	817	0,00
4	828	0,00
4	834	0,00
4	837	0,00
4	838	0,00
4	850	0,00
	Media	0,00

A partir de estos resultados es evidente que las vacunas de ADN que comprenden varias regiones del genoma del PRRSV pueden inducir protección después de una exposición virulenta en el modelo respiratorio.

5 LISTA DE SECUENCIAS

	<110> Boehringer Ingelheim vetmedica, Inc. VAUGHN, Eric M. STAMMER, Richard
10	<120> Vacunas de subunidades contra el PRRSV
	<130> 35072-PRO
15	<160> 14
	<170> PatentIn versión 3.2
20	<210> 1 <211> 15411 <212> ADN <213> Virus del síndrome reproductor y respiratorio porcino
25	<400> 1

ES 2 546 933 T3

atgacgtata ggtgttggct ctatgccttg gcatttgtat tgtcaggagc tgtgaccatt 60
 ggcacagccc aaaacttgct gcacagaaac acccttctgt gatagcctcc ttcaggggag 120
 cttagggttt gtccctagca ccttgcttcc ggagttgcac tgctttacgg tctctccacc 180
 cctttaacca tgtctgggat acttgatcgg tgcacgtgta cccccaatgc caggggtgtt 240
 atggcggagg gccaaagtcta ctgcacacga tgcctcagtg cacggtctct ccttcccctg 300
 aacctccaag tttctgagct cggggtgcta ggcctattct acaggcccga agagccactc 360
 cgggtggacgt tgccaagtgc attccccact gttgagtgtc cccccgccgg ggctgtctgg 420
 ctttctgcaa tctttccaat cgcacgaatg accagtggaa acctgaactt ccaacaaaga 480
 atggtacggg tcgcagctga gctttacaga gccggccagc tcaccctctg agtcttgaag 540
 gctctacaag tttatgaacg gggttgccgc tggtagccca ttggttgacc tgtccctgga 600
 gtggccgttt tcgccaattc cctacatgtg agtgataaac ctttcccggg agcaactcac 660
 gtggtgacca acctgccgct cccgcagaga cccaagctg aagacttttg cccctttgag 720
 tgtgctatgg ctactgteta tgacattggt catgacgccg tcatgtatgt ggccgaaagg 780
 aaagtctcct gggcccctcg tggcggggat gaagtgaaat ttgaagctgt ccccggggag 840
 ttgaagttga ttgcgaaccg gctccgcacc tccttcccgc cccaccacac agtggacatg 900
 tctaagttcg ccttcacagc ccctgggtgt ggtgtttcta tgcgggtcga acgccaacac 960
 ggctgccttc ccgctgacac tgtccctgaa ggcaactgct ggtggagctt gtttgacttg 1020
 ctccactgg aagttcagaa caagaaatt cgccatgcta accaatttgg ctaccagacc 1080
 aagcatggtg tctctggcaa gtacctacag cggaggctgc aagttaatgg tctccgagca 1140
 gtaactgacc taaacggacc tatcgtcgtc cagtacttct ccgttaagga gagttggatc 1200
 cgccatttga aactggcggg agaaccacgc tactctgggt ttgaggacct cctcagaata 1260
 agggttgagc ctaacacgtc gccattggct gacaaggaag aaaaaattht cgggtttggc 1320

ES 2 546 933 T3

agtcacaagt ggtacggcgc tggaaagaga gcaagaaaag cacgctcttg tgcgactgct 1380
 acagtcgctg gccgcgcttt gtccgttcgt gaaacccggc aggccaagga gcacgaggtt 1440
 gccggcgcca acaaggetga gcacctcaaa cactactccc cgctgcccga agggaattgt 1500
 ggttggcact gcatttccgc catcgccaac cggatggtga attccaaatt tgaaccacc 1560
 cttcccgaaa gagtgagacc tccagatgac tgggctactg acgaggatct tgtgaatgcc 1620
 atccaaatcc tcagactccc tgcggcctta gacaggaacg gtgcttgtag tagcgccaag 1680
 tacgtactta agctggaagg tgagcattgg actgtcactg tgaccctgg gatgtcccct 1740
 tctttgctcc ctcttgaatg tgttcagggc tgttggtggc acaagggcgg tcttggttcc 1800
 ccagatgcag tcgaggcttc cggatttgac cctgcctgcc ttgaccggct ggctgaggtg 1860
 atgcacctgc ctagcagtgc tatcccagcc gctctggccg aaatgtctgg cgattccgat 1920
 cgttcggctt ctccggtcac caccgtgtgg actgttccgc agttctttgc ccgtcacagc 1980
 ggagggaaac accctgacca agtgcgctta gggaaaatta tcagcctttg tcagtgatt 2040
 gaggactgct gctgttccca gaacaaaacc aaccgggtca ccccgaggga ggtcgcagca 2100
 aagattgacc tgtacctccg tgggtcaaca aatcttgaag aatgcttggc caggcttgag 2160
 aaagcgcgcc cgccacgcgt aatcgacacc tcctttgatt gggatgttgt gctccctggg 2220
 gttgaggcgg caaccagac gatcaagctg cccaggtca accagtgtcg tgctctggtc 2280
 cctgttgtag ctcaaaagtc cttggacaac aactcggctc cctgaccgc cttttcactg 2340
 gctaactact actaccgtgc gcaaggtgac gaagttcgtc accgtgaaag actaacgcc 2400
 gtgctctcca agttggaaaa ggttgttcga gaagaatatg ggctcatgcc aaccgagcct 2460
 ggtccacggc ccacactgcc acgcgggctc gacgaactca aagaccagat ggaggaggac 2520
 ttgctgaaac tggctaacgc ccagacgact tcggacatga tggcctgggc agtcgagcag 2580
 gttgacctaa aaacttgggt caagaactac ccgcggtgga caccaccacc cctccgcca 2640
 aaagttcagc ctcgaaaaac gaagcctgtc aagagcttgc cggagagaaa gcctgtcccc 2700
 gccccgcgca ggaaggttgg gtccgattgt ggcagcccgg tttcattagg cggcgatgtc 2760
 cctaacagtt ggaagattt ggctgttagt agcccccttg atctcccagc cccacctgag 2820
 ccggcaacac ctcaagtga gctggtgatt gtgtcctcac cgcaatgcat cttcaggccg 2880
 gcgacaccct tgagtgagcc ggtccaatt cccgcacctc gcggaactgt gtctcgaccg 2940
 gtgacaccct tgagtgagcc gatccctgtg cccgcaccgc ggcgtaagtt tcagcaggtg 3000
 aaaagattga gttcggcggc ggcaatccca ccgtaccagg acgagcccct ggatttgtct 3060
 gcttctcac agactgaata tgaggcctct cccccagcac cgccgcagag cgggggcggt 3120
 ctgggagtag aggggcatga agctgaggaa accctgagtg aaatctcgga catgtcgggt 3180

ES 2 546 933 T3

aacattaaac ctgcgtccgt gtcaccaagc agctccttgt ccagcgtgag aatcacacgc 3240
 ccaaaataact cagctcaagc catcatcgac tcgggcgggc cctgcagtgg gcatctccaa 3300
 gaggtaaagg aaacatgcct tagtgtcatg cgcgaggcat gtgatgagac taagcttgat 3360
 gaccctgcta cgcaggaatg gctttctcgc atgtgggatc ggggtggacat gctgacttgg 3420
 cgcaacacgt ctgtttacca ggcgatttgc accttagatg gcagggtaaa gtctctccca 3480
 aaaatgatac tcgagacacc gccgccctat ccgtgtgagt ttgtgatgat gcctcacacg 3540
 cctgcacctt ccgtaggtgc ggagagcgac cttaccattg gctcagttgc tactgaagat 3600
 gtccacgca tcctcgagaa aatagaaaat gtcggcgaga tggccaacca gggacccttg 3660
 gccttctccg aggataaacc ggtagatgac caacttgtca acgacccccg gatatcgctg 3720
 cggaggcctg acgagagcac atcagctccg tccgcaggca cagggtggcg cggctctttt 3780
 accgatttgc cgccttcaga tggcgcggat gcggacgggg gggggccggt tcggacggta 3840
 aaaagaaaag ctgaaaggct ctttgaccaa ctgagccgtc aggttttga cctcgtctcc 3900
 catctccctg tttctcttc acgcctttc taccctggcg gtggttattc tccgggtgat 3960
 tggggttttg cagcttttac tctattgtc ctctttttat gttacagtta cccagccttt 4020
 ggtattgctc cctccttggg tgtgtttct gggctcttc ggcgcttcg aatgggggtt 4080
 tttggctgct ggttggcttt tgctgttggc ctgttcaagc ctgtgtccga cccagtcggc 4140
 gctgcttggt agtttgactc gccagagtgt agaaacatcc ttcattcttt tgagcttctc 4200
 aaaccttggg accctgttcg cagccttgtt gtgggccccg tcggtctcgg tcttgccatt 4260
 cttggcaggt tactgggctg ggcacgctgc atctggcact ttttgcttag gcttggcatt 4320
 gttgcagact gtatcttggc tggagcttac gtgctttctc aaggtagggtg taaaaagtgc 4380
 tggggatctt gtataagaac tgctcctaat gaggtcgctt ttaacgtgtt tctttcaca 4440
 cgtgcgacca ggtcgtcact tategacctg tgcgatcggg tttgtgcgcc aaaaggaatg 4500
 gacccattt ttctcgccac tgggtggcg gcggctggg ccggccgaag cccattgag 4560
 caaccctctg aaaaaccat cgcgtttgcc caattggatg aaaagaagat tacggctagg 4620
 actgtggtcg cccagcctta tgacccaac caagccgtaa agtgcttgcg ggtattgag 4680
 tcgggtgggg cgatggtggc taaggcggtc caaaagtgg tcaaggtttc cgctgttcca 4740
 ttccgagccc ctttcttcc cactggagtg aaagttgacc ctgattgcag ggtcgtggtt 4800
 gaccctgaca ctttactgc agctctccg tctggtact ccaccacaaa cctcgtcctt 4860
 ggtgtagggg actttgcca gctgaatgga taaaaatca ggcaaatttc caagccttca 4920
 gggggaggcc cacatctcat ggctgccctg catgttgcct gctcgatggc tctgcacatg 4980
 cttgctggga tttatgtgac tgcggtgggt tcttgcggca ccggcaccia cgaccctgg 5040
 tgcgctaacc cgtttgccgt ccctggctac ggacctggt ctctctgcac gtccaggtg 5100

ES 2 546 933 T3

tgcatttccc aacacggcct taccctgccc ttgacagcac ttgtggcggg attcgggtatt 5160
 caagaaattg ccttgggtcgt tttgattttt gtttccatcg gaggcatggc tcataggttg 5220
 agctgtaagg ctgacatgct gtgtgttttg cttgcaattg ccagctatgt ttgggtacct 5280
 cttacctggg tgctttgtgt gtttccttgc tggttgcgct gtttttcttt gcacccccctc 5340
 accatcctat ggttgggtgtt tttcttgatt tctgtgaata tgccttcagg aatcttggcc 5400
 atgggtgttg tggtttctct ttggcttctt ggtcgttata ctaatgttgc tggccttgtc 5460
 accccctacg acattcatca ttacaccagt ggcccccgcg gtgttgccgc cttggctacc 5520
 gcaccagatg ggacctactt ggccgctgtc cgccgcgctg cgttgactgg ccgcaccatg 5580
 ctgtttacce cgtcccagct tgggtctctt cttgagggtg ctttcagaac tcgaaagccc 5640
 tcaactgaaca ccgtcaatgt gatcgggtcc tccatgggct ctggcggggg gtttaccatc 5700
 gacgggaaag tcaagtgcgt aactgccgca catgtcctta cgggcaattc agctcgggtt 5760
 tccggggctg gcttcaatca aatgcttgac tttgacgtaa agggagattt cgctatagct 5820
 gattgcccga attggcaagg ggctgcccc aagaccaat tctgcacgga tggatggact 5880
 ggccgtgect attggctaac atcctctggc gtcgaaccgg gcgtcattgg aaaaggattc 5940
 gccttctgct tcaccgcatg tggcgattcc gggctcccag tgatcaccga ggccggtgag 6000
 cttgtcggcg ttcacacggg atcgaataaa caaggggggg gcattgttac gcgccccctca 6060
 ggccagtttt gtaatgtggc acccatcaag ctaagcgaat taagtgaatt ctttgcctggg 6120
 cctaaggctc cgctcgggtga tgtgaaggtc ggcagccaca taattaaaga cataagcgag 6180
 gtgccttcag atctttgtgc cttgcttget gccaaacctg aactggaagg aggcctctcc 6240
 accgtccaac ttctttgtgt gtttttctc ctgtggagaa tgatgggaca tgcctggacg 6300
 ccttgggttg ctgtgagttt ctttattttg aatgaggttc tcccagccgt cctgggtccgg 6360
 agtgttttct cctttggaat gtttgtgcta tcttggtca cgccatggtc tgcgcaagtt 6420
 ctgatgatca ggcttctgac agcagctctt aacaggaaca gatggctact tgccttttctc 6480
 agcctcgggtg cagtgaccgg ttttgtcgca gatcttgcgg ccactcaggg gcattccgtt 6540
 caggcagtga tgaatttgag cacctatgca ttctgcctc ggatgatggt tgtgacctca 6600
 ccagtcccag tgatcacgtg tgggtgctgt cacctacttg ccatcatttt gtacttgttt 6660
 aagtaccgtg gcccgcacca tatecttgtt ggcgatggag tgttctctgc ggctttcttc 6720
 ttgagatact ttgccgaggg aaagttgagg gaaggggtgt cgcaatcctg cggaatgaat 6780
 catgagtctc tgactgggtc cctcgetatg agactcaatg acgaggactt ggatttcctt 6840
 atgaaatgga ctgattttta gtgctttgtt tctgcgtcca acatgaggaa tgcagcgggt 6900
 caatttatcg aggctgccta tgctaaagca cttagagtag aactggccca gttgggtgcag 6960

ES 2 546 933 T3

gttgataaag ttcgaggtac tttggccaaa cttgaagctt ttgctgatac cgtggcacct 7020
 caactctcgc ccggtgacat tgttgctcgt ctcggccaca cgctgttg cagtatcttc 7080
 gacctaaagg ttggtagcac caagcatacc ctccaagcca ttgagaccag agtccttgct 7140
 gggtcacaaa tgaccgtggc gcgcgtcgtc gacccgaccc ccacgcccc acccgcaccc 7200
 gtgccatcc ccctcccacc gaaagttctg gagaatggcc ccaacgcttg gggggatgag 7260
 gaccgtttga ataagaagaa gaggcgcagg atggaagccc tcggcatcta tgttatgggc 7320
 gggaaaaagt accagaaatt ttgggacaag aattccggtg atgtgtttta tgaggaggtc 7380
 cataataaca cagatgagtg ggagtgtctc agagtggcg accctgccga ctttgaccct 7440
 gagaagggaa ctctgtgtgg acatgtcacc attgaaaaca aggcttacca tgtttacacc 7500
 tccccatctg gtaagaagtt cttggtcccc gtcaaccag agaatggaag agttcaatgg 7560
 gaagctgcaa agctttccgt ggagcaggcc ctaggtatga tgaatgtcga cggcgaactg 7620
 actgccaaag aactggagaa actgaaaaga ataattgaca aactccaggg cctgactaag 7680
 gagcagtgtt taaactgcta gccgccagcg acttgacccg ctgtggtcgc ggcggcttgg 7740
 ttgttactga aacagcggta aaaatagtca aatttcacaa ccggaccttc accctgggac 7800
 ctgtgaattht aaaagtggcc agtgaggttg agctaaaaga cgcggttgag cacaaccaac 7860
 acccggttgc gagaccgatc gatggtggag ttgtgtcctt gcgttccgcg gttccttcgc 7920
 ttatagacgt cttgatctcc ggtgctgatg catctcccaa gttacttgc catcacgggc 7980
 cgggaaacac tgggatcgat ggcacgctct gggattttga gtccgaagcc actaaagagg 8040
 aagtcgcact cagtgcgcaa ataatacagg cttgtgacat taggcgcggc gacgctcctg 8100
 aaattggtct cccttacaag ctgtaccctg ttaggggtaa ccctgagcgg gtgaaaggag 8160
 ttctgcagaa tacaaggtht ggagacatac cttacaaaac ccccagtgac actggaagcc 8220
 cagtgcacgc ggctgcctgc cttacgcca acgccaactcc ggtgactgat gggcgtccg 8280
 tcttgccac gaccatgccc cccgggtttg agttatatgt accgaccata ccagcgtctg 8340
 tccttgatta ccttgactct aggcctgact gcctaaaca gctgacagag cacggctgcg 8400
 aagatgccgc actgaaagac ctctctaat atgacttgc cacccaaggc tttgttttac 8460
 ctggagttct tcgccttgtg cggaaatacc tgtttgcca thtaggtaa tgcccacccg 8520
 ttcacggcc ttctacttac cctgctaaga attctatggc tggataaat gggaacaggt 8580
 tccaaccaa ggacattcag agcgtccctg aatcgacgt tctgtgcgca caggctgtgc 8640
 gagaaaactg gcaaaactgtc accccttcta ctcttaagaa acagtattgc gggagaaga 8700
 agactaggac catactcggc accaataact tcatcgact agcccaccga gcagtgttga 8760
 gtggtgttac ccagggttc atgaaaaagg cgtttaact gcccatgcc ctcggaaaga 8820
 caagthttaa ggagctacag actccggtcc tgggcaggtg ccttgaagct gatctcgc 8880

cctgcatcg atccacgcct gcaattgtcc gctggtttgc cgccaacctt ctttatgaac 8940
 ttgcctgtgc tgaagagcat ctaccgtcgt acgtgctgaa ctgctgccac gacttactgg 9000
 tcacgcagtc cggcgcagtg actaagagag gtggcctgtc gtctggcgac ccgatcacct 9060
 ctgtgtctaa caccatttat agtttgggta tctatgcaca gcatatgggtg cttagttact 9120
 tcaaaagtgg tcacccccat ggccttctgt tcttacaaga ccagctaaag tttgaggaca 9180
 tgctcaaggt tcaacccctg atcgtctatt cggacgacct cgtgctgtat gccgagtctc 9240
 ccaccatgcc aaactatcac tgggtgggtg aacatctgaa tttgatgctg gggtttcaga 9300
 cggacccaaa gaagacagca ataacagact cgccatcatt tctaggtctg agaataataa 9360
 atgggcgcca gctagtcccc aaccgtgaca ggatcctcgc ggccctcgcc tatcacatga 9420
 aggcgagtaa gttttctgaa tactatgcct cagcggctgc aatactcatg gacagctgtg 9480
 cttgtttgga gtatgatcct gaatggttt aagaacttgt agttggaata gcgcagtgcg 9540
 cccgcaagga cggctacagc tttcccggca cgccgttctt catgtccatg tgggaaaaac 9600
 tcaggtccaa ttatgagggg aagaagtcga gagtgtgcgg gtactgcggg gccccggccc 9660
 cgtacgctac tgectgtggc ctcgacgtct gcattacca caccacttc caccagcatt 9720
 gtccagtcac aatctgggtg ggccatccag cgggttctgg ttctttagt gagtgcaaat 9780
 cccctgtagg gaaaggcaca agcccttag acgaggtgct ggaacaagtc ccgtataagc 9840
 ccccacggac cgttatcatg catgtggagc aggtctcacc ccccttgat ccaggtagat 9900
 accaaactcg ccgcggatta gtctctgtca ggcgtggaat taggggaaat gaagttggac 9960
 taccagacgg tgattatgct agcaccgcct tgctccctac ctgcaaagag atcaacatgg 10020
 tcgctgtcgc ttccaatgta ttgcgcagca ggttcacatc cggcccaccc ggtgctggga 10080
 aaacatactg gctccttcaa caggctccagg atgggtgatgt tatttacaca ccaactcacc 10140
 agaccatgct tgacatgatt agggctttgg ggacgtgccg gttcaacgtc ccggcaggca 10200
 caacgctgca attccccgtc cctccccga ccggctccgtg ggttcgcac ctagccggcg 10260
 gttggtgtcc tggcaagaat tccttcctag atgaagcagc gtattgcaat caccttgatg 10320
 ttttgaggct tcttagtaaa actaccctca cctgtctagg agacttcaag caactccacc 10380
 cagtgggttt tgattctcat tgctatgttt ttgacatcat gcctcaaact caactgaaga 10440
 ccatctggag gtttgacag aatatctgtg atgccattca gccagattac agggacaaac 10500
 tcatgtccat ggtcaacaca acccgtgtga cctacgtgga aaaacctgtc aggtatgggc 10560
 aggtcctcac cccctaccac agggaccgag aggacgacgc catcactatt gactccagtc 10620
 aaggcggcac attcgatgtg gttacattgc atttgccac taaagattca ctcaacaggc 10680
 aaagagccct tgttgctatc accagggcaa gacacgctat ctttgtgtat gaccacaca 10740

ES 2 546 933 T3

ggcagctgca gggcttgttt gatcttctg caaaaggcac gcccgtcaac ctgcagtg 10800
 actgcgacgg gcagctgac gtgctggata gaaataacaa agaatgcacg gttgctcagg 10860
 ctctaggcaa cggggataaa tttaggcca cagacaagcg tgttgtagat tctctccg 10920
 ccatttgctg tgatctagaa gggctgagct ctccgctccc caaggtcgca cacaacttgg 10980
 gatcttattt ctcacctgat ttaacacagt ttgctaaact cccagtagaa cttgcacctc 11040
 actggcccgt ggtgtcaacc cagaacaatg aaaagtggcc ggatcggctg gttgccagcc 11100
 ttcgccctat ccataaatac agccgcgctg gcatcggctg cggctatatg gtgggccctt 11160
 cgggttttct aggcactcct ggggtcgtgt catactatct cacaaaattt gtttaagggcg 11220
 gggctcaagt gcttccggag acggttttca gcaccggccg aattgaggta gactgccggg 11280
 aatatcttga tgatcgggag cgagaagttg ctgcctccct cccacacggg ttcatggcg 11340
 acgtcaaagg cactaccgtt ggaggatgtc atcatgtcac ctccagatac ctcccgcg 11400
 tccttcccaa ggaatcagtt gcggtagtcg ggtttcaag ccccgaaaaa gccgcgaaag 11460
 cattgtgcac actgacagat gtgtacctc cagatcttga agcctatctc caccggaga 11520
 cccagtccaa gtgctggaaa atgatgttg acttcaaaga agttcgacta atggctctgga 11580
 aagacaaaac agcctatttc caacttgaag gtcgctatct cacctggtat cagcttgcca 11640
 gctatgcctc gtacatccgt gttcccgta actctacggg gtacttggac ccctgcatgg 11700
 gccccgccct ttgcaacagg agagtcgtcg ggtccacca ctggggggct gacctcgcgg 11760
 tcaccctta tgattaaggc gctaaaatta tcctgtctag cgcgtaccat ggtgaaatgc 11820
 cccccggata caaaattctg gcgtgcgcg agttctcgtt ggatgacca gtttaagtaca 11880
 aacatacctg ggggtttgaa tcggatacag cgtatctgta tgagttcacc ggaaacggtg 11940
 aggactggga ggattacaat gatgcgttc gtgcgcgcca ggaagggaaa atttataagg 12000
 ccaactgccc cagcttgaag tttattttc ccccgggccc tgcattgaa ccaacttag 12060
 gcctgaattg aatgaaatg ggtccatgc aaagcctttt tgacaaaatt ggccaacttt 12120
 ttgtggatgc tttcacggag ttcttgggtt ccattgttga taccattata tttttggcca 12180
 ttttgtttgg ctccaccatc gccggttggc tgggtgtctt ttgcatcaga ttggtttggc 12240
 ccgcgatact ccgtacgcgc cctgccattc actctgagca attacagaag atcttatgag 12300
 gcttttctt cccagtgcca agtggacatt cccacctggg gaactaaaca tcctttgggg 12360
 atgctttggc accataaggt gtcaacctg attgatgaaa tgggtgtcgc tcgaatgtac 12420
 gcatcatgg aaaaagcagg gcaggctgcc tggaaacagg tggtagcga ggctacgctg 12480
 ctgcatta gtagtttggg tgggtggct cattttcagc atctagccgc cattgaagcc 12540
 gagacctgta aatatttggc ctcccggctg cccatgctac acaacctgcg catgacaggg 12600
 caaatgtaa ccatagtgtg taatagcact ttgaatcagg tgtttgcctat tttccaacc 12660

ES 2 546 933 T3

cctggttccc ggccaaagct tcatgatttt cagcaatggt taatagctgt acattcctcc 12720
 atattttcct ctggtgcagc ttcttgact cttttgttg tgctgtggtt gcgggtcca 12780
 atactacgta ctgtttttg tttccgctgg ttaggggcaa tttttcttc gaactcacag 12840
 tgaattacac ggtgtgtcca ccttgctca cccggcaagc agccacagag atctacgaac 12900
 ccggtaggtc tctttggtgc aggatagggt atgaccgatg tggggaggac gatcatgacg 12960
 agctagggtt tatgataccg cctggcctct ccagcgaagg ccacttgact ggtgtttacg 13020
 cctggttggc gttcttgctc ttcagctaca cggcccagtt ccatcccagag atattcggga 13080
 tagggaatgt gagtcgagtt tatgttgaca tcaaacaatca actcatctgc gccgaacatg 13140
 acgggcagaa caccaccttg cctcgtcatg acaacatttc agccgtgttt cagacctatt 13200
 accaacatca agtcgacggc ggcaattggt ttcacctaga atggcttcgt cccttctttt 13260
 cctcgtggtt ggttttaaat gtctcttggg ttctcaggcg ttcgcctgca aacctgttt 13320
 cagttcgagt cttgcagata ttaagaccaa caccaccgca gcggcaagct ttgctgtcct 13380
 ccaagacatc agttgcctta ggcatcgcga ctccgctct gaggcgattc gcaaaatccc 13440
 tcagtgccgt acggcgatag ggacaccgt gtatgttacc atcacagcca atgtgacaga 13500
 tgagaattat ttacattctt ctgatctcct catgctttct tcttgccttt tctatgcttc 13560
 tgagatgagt gaaaagggat ttaaggtggt atttggcaat gtgtcaggca tcgtggctgt 13620
 gtgtgtcaat ttaccagct acgtccaaca tgtcaaggag ttaccacaac gctccctggt 13680
 ggtcgaccat gtgcggttgc tccatttcat gacacctgag accatgaggt gggcaactgt 13740
 tttagcctgt ctttttgcca ttctgttggc aatttgaatg tttaaagtat ttggagaaat 13800
 gcttgaccgc gggctgttgc tcgcgattgc tttctttgtg gtgtatctg ccttctgtt 13860
 ttgctgtgct cgccaacgcc agcaacgaca gcagctcca tctacagctg atttacaact 13920
 tgacgctatg tgagctgaat ggcacagatt ggctagctaa caaatttgat tgggcagtg 13980
 agagttttgt catctttccc gttttgactc acattgtctc ctatggtgcc ctactacca 14040
 gccatttctt tgacacagtc gctttagtca ctgtgctac cgccgggttt gttcacgggc 14100
 ggtatgtcct aagtagcatc tacgcggtct gtgccctggc tgcgttgact tgcttcgtca 14160
 ttaggtttgc aaagaattgc atgtcctggc gctacgcgtg taccagatat accaactttc 14220
 ttctggacac taagggcaga ctctatcgtt ggcggtcgc tgatcata gagaaaagg 14280
 gcaaagttga ggtcgaaggc catctgatcg acctaaaag agttgtgctt gatggttccg 14340
 tggcaacccc tataaccaga gtttcagcgg aacaatgggg tcgtccttag atgacttctg 14400
 tcatgatagc acggctccac aaaaggtgct tttggcgttt tctattacct acacgccagt 14460
 gatgatatat gccctaaagg tgagtcgagg ccgactgcta gggcttctgc accttttgat 14520

cttcctgaat tgtgctttca ccttcgggta catgactttc gcgcactttc agagtacaaa 14580
 taaggctcgc ctcactatgg gagcagtagt tgcactcctt tgggggggtgt actcagccat 14640
 agaaacctgg aaattcatca cctccagatg ccgtttgtgc ttgctaggcc gcaagtacat 14700
 tctggccccct gccaccacg ttgaaagtgc cgcacggttt catccgattg cggcaaatga 14760
 taaccacgca tttgtcgtcc ggcgtcccgg ctccactacg gtcaacggca cattgggtgcc 14820
 cgggttaaaa agcctcgtgt tgggtggcag aaaagctggt aacagggag tggtaaacct 14880
 tgtcaaatat gccaaataac aacggcaagc agcagaagag aaagaagggg gatggccagc 14940
 cagtcaatca gctgtgccag atgctgggta agatcatcgc tcagcaaac cagtccagag 15000
 gcaagggacc gggaaagaaa aataagaaga aaaacccgga gaagccccat tttcctctag 15060
 cgactgaaga tgatgtcaga catcacttta cccctagtga gcggcaattg tgtctgtcgt 15120
 caatccagac cgcctttaat caaggcgctg ggacttgcac cctgtcagat tcagggagga 15180
 taagttacac tgtggagttt agtttgacct cgcatac tgtgcgctg atcccgctca 15240
 cagcatcacc ctcagcatga tgggctggca ttcttgaggc atctcagtgt ttgaattgga 15300
 agaatgtgtg gtgaatggca ctgattgaca ttgtgcctct aagtcaccta ttcaattagg 15360
 gcgaccgtgt ggggggtgaga ttttaattggc gagaacctg cggccgaaat t 15411

<210> 2
 <211> 939
 <212> ADN
 <213> Virus del síndrome reproductor y respiratorio porcino

<400> 2

atgtctggga tacttgatcg gtgcacgtgt accccaatg ccagggtggt tatggcggag 60
 ggccaagtct actgcacacg atgcctcagt gcacggctc tccttcccct gaacctcaa 120
 gtttctgagc tcgggggtgct aggcctatc tacaggcccg aagagccact ccggtggacg 180
 ttgccacgtg cattccccac tgttgagtgc tccccgcg gggcctgctg gctttctgca 240
 atctttcaa tcgcacgaat gaccagtga aacctgaact tccaacaaag aatggtagcg 300
 gtcgcagctg agctttacag agccggccag ctaccccctg cagtctttaa ggctctacaa 360
 gtttatgaac ggggttgccg ctggtacccc attggttgac ctgtccctgg agtggccggt 420
 ttcgccaatt ccctacatgt gaggataaa ccttcccgg gagcaactca cgtgttgacc 480
 aacctgccgc tccgcagag acccaagcct gaagactttt gccctttga gtgtgctatg 540
 gctactgtct atgacattgg tcatgacgcc gtcattgatg tggccgaaag gaaagtctcc 600
 tgggcccctc gtggcgggga tgaagtgaaa tttgaagctg tccccgggga gttgaagttg 660
 attgcgaacc ggctccgcac ctccctccc cccaccaca cagtggacat gtctaagttc 720
 gccttcacag cccctgggtg tgggttttct atgcccggctg aacgccaaca cggctgcctt 780
 cccgctgaca ctgtccctga aggcaactgc tgggtggagct tgtttgactt gcttccactg 840
 gaagttcaga acaaagaaat tcgccatgct aaccaatttg gctaccagac caagcatggt 900
 gtctctggca agtacctaca gcggaggctg caagttaat 939

5

10

ES 2 546 933 T3

<210> 3
 <211> 957
 <212> ADN
 <213> Virus del síndrome reproductor y respiratorio porcino

5

<400> 3

```

aatggctctcc gagcagtaac tgacctaac ggacctatcg tcgtacagta cttctccgtt      60
aaggagagtt ggatccgcca tttgaaactg gcgggagaac ccagctactc tgggtttgag      120
gacctcctca gaataagggg tgagcctaac acgtcgccat tggctgacaa ggaagaaaaa      180
atcttccggt ttggcagtca caagtggtag ggcgctggaa agagagcaag aaaagcacgc      240
tcttgtgcca ctgctacagt cgctggccgc gctttgtccg ttcgtgaaac ccggcaggcc      300
aaggagcacg aggttgccgg cgccaacaag gctgagcacc tcaaactacta ctccccgcct      360
gccgaagggg attgtggttg gcactgcatt tccgccatcg ccaaccggat ggtgaattcc      420
aaatttgaaa ccaccttcc cgaaagagtg agacctccag atgactgggc tactgacgag      480
gatcttgtga atgccatcca aatcctcaga ctccctgagg ccttagacag gaacgggtgct      540
tgtactagcg ccaagtacgt acttaagctg gaaggtgagc attggactgt cactgtgacc      600
cctgggatgt ccccttcttt gctccctctt gaatgtgttc agggctgttg tgggcacaag      660
ggcggctctg gttccccaga tgcagtcgag gtctccggat ttgaccctgc ctgccttgac      720
cggctggctg aggtgatgca cctgcctagc agtgctatcc cagccgctct ggccgaaatg      780
tctggcgatt ccgatacgtt ggcttctccg gtcaccaccg tgtggactgt ttcgcagttc      840
tttgcccgtc acagcggagg gaatcacctt gaccaagtgc gcttagggaa aattatcagc      900
ctttgtcagg tgattgagga ctgctgctgt tcccagaaca aaaccaaccg ggtcacc      957
    
```

10

<210> 4
 <211> 976
 <212> ADN
 <213> Virus del síndrome reproductor y respiratorio porcino

15

<400> 4

```

cccggaggag gtcgcagcaa agattgacct gtacctccgt ggtgcaacaa atcttgaaga      60
atgcttggcc aggcctgaga aagcgcgccc gccacgcgta atcgacacct cctttgattg      120
ggatgtttgt ctccctgggg ttgaggcggc aaccagacg atcaagctgc ccaggtcaa      180
ccagtgtcgt gctctgggtc ctgttgtgac tcaaaagtcc ttggacaaca actcgggtccc      240
cctgaccgcc ttttcaactg ctaactacta ctaccgtgcg caaggtgacg aagttcgtca      300
ccgtgaaaga ctaaccgccc tgctctccaa gttggaaaag gttgttcgag aagaatatgg      360
    
```

gctcatgccca accgagcctg gtccacggcc cacactgccca cgcgggctcg acgaactcaa 420
 agaccagatg gaggaggact tgctgaaact ggctaacgcc cagacgactt cggacatgat 480
 ggcttgggca gtcgagcagg ttgacctaaa aacttgggtc aagaactacc cgcggtggac 540
 accaccaccc cctccgcca aagttcagcc tcgaaaaacg aagcctgtca agagcttgcc 600
 ggagagaaaag cctgtccccg ccccgcgag gaaggttggg tccgattgtg gcagcccggg 660
 ttcattaggc ggcgatgtcc ctaacagttg ggaagatttg gctgttagta gccccttga 720
 tctcccgacc ccacctgagc cggcaacacc ttcaagtgag ctggtgattg tgtcctcacc 780
 gcaatgcata ttcaggccgg cgacaccctt gagtgcgagc gctccaattc ccgcacctcg 840
 cggaactgtg tctcgaccgg tgacaccctt gagtgcgagc atccctgtgc ccgcaccgag 900
 gcgtaagttt cagcaggtga aaagattgag ttcggcggcg gcaatccac cgtaccagga 960
 cgagcccctg gatttg 976

<210> 5
 <211> 954
 <212> ADN
 <213> Virus del síndrome reproductor y respiratorio porcino

5

<400> 5

caggacgagc ccctggattt gtctgcttcc tcacagactg aatatgaggc ctctcccca 60
 gcaccgccgc agagcggggg cgttctggga gtagaggggc atgaagctga gaaaccctg 120
 agtgaatct cggacatgtc gggtaacatt aaacctgctt cgtgtcctc aagcagctcc 180
 ttgtccagcg tgagaatcac acgccccaaa tactcagctc aagccatcat cgaactcggc 240
 gggccctgca gtgggcatct ccaagaggtg aaggaaacat gccttagtgt catgcgcgag 300
 gcatgtgatg cgactaagct tgatgaacct gctacgcagg aatggcttcc tcgcatgtgg 360
 gatcgggtgg acatgctgac ttggcgcaac acgtctgttt accaggcgat ttgcacctta 420
 gatggcaggc taaagtccct cccaaaaatg atactcgaga caccgccgcc ctatccgtgt 480
 gagtttgtga tgatgcctca cagcctgca ccttccgtag gtgcggagag cgaccttacc 540
 attggtcag ttgctactga agatgttcca cgcctcctcg agaaaataga aaatgtcggc 600
 gagatggcca accagggacc cttggccttc tccgaggata aaccggtaga tgaccaactt 660
 gtcaacgacc cccggatata gtcgaggagg cctgacgaga gcacatcagc tccgtccgca 720
 ggcacagggtg gcgccggctc ttttaccgat ttgccgctt cagatggcgc ggatgcggac 780
 gggggggggc cgtttcggac ggtaaaaaga aaagctgaaa ggctctttga ccaactgagc 840
 cgtcaggttt ttgacctcgt ctccatctc cctgttttct tctcacgct tttctaccct 900
 ggcggtgggt attctccggg tgattgggtt ttgcagctt ttactctatt gtgc 954

10

<210> 6
 <211> 939
 <212> ADN
 <213> Virus del síndrome reproductor y respiratorio porcino

15

<400> 6

ES 2 546 933 T3

ttgtgcctct ttttatgtta cagttaccca gcctttggta ttgctcccct cttgggtgtg 60
 ttttctgggt cttctcggcg cgttcgaatg ggggtttttg gctgctgggt ggcttttgct 120
 gttggtctgt tcaagcctgt gtccgaccca gtcggcgctg cttgtgagtt tgactcgcca 180
 gagttagaa acatccttca ttcttttgag cttctcaaac cttgggaccc tgttcgcagc 240
 cttgttggg gccccgtcgg tctcggctct gccattcttg gcaggttact gggcggggca 300
 cgctgcacct ggcacttttt gcttaggctt ggcattggtg cagactgtat cttggctgga 360
 gcttacgtgc tttctcaagg taggtgtaaa aagtgcggg gatcttgrat aagaactgct 420
 cctaataagg tcgcttttaa cgtgtttcct ttcacacgtg cgaccaggtc gtcacttacc 480
 gacctgtgcg atcgggtttt tgcgccaaaa ggaatggacc ccattttctt cgccactggg 540
 tggcgcgggt gctgggcccg ccgaagcccc attgagcaac cctctgaaaa acccatcgcg 600
 tttgcccaat tggatgaaaa gaagattacg gctaggactg tggtcgcccc gccttatgac 660
 cccaaccaag ccgtaaagtg cttgcgggta ttgcagtcgg gtggggcgat ggtggctaag 720
 gcggtcccaa aagtggtaaa ggtttccgct gttccattcc gagccccctt ctttcccact 780
 ggagtgaag ttgaccctga ttgcagggtc gtggttgacc ctgacacttt cactgcagct 840
 ctccggtctg gctactccac cacaacctc gtccttgggt taggggactt tgcccagctg 900
 aatggattaa aatcaggca aattccaag ccttcaggg 939

<210> 7

<211> 957

<212> ADN

<213> Virus del síndrome reproductor y respiratorio porcino

<400> 7

ggaggccac atctcatggc tgccctgcat gttgcctgct cgatggctct gcacatgctt 60
 gctgggattt atgtgactgc ggtgggttct tgcggcaccg gcaccaacga cccgtggtgc 120
 gctaaccggt ttgccgtccc tggctacgga cctggctctc tctgcacgtc cagggtgtgc 180
 atttcccaac acggccttac cctgcccttg acagcacttg tggcgggatt cggtattcaa 240
 gaaattgcct tggtcgtttt gatttttggt tccatcggag gcatggctca taggttgajc 300
 tgtaaggctg acatgctgtg tgttttgctt gcaattgcca gctatgtttg ggtacctctt 360
 acctggtgc tttgtgtgtt tccttgctgg ttgcgctggt tttctttgca ccccctcacc 420
 atcctatggt tgggtgtttt cttgatttct gtgaatatgc cttcaggaat cttggccatg 480
 gtgttgttg tttctctttg gcttcttggc cgttatacta atgttgctgg ccttgcacc 540

5

10

ES 2 546 933 T3

ccctacgaca ttcattcatta caccagtggc' ccccgcggtg ttgcccctt ggctaccgca 600
 ccagatggga cctacttggc cgctgtccgc cgcgctgctg tgactggccg caccatgctg 660
 tttaccccgt cccagcttgg gtctcttctt gagggtgctt tcagaactcg aaagccctca 720
 ctgaacaccg tcaatgtgat cgggtcctcc atgggctctg gcgggggtgtt taccatcgac 780
 gggaaagtca agtgcgtaac tgccgcacat gtccttacgg gcaattcagc tcgggtttcc 840
 ggggtcggct tcaatcaaat gcttgacttt gacgtaaagg gagatttcgc tatagctgat 900
 tgcccgaatt ggcaaggggc tgccccaag acccaattct gcacggatgg atggact 957

<210> 8
 <211> 957
 <212> ADN
 <213> Virus del síndrome reproductor y respiratorio porcino

5

<400> 8

tgcacggatg gatggactgg ccgtgcctat tggetaacat cctctggcgt cgaacccggc 60
 gtcattggaa aaggattcgc cttctgcttc accgcatgtg gcgattccgg gtccccagtg 120
 atcaccgagg ccggtgagct tgtcggcgtt cacacgggat cgaataaaca agggggggggc 180
 attgttacgc gcccctcagg ccagttttgt aatgtggcac ccatcaagct aagcgaatta 240
 agtgaattct ttgctgggcc taagggtccc ctcggtgatg tgaaggctcg cagccacata 300
 attaaagaca taagcgaggt gccttcagat ctttgtgcct tgcttgctgc caaacctgaa 360
 ctggaaggag gcctctccac cgtccaactt ctttgtgtgt ttttctctct gtggagaatg 420
 atgggacatg cctggacgcc cttggttget gtgagtttct ttattttgaa tgaggttctc 480
 ccagccgtcc tgggtccggag tgttttctcc tttggaatgt ttgtgctatc ctggctcacg 540
 ccatggctctg cgcaagttct gatgatcagg cttctgacag cagctcttaa caggaacaga 600
 tggtcacttg cttttttcag cctcggtgca gtgaccggtt ttgtcgaga tcttgccggcc 660
 actcaggggc atccgttgca ggcagtgatg aatttgagca cctatgcatt cctgcctcgg 720
 atgatggttg tgacctcacc agtcccagtg atcacgtgtg gtgtcgtgca cctacttgcc 780
 atcattttgt acttgtttaa gtaccgtggc ccgcaccata tccttgttgg cgatggagtg 840
 ttctctgcgg ctttcttctt gagatacttt gccgagggaa agttgagggga aggggtgtcg 900
 caatcctgcg gaatgaatca tgagtctctg actggtgccc tcgctatgag actcaat 957

10

<210> 9
 <211> 852
 <212> ADN
 <213> Virus del síndrome reproductor y respiratorio porcino

15

<400> 9

ES 2 546 933 T3

```

atgagactca atgacgagga cttggatttc cttatgaaat ggactgattt taagtgcctt      60
gtttctgcgt ccaacatgag gaatgcagcg ggtcaattta tcgaggctgc ctatgctaaa     120

gcacttagag tagaactggc ccagttggtg caggttgata aagtccgagg tactttggcc     180
aaacttgaag cttttgctga taccgtggca cctcaactct cgcccggatga cattgttgtc     240
gctctcggcc acacgcctgt tggcagtatc ttcgacctaa aggttggtag caccaagcat     300
accctccaag ccattgagac cagagtcctt gctgggtcca aatgaccgt ggcgcgctc       360
gtcgaccgca cccccacgcc cccaccgca cccgtgcca tccccctccc accgaaagtt       420
ctggagaatg gcccacgc ttgggggat gaggaccgtt tgaataagaa gaagaggcgc       480
aggatggaag ccctcggcat ctatgttatg ggcgggaaaa agtaccagaa attttgggac     540
aagaattccg gtgatgtgtt ttatgaggag gtccataata acacagatga gtgggagtgt     600
ctcagagttg gcgaccctgc cgactttgac cctgagaagg gaactctgtg tggacatgtc     660
accattgaaa acaaggctta ccatgtttac acctccccat ctggtaaagaa gttcttggtc     720
cccgtcaacc cagagaatgg aagagttcaa tgggaagctg caaagctttc cgtggagcag     780
gccctaggta tgatgaatgt cgacggcgaa ctgactgcca aagaactgga gaaactgaaa     840
agaataattg ac                                                                852

```

<210> 10

<211> 917

<212> ADN

<213> Virus del síndrome reproductor y respiratorio porcino

<400> 10

5

ES 2 546 933 T3

gcttggttgt tactgaaaca gcggtaaaaa tagtcaaatt tcacaaccgg accttcaccc	60
tgggacctgt gaatttaaaa gtggccagtg aggttgagct aaaagacgcg gttgagcaca	120
accaacacccc ggttgcgaga ccgatcgatg gtggagttgt gctcctgcgt tccgcggttc	180
cttcgcttat agacgtcttg atctccggtg ctgatgcac tcccaagtta cttgcccatc	240
acgggccggg aaacactggg atcgatggca cgctctggga ttttgagtcc gaagccacta	300
aagaggaagt cgcactcagt gcgcaaataa tacaggcttg tgacattagg cgcggcgacg	360
ctcctgaaat tggctctcct tacaagctgt accctgtag gggtaaccct gagcgggtga	420
aaggagtctt gcagaataca aggtttggag acatacctta caaaaccccc agtgacactg	480
gaagcccagt gcacgcggct gcctgcctta cgcccaacgc cactccggtg actgatgggc	540
gctccgtctt ggccacgacc atgcccccg ggtttgagtt atatgtaccg accataccag	600
cgtctgtcct tgattacctt gactctaggc ctgactgcc taaacagctg acagagcacg	660
gctgcgaaga tgccgcactg aaagacctct ctaaataatga cttgtccacc caaggctttg	720
ttttacctgg agttcttcgc cttgtgcgga aatacctgtt tgcccatgta ggtaagtgcc	780
caccggttca tcggccttct acttaccctg ctaagaattc tatggctgga ataaatggga	840
acaggttccc aaccaaggac attcagagcg tcctgaaat cgacgttctg tgcgcacagg	900
 ctgtgcgaga aaactgg	 917

<210> 11
 <211> 972
 <212> ADN
 <213> Virus del síndrome reproductor y respiratorio porcino

 <400> 11

5

ES 2 546 933 T3

gctgtgcgag aaaactggca aactgtcacc ccttgtactc ttaagaaaca gtattgcggg 60
 aagaagaaga ctaggacat actcggcacc aataacttca tcgcactagc ccaccgagca 120
 gtgttgagtg gtgttaccca gggcttcatg aaaaaggcgt ttaactcgcc catcgccctc 180
 ggaaagaaca agttaaagga gctacagact ccggctctgg gcaggtgcct tgaagctgat 240
 ctgcacatct gcgacgac cagcctgca attgtccgct ggtttgccgc caaccttctt 300
 tatgaacttg cctgtgctga agagcatcta ccgtcgtacg tgctgaactg ctgccacgac 360
 ttactggca cgcagtcgg cgcagtgact aagagaggtg gcctgtcgtc tggcgaccgg 420
 atcacctctg tgtctaacac catttatagt ttggatgatct atgcacagca tatgggtgctt 480
 agttacttca aaagtggca ccccatggc cttctgttct tacaagacca gctaaagttt 540
 gaggacatgc tcaaggttca acccctgatc gtctattcgg acgacctcgt gctgtatgcc 600
 gagtctcca ccatgccaaa ctatcactgg tgggtgaac atctgaattt gatgctgggg 660
 tttcagacgg acccaaagaa gacagcaata acagactcgc catcatttct aggctgtaga 720
 ataataaatg ggcgccagct agtcccaac cgtgacagga tcctcgcggc cctcgcctat 780
 cacatgaagg cgagtaatgt ttctgaatac tatgcctcag cggctgcaat actcatggac 840
 agctgtgctt gtttggagta tgatcctgaa tggtttgaag aactttagt tggaatagcg 900
 cagtgcgcc gcaaggacgg ctacagctt cccggcacgc cgttcttcat gtccatgtgg 960
 gaaaaactca gg 972

<210> 12
 <211> 966
 <212> ADN
 <213> Virus del síndrome reproductor y respiratorio porcino
 <400> 12

5

atgtgggaaa aactcaggtc caattatgag ggaagaagt cgagagtgtg cgggtactgc 60
 ggggccccgg ccccgtagc tactgcctgt ggcctcgacg tctgcattta ccacaccac 120
 ttccaccagc attgtccagt cacaatctgg tgtggccatc cagcgggttc tggttcttgt 180
 agtgagtgca aatcccctgt agggaaaggc acaagccctt tagacgaggt gctggaacaa 240
 gtcccgtata agccccacg gaccgttatc atgcatgtgg agcagggctc cccccctt 300
 gatccaggta gataccaaac tcgccgga ttagtctctg tcaggcgtgg aattagggga 360

10

ES 2 546 933 T3

aatgaagttg gactaccaga cggtgattat gctagcaccg ccttgctccc tacctgcaaa 420
gagatcaaca tggtcgctgt cgcttccaat gtattgcgca gcaggttcat catcggccca 480
cccggtgctg ggaaaacata ctggctcctt caacagggtcc aggatgggga tgttatttac 540
acaccaactc accagaccat gcttgacatg attagggctt tggggacgtg ccggttcaac 600
gtcccggcag gcacaacgct gcaattcccc gtcccctccc gcaccgggtcc gtgggttcgc 660
atcctagccg gcggttgggt tcttggaag aattccttcc tagatgaagc agcgtattgc 720
aatcaccttg atgttttgag gcttcttagt aaaactacc tcacctgtct aggagacttc 780
aagcaactcc acccagtggt ttttgattct cattgctatg tttttgacat catgcctcaa 840
actcaactga agaccatctg gaggtttgga cagaatatct gtgatgccat tcagccagat 900
tacagggaca aactcatgtc catggtcaac acaaccctgt tgacctacgt ggaaaaacct 960
gtcagg 966

<210> 13
<211> 783
5 <212> ADN
<213> Virus del síndrome reproductor y respiratorio porcino
<400> 13

gtggaaaaac ctgtcaggta tgggcaggtc ctcaccccct accacagggga ccgagaggac 60
gacgccatca ctattgactc cagtcaaggc gccacattcg atgtggttac attgcatttg 120
cccactaaag attcactcaa caggcaaaga gcccttggtg ctatcaccag ggcaagacac 180
gctatctttg tgtatgacc acacaggcag ctgcagggtt tgtttgatct tcctgcaaaa 240
ggcacgcccg tcaacctcgc agtgactgc gacgggcagc tgatcgtgct ggatagaaat 300
aacaagaat gcacggttgc tcaggctcta ggcaacgggg ataaatttag ggccacagac 360
aagcgtggtg tagattctct ccgcgccatt tgtgctgatc tagaagggtc gagctctccg 420
ctccccagg tcgcacacaa cttgggattt tttttctcac ctgatttaac acagtttgct 480
aaactcccag tagaacttgc acctcactgg cccgtgggtg caaccagaa caatgaaaag 540
tggccggatc ggctgggtgc cagccttcgc cctatccata aatacagccg cgcgtgcac 600
ggtgccggct atatgggtgg cccttcgggtg tttctaggca ctctgggggt cgtgtcatac 660
tatctcacia aatttggtta gggcggggct caagtgcttc cggagacggt tttcagcacc 720
ggccgaattg aggtagactg ccgggaatat ctgatgatc gggagcgaga agttgctgct 780
tcc 783

10 <210> 14
<211> 774
15 <212> ADN
<213> Virus del síndrome reproductor y respiratorio porcino
<400> 14

ES 2 546 933 T3

gagcgagaag ttgctgctc cctcccacac ggtttcattg gcgacgtcaa aggcactacc	60
gttggaggat gtcacatcatgt cacctccaga tacctcccgc gcgtccttcc caaggaatca	120
gttgcggtag tcgggggttc aagccccgga aaagccgcga aagcattgtg cacactgaca	180
gatgtgtacc tcccagatct tgaagcctat ctccacccgg agaccagtc caagtgtg	240
aaaatgatgt tggacttcaa agaagttcga ctaatggtct ggaaagacaa aacagcctat	300
ttccaacttg aaggtcgcta ttccacctgg taccagcttg ccagctatgc ctctacatc	360
cgtgttcccg tcaactctac ggtgtacttg gaccctgca tgggccccgc cctttgcaac	420
aggagagtcg tcgggtccac ccaactgggg gctgacctcg cggtcacccc ttatgattac	480
ggcgctaaaa ttatcctgtc tagcgcgtac catggtgaaa tgccccccgg atacaaaatt	540
ctggcgtgcg cggagtcttc gttggatgac ccagttaagt acaacatac ctggggggtt	600
gaatcggata cagcgtatct gtatgagttc accggaaacg gtgaggactg ggaggattac	660
aatgatgcgt ttcgtgctcg ccaggaaggg aaaatttata aggccactgc caccagcttg	720
aagttttatt tccccccggg ccctgtcatt gaaccaactt taggcctgaa ttga	774

REIVINDICACIONES

1. Una vacuna capaz de inducir una respuesta inmunitaria frente al PRRSV que comprende:
 - 5 una primera porción del ADN del ORF1 del PRRSV, seleccionándose dicha porción del grupo que consiste en los ID. SEC. Nº 2 - 6, 9, y combinaciones de los mismos; y un transportador farmacológico adecuado.
 - 10 2. La vacuna de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente una segunda porción del ADN del PRRSV seleccionada del el grupo que consiste en al menos 21 nucleótidos contiguos de un ORF del PRRSV distinto al ORF1, al menos 21 nucleótidos contiguos del ORF1 del PRRSV, y combinaciones de los mismos.
 - 15 3. La vacuna de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente un ingrediente seleccionado del grupo que consiste en coadyuvantes, excipientes, y combinaciones de los mismos.
 - 20 4. El uso de una primera porción de ADN del ORF1 del PRRSV, seleccionándose dicha porción del grupo que consiste en los ID. SEC. Nº 2 - 6, 9, y combinaciones de los mismos, para la elaboración de una composición para la inducción de una respuesta inmunitaria frente al PRRSV en un animal susceptible a una infección por el PRRSV, en el que dicha composición va a ser administrada a dicho animal.
 - 25 5. El uso de la reivindicación 4, en el que se proporciona una segunda administración de dicha composición.
 6. El uso de la reivindicación 5, comprendiendo adicionalmente dicha composición una segunda porción de ADN seleccionada del grupo que consiste en al menos 21 nucleótidos contiguos de un ORF del PRRSV distinto al ORF1, al menos 21 nucleótidos contiguos del ORF1, y combinaciones de los mismos.
 7. El uso de la reivindicación 5, comprendiendo adicionalmente dicha composición un ingrediente seleccionado del grupo que consiste en coadyuvantes, excipientes, y combinaciones de los mismos.
 - 30 8. Un vector que comprende al menos una porción del ADN del ORF1 del PRRSV, seleccionándose dicha porción del grupo que consiste en los ID. SEC. Nº 2 - 6, 9, y combinaciones de los mismos.
 - 35 9. El vector de la reivindicación 8, siendo dicho vector un plásmido.
 - 40 10. El vector de la reivindicación 8, comprendiendo adicionalmente dicho vector una segunda porción del ADN del PRRSV seleccionada del grupo que consiste en al menos 21 nucleótidos contiguos de un ORF del PRRSV distinto al ORF1, al menos 21 nucleótidos contiguos del ORF1, y combinaciones de los mismos.
 11. Una célula que contiene un plásmido de acuerdo con la reivindicación 9.
 12. La célula de la reivindicación 11, comprendiendo adicionalmente dicho plásmido una segunda porción del ADN del PRRSV seleccionada del grupo que consiste en al menos 21 nucleótidos contiguos de un ORF del PRRSV distinto al ORF1, al menos 21 nucleótidos contiguos del ORF1, y combinaciones de los mismos.