200909578

發明專利說明書

（本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫）

※ 申請案號：97120321

※ 申請日期：97.5.30

※IPC 分類：~~C07H~~ A61K 39/275 (2006.01)

C12N 15/863 (2006.01)
C12N 15/39 (2006.01)
C07K 14/07 (2006.01)

發明名稱：（中文/英文）

表現豬類病毒基因之浣熊痘病毒

RACCOON POXVIRUS EXPRESSING GENES OF PORCINE VIRUS

二、申 請 人：（共 1 人）

姓名或名稱：（中文/英文）

美商惠氏

WYETH

代表人：（中文/英文）

威廉 H 柯南

CALNAN, WILLIAM H.

住居所或營業所地址：（中文/英文）

美國紐澤西州麥迪森市吉拉達田園路5號

FIVE GIRALDA FARMS, MADISON, NJ 07940, U.S.A.

國　籍：（中文/英文）

美國　U.S.A.

三、發明人：（共 3 人）

姓　名：（中文/英文）

1. 史蒂芬 奇督 吳

   WU, STEPHEN QITU

2. 麥可 A 吉爾

   GILL, MICHAEL A.

3. 憲-祖 周

   CHU, HSIEN-JUE

國　籍：（中文/英文）

1. 美國　U.S.A.
2. 美國　U.S.A.
3. 美國　U.S.A.

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項☐第一款或☐第二款規定之事實，其事實發生日期為：　年　月　日。

☑ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號　順序註記】

☑ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；2007年05月30日；60/932,421

2.

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.

2.

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號　順序註記】

☑ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料　【格式請依：寄存機構、日期、號碼　順序註記】

國外生物材料　【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼　順序註記】

☑ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於表現豬繁殖與呼吸症候群病毒(PRRSV)單獨或其與豬環狀病毒(PCV)之組合之基因的新穎重組浣熊痘病毒載體及其作為疫苗在由PCV及/或PRRSV所引起之疾病預防中的用途。

【先前技術】

豬繁殖與呼吸症候群病毒(PRRSV)係正鏈RNA病毒，其係動脈病毒科(Arteriviridae)動脈病毒屬(genus Arterivirus)家族之成員。PRRSV感染豬，引起最初於1987年在北美檢測到之"神秘豬疾病"，隨後該疾病在1990年傳播至並傳遍歐洲。自1990年以來，PRRSV已成為豬產業之主要全球性威脅，給豬群造成嚴重生產損失。

現稱為豬繁殖與呼吸症候群(PRRS)之神秘豬疾病(亦稱為藍耳病、豬流行性流產及呼吸症候群(PEARS)或呼吸症候群(SIRS))的特徵在於妊娠母豬之繁殖障礙，此導致妊娠期之最後階段期間異常高數量流產、厭食症、死產、乾癟胎兒、母豬分娩後呼吸問題及仔豬虛弱(出生之後不久即死於呼吸系統疾病或二次感染)。在仔豬中，感染PRRSV造成呼吸窘迫及可能高達70%及更高仔豬死亡率之高死亡率。年長豬可能顯示呼吸系統疾病或二次感染之輕微體徵。該病毒在豬群體中快速傳播，且畜群中高達95%的豬在最初感染後兩個至三個月內可能變成血清陽性。即使感染已經穩定化，亦存在藉由排菌幼小雌豬散佈之PRRSV將

感染妊娠母豬及再次發生繁殖問題的強烈可能性。PRRS對豬飼養畜群之經濟影響相當大。

起因於神秘豬疾病，首先在荷蘭分離出之PRRSV被稱為Lelystad病毒(LV)(G. Wesvoort等人，Vet. Quarterly 3:121-130(1991))。其後不久，在西班牙發現不同之Olot分離株(Plana等人，Vet. Microbiol., 33:203-211, 1992)。隨後，PRRSV之新穎分離株已在若干公開案中予以闡述(參見，例如，歐洲專利申請案第0 529 584 A2號、WO 93/06211及WO 93/07898)。

其他公開案揭示PRRS病毒分離株之結構特徵，例如全部Lelystad病毒(LV)基因組(J.J.M. Meulenberg等人，"Lelystad virus, the causative agent of porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (PEARS), is related to LDV and EAV"，Virology 192: 62-72 (1993))；Tubingen(德國)PRRS病毒分離株(TV)基因組之區段(K-K. Cozelmann等人，"Molecular characterization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, a member of the Arterivirus group"，Virology 193: 329-339 (1993))及允許基因選殖及測序之其他分離株。

通常而言，動脈病毒之病毒粒子直徑為50-70 nm且含有同質異構(很可能為二十面體)核衣殼，該同質異構核衣殼之直徑為35 nm，由緊密黏附之包膜圍繞且具有蜂巢狀表面結構。基因組由單個線性正義ssRNA(尺寸為13-15 kb)分子組成。PRRS病毒之尺寸為50-60 nm，在核衣殼內含有約

30-35 nm之包膜及單個RNA分子。PRRSV之基因組RNA約為15 kb(15000個鹼基對)。該基因組編碼RNA複製酶(ORF1a及ORF1b)、糖蛋白GP2至GP5、整合膜蛋白M及核衣殼蛋白N(ORF 2至7)。基因組RNA係經由全長反義複製中間體合成。

PRRSV基因組之單鏈RNA分子在3'末端含有聚腺苷酸尾(poly-A tail)。該結構含有7個編碼病毒蛋白之開放讀碼框(ORF)。ORF1至ORF7在其之間顯示小重疊區段。病毒蛋白之合成係自具有不同長度亞基因組轉錄物(mRNA)但具有相似之3'聚腺苷酸化末端、及源自非編碼5'末端序列之5'前導序列的群組產生。該病毒蛋白表現形式視為巢式mRNA且先前已對冠狀病毒予以闡述(W. J. M. Spaan等人，J. Gen. Virol. 69:2939-2952 (1988))。基於Lelystad (LV)及Tubingen (TV) PRRSV病毒分離株核苷酸序列且藉由與用其他動脈病毒所觀察到者同源，吾人已提出在病毒基因組中，ORF1(a及b)編碼病毒聚合酶及複製酶。ORF2至ORF6編碼病毒包膜蛋白，且ORF7編碼核衣殼蛋白。病毒複製酶及聚合酶係大尺寸蛋白，分別為260及163 kDa，且兩者均含有三個可能之糖基化位點。位於3'末端之包膜蛋白(ORF 2至6)較小，介於30與19 kDa之間。所有該等皆含有兩個以上可能的糖基化位點，尤其ORF3含有7個位點。所有該等蛋白皆在胺基(N-)及羧基(C-)末端含有疏水性序列，其可作為前導序列及膜錨著點。通常而言，其為疏水性蛋白，此與其與膜相關聯之位置一致。ORF6具有3

個位於在N-末端之90個胺基酸殘基內之疏水性區段。藉由ORF7編碼之蛋白(可能對應於病毒核衣殼)與在N-末端之精胺酸、離胺酸及組胺酸殘基一起極為鹼性。LV及TV病毒聚合酶、結構蛋白及核衣殼之胺基酸序列與LDV病毒相比顯示介於29%與67%之間之一致性且與EAV病毒相比顯示介於20%與36%之間之一致性。

由PRRSV引起之疾病係造成全球豬產業嚴重損失之原因。為此，人們已研究開發能夠預防由PRRSV引起之感染的疫苗。以前疫苗研發之原理係PRRSV可在宿主細胞(豬)之基本肺泡巨噬細胞及在猴腎細胞系中生長之事實。在很大程度上，已在WO 92/21375、WO 93/06211、WO 93/07898及西班牙專利第P9301973號中闡述之抵抗PRRSV的先前疫苗係自在巨噬細胞上生長之病毒獲得並隨後經不活化之習用疫苗。揭示該等疫苗能夠避免豬繁殖與呼吸症候群(PRRS)並預防母豬繁殖變異。

亦對豬興隆具有重要意義者係另一種廣泛傳播之稱為斷乳後多系統消耗性症候群(PMWS)的疾病。PMWS(一般影響約5-18週齡之斷乳仔豬)以流行比例對豬造成當前或潛在之健康威脅並嚴重影響全球豬產業之經濟利益。PMWS之臨床體徵由漸進性體重損失、呼吸困難、呼吸急促、貧血、腹瀉及黃疸組成。儘管在斷乳仔豬中更為普遍，但該衰弱疾病可影響包括豬、公豬及成年豬之豬家族的任何動物。死亡率可自1%至2%不等，且在一些複雜情形下全世界死亡率可高達40%。已確定豬第二型環狀病毒(通常稱為

PCV-2)係PMWS之主要致病因子(G. M. Allan等人，"Novel porcine circoviruses from pigs with wasting disease syndromes"，Vet. Rec.，第142卷，第467-468頁，1998；G. M. Allan等人，"Isolation of porcine circovirus-like viruses from pigs with a wasting disease in the USA and Europe"，J. Vet. Diagn. Invest.，第10卷，第3-10頁，1998)。因此，在商業豬事務內，通過研發抵抗PCV2(PMWS之病原體)之有效疫苗以對具有危險之動物實施大規模疫苗接種來預防豬家族中PMWS發作係重要目標。

美國專利第6,217,883號(與法國專利第2,781,159B號相當)係關於5種經分離之PCV株及其與至少一種豬細小病毒抗原之組合在多價免疫原性組合物中的用途，該等PCV株係來自自加拿大、加利福尼亞及法國感染PMWS之豬取樣之肺部或神經節樣品。藉由由ORF1至ORF13組成之PCV2開放讀碼框(ORF)編碼之蛋白質在該專利中予以粗略闡述，但無展示免疫原性特性之任何具體蛋白質之例證。該專利揭示由DNA質粒、線性DNA分子及含有並在活體內表現編碼PCV抗原之核酸分子的重組病毒組成之載體。

美國專利第6,368,601號係關於自肺部或神經節樣品分離之新穎豬環狀病毒株，該等肺部或神經節樣品係自受斷乳後多系統消耗性症候群(PMWS)侵襲之農場獲得。具體而言，該專利闡述該等株之純化製備品、習用減毒疫苗或不活化疫苗、重組活疫苗、質粒疫苗及亞單位疫苗以及試劑

及診斷方法。該專利進一步揭示包含經分離之DNA分子序列之載體，該等經分離之DNA分子序列可用於在活體外表現載體中產生亞單元或用作擬整合至病毒或質粒型活體內表現載體中之序列。該專利粗略闡述豬皰疹病毒、豬腺病毒或痘病毒且更具體而言奧傑士基氏病(Aujesky's disease)病毒、牛痘病毒、鳥痘病毒或豬痘病毒之載體。

先前，某些豬繁殖與呼吸症候群病毒(PRRSV)基因(ORF2、ORF3、ORF4、ORF5、ORF6、ORF7)已在不同載體系統中表現：桿狀病毒、偽狂犬病病毒、TGEV及質粒DNA。所有該等表現系統皆受能夠在一個病毒構建體中表現僅一個或兩個開放讀碼框限制。

例如，美國專利第5,888,513號係關於豬繁殖與呼吸症候群(PRRS)之致病病毒之重組蛋白，其與PRRSV西班牙分離株(PRRS-Olot)之ORF2至ORF7相對應，其已在桿狀病毒表現系統中使用Sf 9(草地貪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)昆蟲細胞)細胞培養物作為容許宿主產生。該專利闡述適於調配能夠保護豬家畜免於PRRS之疫苗且適於製備用以檢測抗-PRRSV抗體以及豬生物樣品中之PRRSV之診斷套組的重組蛋白。具體而言，該專利係關於包含重組桿狀病毒之重組表現系統及表現來自至少一種經分離之核苷酸序列之經分離的病毒亞單位蛋白之方法，該至少一種經分離之核苷酸序列係選自由來自桿狀病毒轉移載體之PRRS-Olot分離株之ORF2至ORF7組成之群。該專利亦闡述含有至少一種重組PRRSV蛋白之重組疫苗。

存在大量關於用於表現豬抗原且用作疫苗之重組浣熊痘病毒主題的出版資訊。例如，美國專利第6,294,176號揭示一種重組浣熊痘病毒(RCNV)載體，其使豬繁殖與呼吸症候群病毒(PRRSV)、豬流感病毒血球凝集素(SIV HA)、豬流感病毒神經胺酸酶(SIV NA)及豬細小病毒(PPV)之開放讀碼框(ORF)之一個或兩個外來DNA序列(例如PRRSV之ORF2-7中的一個)嵌入浣熊痘病毒基因組之*Hind*III "U"基因組區域、*Hind*III "M"基因組區域或*Hind*III "N"基因組區域內之非必需區域中。在該專利中浣熊痘病毒病毒基因組闡述為在該病毒基因組之浣熊痘病毒宿主範圍基因中含有缺失。該專利藉由向浣熊痘病毒基因組中嵌入外來DNA序列提供產生重組浣熊痘病毒之同源載體。在該等實例中，該專利僅顯示如何預備將外來DNA嵌入*Hind*III "U"基因組區域中。DNA序列分析顯示，該等專利權所有人所揭示之*Hind*III "U"基因組區域並非重組浣熊痘病毒基因組之血球凝集素(*ha*)嵌入及/或胸苷激酶(*tk*)區域。

美國專利第7,109,025號揭示使用重組豬腺病毒之病毒載體及疫苗。具體而言，該專利闡述活體內複製及包含異源核苷酸序列之重組豬腺病毒，該異源核苷酸序列在能夠使豬腺病毒在活體內複製並表現所嵌入異源核苷酸序列之條件下嵌入豬腺病毒中。該專利進一步闡述使用來自豬腺病毒(PAV)血清型3或5(PAV-3或PAV-5)之腺病毒基因組並嵌入異源核苷酸序列，該異源核苷酸序列編碼至少一種在位於主要晚期啓動子(MLP)下游之PAV-3或PAV-5基因組之

E3區域的非必需區中之產物。該專利亦係關於包含所有或部分參考核苷酸序列之DNA片段。顯示重組PAV載體可表現選自由下列組成之群之豬病原體：偽狂犬病病毒、豬流感病毒、豬繁殖與呼吸症候群病毒、細小病毒病毒、豬霍亂病毒、豬第二型環狀病毒、胸膜肺炎放線桿菌(Actinobacillus pleuropneumoniae)及豬肺炎黴漿菌(Mycoplasma hyopneumoniae)。

美國專利第6,497,883號涉及含有來自豬第二型環狀病毒之外來DNA之重組痘病毒(例如鳥痘病毒)的用途與治療或預防由豬第二型環狀病毒引起之疾病的方法。具體而言，該專利之重組痘病毒包含由豬第二型環狀病毒之ORF 1至13組成之經分離的DNA分子，其中該重組痘病毒係重組ALVAC金絲雀痘病毒。

美國專利第7,211,379號係關於藉由藉助投與包含PCV-2抗原之免疫原性組合物誘導抵抗PCV-2之免疫反應來降低豬中豬第二型環狀病毒(PCV-2)之病毒負荷的方法。該專利將該抗原闡述為含有外源PCV-2核苷酸序列之載體，其中該PCV-2核苷酸序列編碼並表現ORF4、ORF13或ORF4及ORF13。在該專利中所示之一些實施例中，免疫原性組合物包括一或多種額外豬病原體。在該專利所揭示之方法中所用之組合物另外包含至少一種來自至少一種額外豬病原體之免疫原或表現該免疫原之載體，其中該額外豬病原體係選自由下列組成之群：PRRS、豬肺炎黴漿菌、胸膜肺炎放線桿菌、大腸桿菌(*Escherichia coli*)、萎縮性鼻

炎、偽狂犬病、豬霍亂、豬流感、腦心肌炎病毒及PPV。該專利中所揭示之載體包含DNA載體質粒、諸如大腸桿菌等細菌、諸如以下等病毒：桿狀病毒、包括豬皰疹病毒或奧傑士基氏病病毒(偽狂犬病)之皰疹病毒、包括豬腺病毒之腺病毒及包括牛痘病毒、鳥痘病毒、金絲雀痘病毒、浣熊痘病毒及豬痘病毒之痘病毒。

美國專利第6,241,989號及其續篇美國專利第7,087,234號之揭示內容涉及含有一種以上嵌入胸苷激酶基因或血球凝集素基因中之外源基因的多價重組浣熊痘病毒。在該兩個相關專利中所揭示之內容係該等多價重組浣熊痘病毒作為疫苗來賦予貓抵抗隨後貓病原體之攻擊之免疫性的用途。亦揭示藉由重組過程製造多價重組浣熊痘病毒之方法，該重組過程涉及構建外源基因嵌入其中之嵌入載體；及使嵌入基因之側翼係可重組至浣熊痘病毒胸苷激酶基因或血球凝集素基因中之序列；向易感染之宿主細胞中引入含有該等外源基因之嵌入載體及浣熊痘病毒二者；及自所得蝕斑中選擇重組浣熊痘病毒。該等專利之多價重組浣熊痘病毒可在貓細胞中感染並複製，且含有一個以上嵌入非病毒複製所必需之由浣熊痘病毒基因組之血球凝集素基因或胸苷激酶基因組成之區域中的外源基因，值得注意的是，其中該等外源基因可操作地與用於表現之啓動子連接；且每一外源基因編碼貓病原體抗原。該等專利闡述編碼諸如以下等貓病原體抗原之外源基因：貓白血病病毒(FeLV Env)、貓免疫缺陷病毒(FIV Gag)、貓免疫缺陷病毒(FIV Env)、

貓傳染性腦膜炎病毒(FIPV M)、貓傳染性腦膜炎病毒(FIPV N)、貓杯狀病毒(FCV衣殼蛋白)、貓泛白細胞減少症病毒(FPV VP2)及狂犬病-G。

除獸醫疫苗技術中所作之所有努力外，業內仍公認需要可充分地保護豬不受一或多種病毒感染之安全且有效的單價或多價PCV及/或PRRSV重組疫苗。亦需要通過投與能夠給予豬抵抗PMWS及/或PRRS之充分保護性免疫反應的重組疫苗來預防由PCV及/或PRRSV引起之感染或疾病的安全且有效之方法。在投與豬後除獲得安全性及功效外，藉由該重組疫苗亦將獲得優於習用不活化PRRSV疫苗之其他益處，即消除意外感染游離病毒或回復至其病原性狀態之不活化病毒之風險。顯然，研發安全且有效之以浣熊痘病毒為載體之豬疫苗在使用時將達成重要優點，其可預防嚴重豬疾病、確保疫苗生產期間雇員安全且完全消除病原性病毒未亡不活化之任何機會及商業生產中所用之去污染程序。

本說明書中所引用之所有專利及出版物的全文皆以引用方式併入本文中。

【發明內容】

在本發明之最廣泛態樣中，本發明提供安全且有效之重組痘病毒載體疫苗，其中該載體表現一或多種藉由一或多種豬繁殖與呼吸症候群病毒(PRRSV)分離株編碼之抗原蛋白，較佳為藉由*ha*及/或*tk*基因座處之一或多種豬繁殖與呼吸症候群病毒(PRRSV)分離株之多個開放讀碼框單獨或其

與一或多個豬第二型環狀病毒(PCV-2)之開放讀碼框之組合編碼的抗原蛋白。在特定實施例中，該載體進一步包含編碼帶有FeLV P27$^+$表型之貓白血病病毒之糖蛋白的核酸分子。FeLV P27$^+$或PCV-2衣殼基因可用作篩選不同組合中之純系的單標籤。本發明亦提供藉由向需要保護之豬投與強效新穎重組疫苗來保護豬抵抗斷乳後多系統消耗性症候群及/或豬繁殖與呼吸症候群之方法。

因此，本發明之第一態樣提供包含一或多個編碼豬繁殖與呼吸症候群病毒(PRRSV)蛋白之外源核酸分子的重組浣熊痘病毒載體(rRCNV)，其中：

a.) 將至少一個核酸分子嵌入該浣熊痘病毒基因組之血球凝集素基因座或胸苷激酶基因座中；或

b.) 將至少兩個核酸分子嵌入該浣熊痘病毒基因組之血球凝集素基因座或胸苷激酶基因座中；或

c.) 將至少一個核酸分子嵌入血球凝集素基因座中且將至少一個核酸分子嵌入該浣熊痘病毒基因組之胸苷激酶基因座中；或

在一個實施例中，該浣熊痘病毒載體包含至少兩個嵌入血球凝集素基因座中之核酸分子及至少兩個嵌入浣熊痘病毒基因組之胸苷激酶基因座中之核酸分子。

在一個實施例中，該重組浣熊痘病毒載體進一步包含除嵌入浣熊痘病毒基因組之胸苷激酶及血球凝集素基因座中外亦嵌入浣熊痘病毒基因組之第三非必需位點中之編碼豬繁殖與呼吸症候群病毒(PRRSV)蛋白的核酸分子。重組浣

熊瘟病毒基因組之任何非必需位點皆可涵蓋用於本發明。

在一個實施例中，該浣熊瘟病毒基因組之第三非必需位點係絲胺酸蛋白酶抑制劑位點。

在一個實施例中，一或多個外源核酸分子之每一者皆編碼一或多個豬繁殖與呼吸症候群病毒之開放讀碼框。該等開放讀碼框係選自由ORF1、ORF2、ORF3、ORF4、ORF5、ORF6、ORF7及其組合組成之群。

在一個實施例中，該瘟病毒載體編碼相同豬繁殖與呼吸症候群病毒蛋白之至少兩個拷貝。該相同蛋白之該兩個拷貝可藉由兩個不同核酸分子編碼，或其可藉由相同核酸分子編碼。該相同蛋白之該兩個拷貝可與一個啓動子可操作地連接，或該相同蛋白之該兩個拷貝可與單獨啓動子可操作地連接。該相同蛋白之該兩個拷貝可藉由選自由ORF1、ORF2、ORF3、ORF4、ORF5、ORF6、ORF7及其組合組成之群之豬繁殖與呼吸症候群病毒開放讀碼框編碼。

在一個實施例中，將兩個或更多個核酸分子嵌入該浣熊瘟病毒基因組之血球凝集素基因座及/或胸苷激酶基因座中。

在一個實施例中，兩個或更多個外源核酸分子編碼至少兩個選自由下列組成之群之豬繁殖與呼吸症候群病毒的開放讀碼框：ORF5-ORF6、ORF5-ORF6-ORF7、ORF3-ORF5-ORF6、ORF3-ORF4-ORF7、ORF3-ORF4-ORF5-ORF7、ORF3-ORF4-ORF6-ORF7及ORF3-ORF4-ORF5-

ORF6-ORF7。

在一個實施例中，豬繁殖與呼吸症候群病毒係ISU12(Iowa)、Olot/91(西班牙)或二者。

在一個實施例中，該重組浣熊痘病毒載體進一步包含編碼豬第二型環狀病毒(PCV2)之開放讀碼框(ORF)的核酸分子。

在一個實施例中，豬環狀病毒2開放讀碼框係ORF2。

在一個實施例中，可將PCV2 ORF2單獨嵌入該浣熊痘病毒基因組之胸苷激酶基因座中。

在一個實施例中，該重組浣熊痘病毒載體進一步包含編碼貓白血病病毒$P27^+$表型之糖蛋白的核苷酸序列。

在一個實施例中，浣熊痘病毒係活病毒且可複製。

本發明之第二態樣提供包含免疫有效量之一或多種任何本文所述重組浣熊痘病毒載體及視情況適宜載劑、稀釋劑或佐劑之重組豬疫苗。

在一個實施例中，該重組豬疫苗包含免疫有效量之兩種或多種本文所述之重組浣熊痘病毒載體及視情況一種適宜載劑或稀釋劑。

在一個實施例中，浣熊痘病毒係活病毒且可複製。

在一個實施例中，該疫苗不含佐劑。

在一個實施例中，該疫苗係以單次劑量或重複劑量投與。

在一個實施例中，該重組豬疫苗進一步包含至少一種其他豬抗原。該其他豬抗原係選自由下列組成之群：豬肺炎

黴漿菌抗原、副豬嗜血桿菌(*Haemophilus parasuis*)抗原、多殺巴斯德菌(*Pasteurella multocida*)抗原、豬鏈球菌(*Streptococcus suis*)抗原、胸膜肺炎放線桿菌抗原、支氣管敗血性博德特菌(*Bordetella bronchiseptica*)抗原、豬霍亂沙門氏菌(*Salmonella choleraesuis*)抗原、豬丹毒桿菌(*Erysipelothrix rhusiopathiae*)抗原、鉤端螺旋體細菌(leptospira bacteria)抗原、豬流感病毒抗原、豬細小病毒抗原、大腸桿菌抗原、豬呼吸冠狀病毒抗原、輪狀病毒抗原、奧傑士基氏病之致病病原體抗原、豬傳染性胃腸炎抗原及其組合。

本發明之第三態樣提供一種誘發抵抗豬繁殖與呼吸症候群病毒之免疫反應的方法，其包含向豬類動物投與由一或多種本文所述之重組浣熊痘病毒載體構成之重組豬疫苗。

在一個實施例中，該免疫反應係體液或抗體介導之反應。在一個實施例中，該免疫反應係細胞介導或T細胞介導之免疫反應。

在一個實施例中，該保護性免疫反應係由投與介於約4.5 $Log_{10}TCID_{50}$/ml至約7.5 $Log_{10}TCID_{50}$/ml範圍內之疫苗劑量誘發。

在一個實施例中，用於誘發免疫反應之重組豬疫苗包含一或多種活的且可複製之重組浣熊痘病毒載體。

在一個實施例中，用於誘發免疫反應之重組豬疫苗包含兩種或多種活的且可複製之重組浣熊痘病毒載體。

本發明之第四態樣提供一種預防豬繁殖與呼吸症候群及

斷乳後多系統消耗性症候群之方法，其包含向需要保護之豬類動物投與包含免疫有效量之一或多種本文所述之重組浣熊痘病毒載體及視情況一種適宜載劑、稀釋劑或佐劑之重組豬疫苗。

在一個實施例中，該或該等重組浣熊痘病毒載體係活載體且可複製。

本發明之第五態樣提供本發明之任何載體或疫苗的用途，其係用於製備用以誘發對哺乳動物豬類病毒之保護性免疫反應或預防哺乳動物豬繁殖與呼吸症候群及/或斷乳後多系統消耗性症候群的藥劑。

【實施方式】

在闡述本發明方法及治療方法學之前，應瞭解本發明並不限於所述特定方法及實驗條件，因為該等方法及條件可以變化。亦應瞭解，本文所用之術語僅出於闡述特定實施例之目的而非意欲限制本發明之範圍，因為本發明之範圍僅受限於隨附申請專利範圍。

除非上下文另外明確指出，否則本說明書及隨附申請專利範圍中所用之單數形式"一(a、an)"及"該(the)"包括複數個指示物。因此，例如，"該方法"之指示物包括一或多種方法及/或本文所述類型步驟及/或在閱讀該揭示內容後彼等熟習此項技術者顯而易見者等等。

因此，在本申請案中，可使用熟習此項技術者所熟知之習用分子生物學、微生物學及重組DNA技術。文獻中對該等技術進行了充分闡釋。參見，例如，Byrd, CM及Hruby,

DE，*Methods in Molecular Biology*，第269卷：*Vaccinia Virus and Poxvirology*，第3章，第31-40頁；Sambrook，Fritsch & Maniatis，*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*，第二版(1989)，冷泉港實驗室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory Press)，冷泉港，紐約(本文中"Sambrook等人，1989")；*DNA Cloning: A Practical Approach*，第I及II卷(D.N. Glover編輯，1985)；*Oligonucleotide Synthesis*(M.J. Gait編輯，1984)；*Nucleic Acid Hybridization*(B.D. Hames & S.J. Higgins編輯，(1985))；*Transcription And Translation*(B.D. Hames & S.J. Higgins編輯，(1984))；*Animal Cell Culture*(R.I. Freshney編輯，(1986))；*Immobilized Cells And Enzymes* (IRL出版社，(1986))；B. Perbal，*A Practical Guide To Molecular Cloning* (1984)；F.M. Ausubel等人(編輯)，*Current Protocols in Molecular Biology*，John Wiley & Sons公司(1994)。

儘管任何類似或等效於彼等本文所述者之方法及材料皆可用於本發明之實踐或測試中，但目前所述係較佳方法及材料。本文所提及之所有出版物之全文皆以引用方式併入本文中。

定義

本文所用之術語具有彼等熟習此項技術者所公認及習知之含義，然而，為方便及完整起見，下文將對特定術語及其含義予以闡明。

術語"約"意指在20%內，更佳在10%內且更佳在5%內。

術語"佐劑"係指可增強對抗原之免疫反應之化合物及混合物。佐劑可用作緩慢釋放抗原之組織庫且亦可用作非特異性增強免疫反應之淋巴樣系統激活劑(Hood等人，*Immunology*，第二版，1984，Benjamin/Cummings: Menlo Park，加利福尼亞，第384頁)。端視環境而定，在無佐劑存在下單獨用抗原實施基本攻擊可能不能引發體液或細胞免疫反應。佐劑包括但不限於完全弗氏(Freund's)佐劑、不完全弗氏佐劑、皂苷、諸如氫氧化鋁等礦物凝膠、諸如溶血卵磷脂等表面活性物質、普流尼克(pluronic)多元醇、聚陰離子、肽、油或煙乳液、鑰孔蟲戚血蘭素、二硝基苯酚及潛在有用之人類佐劑，例如BCG(卡介苗(*bacille Calmette-Guerin*))及短小棒狀桿菌(*Corynebacterium parvum*)。較佳地，佐劑係醫藥上可接受之佐劑。

術語"抗原"係指可在動物中刺激抗體產生或T-細胞反應之化合物、組合物或免疫原性物質，包括注射或吸收至動物中之組合物。該術語可用以指單個大分子或指抗原性大分子之均質或非均質群體。抗原與特定體液或細胞免疫之產物反應。術語"抗原"廣義上涵蓋包括蛋白、多肽、抗原蛋白片段、核酸、寡糖、多糖、有機及無機化學品或組合物及諸如此類之部分。而且，抗原可自任何病毒、細菌、寄生蟲、原生動物或真菌衍生或獲得，且可為整個生物體。術語"抗原"包括所有相關抗原決定部位。類似地，表現抗原之寡核苷酸或聚核苷酸(例如在核酸免疫應用中)亦

包括於該定義中。亦包括合成抗原，例如，多抗原決定部位、側翼抗原決定部位及其他重組或合成衍生抗原(Bergmann等人，(1993) Eur. J. Immunol. 23:2777 2781；Bergmann等人，(1996) J. Immunol. 157:3242 3249；Suhrbier, A. (1997) Immunol. and Cell Biol. 75:402 408；Gardner等人，(1998)第12屆世界AIDS會議，Geneva，Switzerland，1998年6月28日至7月3日)。

"藉由…編碼"或"編碼"係指編碼多肽序列之核酸序列，其中該多肽序列含有具有至少3個至5個胺基酸、更佳至少8個至10個胺基酸、且甚至更佳至少15個至20個胺基酸之胺基酸序列，多肽藉由該核酸序列編碼。亦涵蓋可與藉由多肽序列編碼之多肽在免疫學上視為一致之該多肽序列。因此，抗原"多肽"、"蛋白質"或"胺基酸"序列可與抗原之多肽或胺基酸序列具有至少70%相似性，較佳至少約80%相似性，更佳約90-95%相似性且最佳約99%相似性。

本文所用之術語"外源的"意欲涵蓋在浣熊痘病毒基因組外部產生、起源、衍生或發展者，即，自痘病毒基因組外部起源，例如，自相對於浣熊痘病毒基因組視為外來之PRRSV獲得或分離之基因物質。

在本發明上下文中所用之"基因"係基因功能與之相關聯之核酸分子(染色體、質粒等)中之核苷酸序列。基因係(例如)生物體之遺傳單位，其包含在生物體基因組內佔據特定物理位置("基因基因座(gene locus)"或"基因性基因座(genetic locus)")之聚核苷酸序列(例如，哺乳動物之DNA

序列)。基因可編碼經表現之產物，例如多肽或聚核苷酸(例如，tRNA)。或者，基因可界定特定事件/功能之基因組位置，例如蛋白質及/或核酸之結合(例如，噬菌體附著位點)，其中該基因不編碼經表現之產物。一般而言，基因包括諸如多肽編碼序列等編碼序列及諸如啓動子序列、聚腺苷酸化序列、轉錄調節序列(例如，增強子序列)等非編碼序列。許多真核基因具有藉由"內含子"(非編碼序列)中斷之"外顯子"(編碼序列)。在某些情形下，基因可與一或多個另外基因(例如，重疊基因)共享序列。對抗原或疫苗組合物之"免疫反應"係在個體中形成對存在於所關注抗原或疫苗組合物中之分子的體液及/或細胞介導之免疫反應。對本發明而言，"體液免疫反應"係抗體介導之免疫反應且涉及產生對於本發明抗原/疫苗具有親和性之抗體，而"細胞介導之免疫反應"係藉由T-淋巴細胞及/或其他白血細胞介導之免疫反應。"細胞介導之免疫反應"係藉由遞呈與主要組織相容性複合物(MHC)之I型或II型分子相關聯之抗原決定部位引發。此激活抗原特異性CD4+ T輔助細胞或CD8+細胞毒性T淋巴細胞("CTL")。CTL對與藉由主要組織相容性複合物(MHC)編碼且在細胞表面上表現之蛋白質一起遞呈之肽抗原具有特異性。CTL幫助誘導及促進細胞內微生物之細胞內破壞或感染該等微生物之細胞溶解。細胞免疫之另一態樣涉及藉助輔助T-細胞之抗原特異性反應。輔助T-細胞用於幫助刺激該功能並使非特異性效應細胞之活性集中抵抗在表面上顯示肽抗原與MHC分子的細胞。

"細胞介導之免疫反應"亦係指產生細胞因子、趨化因子及其他藉助激活T-細胞及/或其他白血細胞(包括彼等衍生自CD4+及CD8+ T-細胞者)產生之該等分子。特定抗原或組合物刺激細胞介導之免疫反應的能力可藉由數種分析法測定，例如藉由淋巴組織增生(淋巴細胞激活)分析法、CTL細胞毒性細胞分析法、藉由分析對經敏化個體中之抗原具有特異性之T-淋巴細胞、或藉由量測T細胞響應抗原再刺激而產生之細胞因子。該等分析法已為熟習此項技術者所熟知。參見，例如，Erickson等人，J. Immunol. (1993) 151:4189-4199；Doe等人，Eur. J. Immunol. (1994) 24:2369-2376。

"免疫原性ORF"或"免疫原性orf"係指能引發免疫反應之開放讀碼框。

本文所用之"免疫有效量"係指藉由熟習此項技術者所習知之標準分析法所量測之足以引發免疫反應(細胞(T細胞)或體液(B細胞或抗體)反應)之抗原或疫苗的量。例如，對於本發明而言，"免疫有效量"係≥4.5至7.5 $Log_{10}TCID_{50}$/mL之最小保護劑量(效價)。抗原作為免疫原之效力可藉由增殖分析法、藉由細胞溶解分析法(例如鉻釋放分析法以量測T細胞溶解其特異性靶細胞之能力)或藉由量測B細胞活性程度(藉由量測對血清中之抗原具有特異性之循環抗體的含量)來量測。而且，免疫反應之保護程度可藉由攻擊具有經注射抗原之經免疫化的宿主來量測。例如，若期望免疫反應之抗原係病毒或腫瘤細胞，則藉由"免疫有效量"

之該抗原誘導之保護程度可藉由檢測對動物實施病毒或腫瘤細胞攻擊後之存活率百分比或死亡率百分比來量測。

本文所定義之浣熊痘病毒基因組中之"非必需位點"意指病毒基因組中非病毒感染或複製所必需之區域。浣熊痘病毒基因組中之非必需位點的實例包括但不限於胸苷激酶(TK)位點、血球凝集素(HA)位點及絲胺酸蛋白酶抑制劑位點。浣熊痘病毒之TK位點闡述於C. Lutze-Wallace，M. Sidhu及A. Kappeler，Virus Genes 10 (1995)，第81-84頁。浣熊痘病毒之TK基因的序列亦可參見PubMed登錄號DQ066544及U08228。浣熊痘病毒之HA位點闡述於Cavallaro KF及Esposito, JJ, Virology (1992), 190(1): 434-9。浣熊痘病毒之HA基因的序列亦可參見PubMed登錄號AF375116。術語"核酸分子"或"核酸序列"具有其普通含義，係指重複核苷酸(例如指導蛋白合成過程之嘌呤及嘧啶鹼基重複單元)長鏈，即，其編碼並表現蛋白質物質。與該術語在申請專利範圍中之使用一樣，核酸係指編碼豬繁殖與呼吸症候群病毒蛋白之已知外源或外來基因，期望為開放讀碼框基因。

本文所用之術語"開放讀碼框"或"ORF"或"orf"係指無間插終止密碼子下編碼特定病毒蛋白所需要之最小核苷酸序列。

"可操作地連接"係指元件之排列，其中所闡述之組件經組態以實施其通常功能。因此，當存在調節蛋白及合適酶時，與編碼序列(例如，編碼所關注抗原之序列)可操作地

連接之給定啓動子能夠實現編碼序列之表現。在一些情形下，某些控制元件不需要與編碼序列鄰接，只要該等控制元件起指導其表現之作用即可。例如，啓動子序列與編碼序列之間可存在未經轉譯而經轉錄之間插序列且該啓動子序列仍可視為與該編碼序列"可操作地連接"。因此，在細胞中，當RNA聚合酶將編碼序列轉錄至mRNA(其隨後經反式RNA剪接並轉譯成藉由該編碼序列編碼之蛋白質)中時，編碼序列與轉錄及轉譯控制序列"可操作地連接"。

術語"豬(porcine及swine)"可互換使用且係指為豬科(Suidae)家族成員之任何動物，例如豬。

"保護性"免疫反應係指疫苗引發免疫反應(體液或細胞介導)之能力，其用以保護哺乳動物不受感染。所提供之保護無需為絕對的，即，感染無需完全預防或根除，若與豬哺乳動物之對照群體(例如未投與疫苗之感染動物)相比存在統計學之顯著改良。保護可限於減輕感染症狀發作之嚴重性或迅速性。

本文所用之術語"重組體"僅僅係指藉由標準基因工程方法所產生之浣熊痘病毒構建體。

術語"可複製的"係指能夠在適宜宿主細胞中複製、重製或再製之微生物，例如，諸如浣熊痘病毒等病毒。

術語"疫苗"或"疫苗組合物"在本文中可互換使用且係指包含至少一種可在動物中誘導免疫反應及/或保護動物免於由感染所致之疾病或可能死亡之免疫活性組份的醫藥組合物，且可能包括或可能不包括一或多種能夠增強活性組

份之免疫活性的其他組份。疫苗可另外包含醫藥組合物之其他典型組份。

"載體"係能夠在宿主生物體中複製且基因嵌入其中以構建重組DNA分子之DNA分子。

概述

根據本發明，提供獨特的重組痘病毒載體，其中該載體包含一或多個編碼豬繁殖與呼吸症候群病毒蛋白之外源核酸分子。在一個實施例中，該痘病毒載體可編碼相同豬繁殖與呼吸症候群病毒蛋白的至少兩個拷貝。該相同蛋白之該兩個拷貝可藉由兩個不同核酸分子編碼或該相同蛋白之該兩個拷貝可藉由相同核酸分子編碼。該相同蛋白之該兩個拷貝可與一個啓動子或與單獨啓動子可操作地連接。

該等蛋白可藉由分別在血球凝集素(*ha*)及/或胸苷激酶(*tk*)基因座處的一或多種豬繁殖與呼吸症候群病毒(PRRSV)分離株之開放讀碼框(例如ORF1a或ORF1b至ORF7，較佳為ORF5、ORF6及/或ORF3/ORF4/ORF7)與或不與豬第二型環狀病毒(PCV-2)之一或多個開放讀碼框(例如ORF1至ORF13，較佳為ORF2)編碼。用於嵌入本文所述任何核酸分子之痘病毒基因組的另一第三非必需位點係絲胺酸蛋白酶抑制劑位點。在一個特定實施例中，兩個或更多個外源核酸分子編碼兩個或更多個選自由下列組成之群之豬繁殖與呼吸症候群病毒的開放讀碼框：ORF5-ORF6、ORF5-ORF6-ORF7、ORF3-ORF5-ORF6、ORF3-ORF4-ORF7、ORF3-ORF4-ORF5-ORF7、ORF3-ORF4-ORF6-

ORF7及ORF3-ORF4-ORF5-ORF6-ORF7。

亦在*ha*及/或*tk*基因座處嵌入者係表現帶有FeLV P27$^+$表型(在FeLV P27 ELISA中為藍色)之貓白血病病毒(FeLV)之糖蛋白的基因。在該等構建體中，FeLV P27$^+$或PCV-2 ORF2(衣殼基因)用作單標籤來篩選不同組合中之純系。較佳之PRRSV分離株包含ISU12 (Iowa)及Olot/91(西班牙)株，但其他分離株可容易地代替在下文實例中闡釋之本發明株。

因此，本發明之目的係在一個病毒構建體中表現浣熊痘病毒(RCNV)基因組之血球凝集素(*ha*)及/或胸苷激酶(*tk*)基因座處之四個或更多個豬繁殖與呼吸症候群病毒(PRRSV)之美國及歐洲株之開放讀碼框(ORF)單獨或其與豬環狀病毒(PCV2)之ORF之組合以製造強效疫苗。

本發明之另一目的係使用新穎選殖篩選系統，該系統利用有限稀釋及藍-至-白蝕斑途徑或有限稀釋及病毒ELISA而非習用篩選標籤(如*LacZ*)作為篩選標籤。

上述目的係藉由提供包含重組浣熊痘病毒載體(rRCNV)之新穎疫苗實現，其中該rRCNV表現分別在血球凝集素(*ha*)及/或胸苷激酶(*tk*)基因座處之一或多種PRRSV分離株之多個開放讀碼框(較佳為ORF5、ORF6及/或ORF3/ORF4/ORF7)與或不與PCV-2之開放讀碼框(較佳為ORF2)。

先前表現系統之能力限於在一個病毒構建體中僅表現一個或兩個PRRSV基因之開放讀碼框(ORF)。本發明有利地

容許表現四個或更多個豬繁殖與呼吸症候群病毒(PRRSV)之美國及歐洲株之ORF單獨或其與豬第二型環狀病毒(PCV-2)之開放讀碼框的組合。迄今業內無闡述，本發明之優良表現系統容許在一個病毒構建體中將來自PRRSV之多個ORF嵌入浣熊痘病毒(RCNV)基因組之*ha*及/或*tk*基因座及/或絲胺酸蛋白酶抑制劑基因座中由此產生保護豬抵抗PRRS之強效重組疫苗。

本發明使用利用有限稀釋及藍-至-白蝕斑途徑或有限稀釋及ELISA用作篩選標籤之篩選系統。非常有益地，該篩選系統在一個病毒構建體中可提供多個位點表現。

浣熊痘病毒(Herman株)首先由Y. F. Herman在Aberdeen, Maryland於1961-1962年自無臨床症狀之浣熊呼吸道中分離出來(Y. F. Herman，"Isolation and characterization of a naturally occurring pox virus of raccoons"，於Bacteriol. Proc.中，第64屆美國微生物學學會年會(64th Annual Meeting of the American Society for Microbiology)，第117頁(1964))。在本發明之rRCNV-PRRS構建體中，將一或多種PRRSV基因株之多個開放讀碼框(例如，ORF5、ORF6及/或ORF3/ORF4/ORF7)嵌入浣熊痘病毒(RCNV)基因組之*ha*及/或*tk*基因座中使無毒性之Herman株進一步減毒。有利地，本發明以rRCNV為載體之PRRSV疫苗亦使疫苗生產期間雇員之安全性得以改良且完全消除了病原性病毒未亡不活化之機會及商業生產期間所用之去污染程序。

本發明涵蓋，本發明中所闡述之科學進步及新穎方法可

由熟習此項技術者應用於具有多個自PRRSV株而非ISU12及Olot/91獲得之開放讀碼框之抗原蛋白且可在浣熊痘病毒載體之*tk*及/或*ha*基因座處嵌入以提供用於保護抵抗PRRS之免疫原性疫苗。例如，諸如北美株VR-2332、歐洲株Lelystad病毒及諸如此類等其他株可容易地代替ISU12及/或Olot/91株。由於RNA病毒易發生突變，因此，或者，新領域分離株或病毒突變體之期望ORF基因可經分離並用於本發明之重組疫苗中。儘管如此，在迄今發現之PRRSV之許多突變體及眾多分離株間存在高度同源性，並且，因此，在本發明疫苗構建體中使用某些開放讀碼框(例如ORF5或ORF6)具有可顯著有效抵抗PRRS之優點。對於彼等具有約40%之較低同源性的分離株，本發明構建體之實用優點在於其可容易地容納來自多種病毒來源之若干ORF的抗原蛋白以提供有效之廣譜疫苗。通過對仔豬成功實施疫苗接種程序之該PRRS預防對豬產業極具重要性，因為對於該疾病沒有有效之長期治療方案。

本發明進一步涵蓋，可用於本發明之痘病毒載體可包含但不限於浣熊痘病毒、金絲雀痘病毒、家禽痘病毒、豬痘病毒、牛痘病毒及諸如此類，但期望使用浣熊痘病毒。雖然不活化痘病毒載體可用於本發明方法之實踐中，但活載體較佳。

本發明亦提供藉由向需要保護之豬投與強效新穎重組疫苗來保護豬抵抗斷乳後多系統消耗性症候群(PMWS)及/或豬繁殖與呼吸症候群(PRRS)之新穎方法。

在本發明方法中，將免疫有效量之本發明疫苗投與至需要保護抵抗PMWS及/或PRRS之豬(尤其係幼小仔豬)以在動物中誘導保護性免疫反應。給予豬之有效免疫量係可獲得疫苗之充分免疫反應以保護豬不受PCV-2及/或PRRSV之有害效應的量。當疫苗能夠如疫苗領域中之標準值所要求保護至少相當數量之經接種的豬時，視為獲得保護性免疫反應。給動物接種並引發滿意疫苗接種效應之免疫學有效劑量或有效免疫量可藉由常規測試(例如，藉由標準滴定研究)容易地測定或容易地滴定。

本發明之新穎疫苗構建體可用於約3月齡之健康仔豬之疫苗接種以預防斷乳後多系統消耗性症候群(PMWS)及/或豬繁殖與呼吸症候群(PRRS)。亦可將該疫苗給予生育之前之成熟或成年母豬(即，大於3個月)。該疫苗可以單次劑量投與或若抗體效價下降且認為需要加強注射則以重複劑量投與。期望地，該疫苗係以單次接種方式投與至健康動物以提供抵抗疾病之長期保護，保護動物至少一年至三年或更長。適當劑量可藉由標準劑量滴定研究來測定。該疫苗可含有免疫有效量之任何一種本文所述以重組浣熊痘病毒為載體之構建體。在另一實施例中，該疫苗可含有免疫有效量之任何兩種或更多種本文所述之重組浣熊痘病毒載體構建體。

該疫苗可容易地藉由任何投與途徑，經口、經鼻內、經皮(即施於皮膚表面上或表面處以全身吸收)、非經腸等給予，儘管一些途徑對於特定動物及處理者可能在邏輯上較

為困難。非經腸之投與途徑包括(但不限於)皮下、肌內、靜脈內、腹膜內、皮內(即注射或置於皮膚下)途徑及諸如此類。較佳地，該疫苗係經皮下投與。

雖然本發明疫苗高度期望使用活浣熊痘病毒以獲得最佳且強效免疫功效，但是該痘病毒載體可為活載體或藉由習用程序不活化以製備不活化病毒疫苗，例如使用BEI(二元氮丙啶)、甲醛及諸如此類，BEI係較佳不活化劑。

有益的是，表現PCV-2及/或PRRSV之多個ORFs的活重組RCNV(單獨或與適宜載劑、稀釋劑及佐劑組合)為有用之疫苗。疫苗產物可視情況含有多種典型無毒之醫藥上可接受之添加劑、稀釋劑及佐劑，此包括(但不限於)防腐劑；穩定劑；乳化劑；氫氧化鋁；磷酸鋁；pH調節劑，例如氫氧化鈉、鹽酸等；表面活性劑，例如Tween® 80(聚山梨醇酯80，可自Sigma Chemical Co., St. Louis, MO購得)；脂質體；免疫刺激複合物(iscom)佐劑；合成糖肽，例如胞壁醯二肽；增量劑(extenders)，例如葡聚糖或葡聚糖與例如磷酸鋁、硫酸葡聚糖、DEAE-葡聚糖及諸如此類之組合；聚羧乙烯(carboxypolymethylene)，例如CARBOPOL®(聚丙烯酸聚合物，可自B.F. Goodrich Company, Cleveland, Ohio購得)；乙烯馬來酸酐或乙烯/馬來酸酐共聚物(EMA®，線性乙烯/馬來酸酐共聚物，具有大約等量之乙烯及馬來酸酐，具有估計之平均分子量約75,000至100,000，可自Monsanto Co., St. Louis, MO購得)；丙烯酸系共聚物乳液，例如苯乙烯與丙烯酸及甲基

丙烯酸之混合物的共聚物，如NEOCRYL® A640(例如美國專利第5,047,238號，與苯乙烯混合之丙烯酸及甲基丙烯酸之未聚結(uncoalesced)水性丙烯酸共聚物，可自Polyvinyl Chemicals, Inc., Wilmington, MA購得)；細菌細胞壁，例如分枝桿菌細胞壁提取物；衍生自棒狀桿菌之佐劑，例如短小棒狀桿菌；衍生自丙酸桿菌之佐劑，例如痤瘡丙酸桿菌(*Propionibacterium acne*)；牛分枝桿菌(*Mycobacterium bovis*)(卡介苗或BCG)；亞病毒微粒佐劑，例如環狀病毒；霍亂毒素；N,N-二(十八烷基)-N',N'-雙(2-羥基乙基)-丙二胺(阿夫立定(avridine))；單磷醯脂質A；二甲基二(十八烷基)溴化銨(DDA，可自Kodak, Rochester, NY購得)；其合成物及混合物。可用於本發明疫苗中之其他添加劑包括(但不限於)右旋糖(dextrose)、習用抗氧化劑及習用螯合劑，例如乙二胺四乙酸(EDTA)。可視情況補充於疫苗調配物之其他醫藥上可接受之佐劑包括(但不限於)聚陰離子、聚陽離子、肽、礦物油乳液、免疫調節劑、多種組合及諸如此類。適宜佐劑之其他非限制性實例包括角鯊烷及角鯊烯(或其他動物來源之油)；聚氧乙烯-聚氧丙烯嵌段共聚物，例如PLURONIC®(L121，例如，可自BASF Aktiengesellschaft，Ludwigshafen，德國購得)；皂苷；Quil A(皂樹皮經純化形式之商品名，可自Iscotec AB，瑞典及Superfos Biosector a/s，Vedbaek，丹麥獲得)；礦物油，例如MARCOL®(液體飽和烴之經純化混合物，可自Exxon-Mobil，Fairfax，VA購得)；植物油，例如花生油；

介白素，例如介白素-2及介白素-12；干擾素，例如γ干擾素；動物瘟病毒蛋白或其混合物。適宜穩定劑之實例包括但不限於蔗糖、明膠、蛋白胨、諸如NZ-胺或NZ-胺AS等經消化之蛋白質提取物。乳化劑之實例包括但不限於礦物油、植物油、花生油及其他可用於可注射或鼻內疫苗之標準可代謝無毒油。期望地，氫氧化鋁與諸如皂苷或Quil A等其他佐劑混合以形成諸如皂苷-氫氧化鋁或Quil A-氫氧化鋁等組合。

較佳佐劑包含乙烯/馬來酸酐共聚物、苯乙烯與丙烯酸及甲基丙烯酸混合物之共聚物、礦物油乳液或其組合。可顯著增強本發明rRCNV-PRRS構建體效能之尤佳佐劑系統包含諸如EMA-31®(線性乙烯/馬來酸酐共聚物，其乙烯及馬來酸酐的量大致相等，其估計平均分子量為約75,000至100,000，可自Monsanto公司，St. Louis，MO購得)等乙烯/馬來酸酐共聚物與諸如NEOCRYL®(與苯乙烯混合之丙烯酸及甲基丙烯酸之未接合水性丙烯酸共聚物(丙烯酸系-苯乙烯乳液)，可自Polyvinyl Chemicals公司，Wilmington，MA購得)等丙烯酸共聚物乳液之組合。

本發明重組疫苗組合物亦可視情況含有一或多種額外豬抗原之混合物，該一或多種額外豬抗原係例如豬肺炎黴漿菌、副豬嗜血桿菌、多殺巴斯德菌、豬鏈球菌、胸膜肺炎放線桿菌、支氣管敗血性博德特菌、豬霍亂沙門氏菌、豬丹毒桿菌、鉤端螺旋體細菌、豬流感病毒(SIV)、豬細小病毒、大腸桿菌、豬呼吸冠狀病毒、輪狀病毒、奧傑士基

氏病之致病病原體、豬傳染性胃腸炎等。

彼等熟習此項技術者所習知之任何方法皆可用於製備本發明之基因構建體。例如，可利用特定限制位點使用標準方法將任何期望核酸序列嵌入浣熊痘病毒載體中。或者，如本文所述，當期望嵌入較大序列時或當期望嵌入多個基因時，吾人可利用同源重組技術。在該方法中，嵌入位點(擬向其中嵌入多個基因)側翼之質粒序列含有與浣熊痘病毒基因組中存在之序列具有充分同源性之序列以介導重組。該等側翼序列必須與非浣熊痘病毒生長及繁殖所必需之浣熊痘病毒區域同源，例如血球凝集素基因座或胸苷激酶基因座或絲胺酸蛋白酶抑制劑基因座。儘管可使用一個啓動子來推動擬重組之兩個外源基因表現，但是在嵌入載體中使用兩個啓動子(每個啓動子與單個基因可操作地連接)亦將提供充分表現。

通常而言，病毒rRCNV-PRRS可藉由藍-至-白蝕斑途徑構建，例如，藉由以下五個主要步驟：(1)將PRRSV ISU12(Iowa)及Olot/91(西班牙分離株)株之ORF5、ORF6、ORF7或ORF3選殖入質粒pFD2000A及/或pFD2003SEL中；(2)構建質粒pFD2000A PRRS ORF7 (P_{11})-ORF5 (Olot)(P_{SEL})-ORF6 (P_{SEL})-ORF5 (P_{SEL})或質粒pFD2000A PRRS ORF3 (P_{11})-ORF5 (Olot)(P_{SEL})-ORF6 (P_{SEL})-ORF5 (P_{SEL})；(3)藉由三方面感染/轉染創建純系庫：COS7細胞、步驟2中之質粒及rRCNV-FeLV；(4)藉由有限稀釋及藍-至-白蝕斑途徑實施純系篩選；及(5)藉由PCR、ELISA及西方墨點法測定

rRCNV-PRRS$_{btw}$之分子特徵。或者，可使用白-至-藍蝕斑途徑，其中實施以下五個主要步驟：(1)將PRRSV ISU12及Olot/91株之ORF5及ORF6、FeLV P27選殖入質粒pFD2000A及/或pFD2003SEL中；(2)構建質粒pFD2000A FeLV P27 (P_{11})-PRRS ORF5 (Olot)(P_{SEL})-ORF6 (P_{SEL})-ORF5 (P_{SEL})或pFD2000A PRRS ORF5 (Olot)(P_{SEL})-ORF6 (P_{SEL})-ORF5//LacZ ($P_{7.5}$)；(3)藉由三方面感染/轉染創建純系庫：COS7細胞、步驟2中之質粒及RCNV；(4)藉由有限稀釋及FeLV P27 ELISA或LacZ實施純系篩選；及(5)藉由PCR、ELISA及西方墨點法測定rRCNV-PRRS$_{wtb}$之分子特徵。

本發明rRCNV-PRRS-PCV可藉由以下五個主要步驟構建：(1)將PRRSV ISU12及Olot/91株之ORF5、ORF6、ORF3及PCV2 ORF2(衣殼基因)選殖入質粒pFD2000A及/或pFD2003SEL中；(2)構建質粒pFD2000A PRRS ORF3 (P_{11})-ORF5 (Olot)(P_{SEL})-ORF6 (P_{SEL})-ORF5 (P_{SEL})-PCV2 ORF2 (P_{11}或P_{SEL})；(3)藉由三方面感染/轉染創建純系庫：COS7細胞、步驟2中之質粒及RCNV；(4)藉由有限稀釋及PCV2 ELISA(作為篩選標籤)實施純系篩選；及(5)藉由PCR、ELISA及西方墨點法測定rRCNV-PRRS$_{pcv}$之分子特徵。或者，可使用白-至-藍蝕斑途徑，其中實施以下四個主要步驟：(1)將PCV2 ORF2選殖入質粒pFD2001TK或pFD2006TK中以產生質粒pFD2001TK PCV ORF2；(2)藉由三方面感染/轉染創建純系庫：COS7細胞、步驟1中之質粒及rRCNV-

PRRS ORF3 (P_{11})-ORF5 (Olot)(P_{SEL})-ORF6 (P_{SEL})-ORF5 (P_{SEL})；(3)藉由有限稀釋及PCV2 ELISA或LacZ實施純系篩選；及(5)藉由PCR、ELISA及西方墨點法測定rRCNV-PRRS//PCV之分子特徵。

實例

以下實例展示本發明之某些態樣。然而，應瞭解該等實例僅用於闡釋而非欲將本發明完全限定於該等條件及範圍。應瞭解，當給出典型反應條件(例如，溫度、反應時間等)時，亦可使用規定範圍以上及以下二者之條件，雖然通常較為不適宜。該等實例係在室溫(約23℃至約28℃)及大氣壓力下實施。除非另有說明，否則本文所提及之所有份數及百分比皆以重量計且所有溫度皆以攝氏度數表示。

實例1：構建rRCNV-PRRS(藍-至-白蝕斑途徑)

rRCNV-$PRRS_{btw}$係藉由以下五個主要步驟構建：(1)將PRRSV ISU12 (Iowa)及Olot/91(西班牙分離株)株之ORF5、ORF6、ORF7或ORF3選殖入質粒pFD2000A及/或pFD2003SEL中；(2)構建質粒pFD2000A PRRS ORF7或ORF3 (P_{11})-ORF5 (Olot)(P_{SEL})-ORF6 (P_{SEL})-ORF5 (P_{SEL})；(3)藉由三方面感染/轉染創建純系庫：COS7細胞、步驟2中之質粒及rRCNV-FeLV；(4)藉由有限稀釋及藍-至-白蝕斑途徑實施純系篩選；及(5)藉由PCR、ELISA及西方墨點法測定rRCNV-$PRRS_{btw}$之分子特徵。

該藍-至-白蝕斑篩選途徑使用具有FeLV $P27^+$表型(在

FeLV P27 ELISA中為藍色)之親本病毒rRCNV-FeLV。通過介於rRCNV-FeLV與pFD200A PRRS ORF7- ORF5 (Olot)-ORF6-ORF5之間之RCNV HA側翼序列的同源重組，重組rRCNV-PRRS之表型將自藍蝕斑變成白蝕斑，因為PRRSV ORF嵌入*ha*基因座以替代親本株中之FeLV gag-env gp85序列(rRCNV-FeLV-藍蝕斑)。

實例2：構建rRCNV-PRRS(白-至-藍蝕斑途徑)

rRCNV-PRRS$_{wtb}$係藉由以下五個主要步驟構建：(1)將PRRSV ISU12及Olot/91株之ORF5及ORF6、FeLV P27選殖入質粒pFD2000A及/或pFD2003SEL中；(2)構建質粒pFD2000A FeLV P27 (P_{11})-PRRS ORF5 (Olot)(P_{SEL})-ORF6 (P_{SEL})-ORF5 (P_{SEL})；(3)藉由三方面感染/轉染創建純系庫：COS7細胞、步驟2中之質粒及RCNV；(4)藉由有限稀釋及FeLV P27 ELISA或LacZ實施純系篩選；及(5)藉由PCR、ELISA及西方墨點法測定rRCNV-PRRS$_{wtb}$之分子特徵。

該白-至-藍蝕斑篩選途徑使用具有FeLV P27^{+}或LacZ表型(在FeLV P27 ELISA或LacZ^{+}表型中為藍色)之重組病毒rRCNV-PRRS$_{wtb}$，而野生型RCNV在FeLV P27 ELISA或LacZ染色中顯示白色。

實例3：構建rRCNV-PRRS-PCV

rRCNV-PRRS$_{pcv}$係藉由以下五個主要步驟構建：(1)將PRRSV ISU12及Olot/91株之ORF5、ORF6、ORF3及PCV2 ORF2(衣殼基因)選殖入質粒pFD2000A及/或pFD2003SEL

中；(2)構建質粒pFD2000A PRRS ORF3 (P_{11})-ORF5 (Olot)(P_{SEL})-ORF6 (P_{SEL})-ORF5 (P_{SEL})-PCV2 ORF2(P_{11}或P_{SEL})；(3)藉由三方面感染/轉染創建純系庫：COS7細胞、步驟2中之質粒及RCNV；(4)藉由有限稀釋及PCV2 ELISA(作為篩選標籤)實施純系篩選；及(5)藉由PCR、ELISA及西方墨點法測定rRCNV-$PRRS_{pcv}$之分子特徵。

該PCV2途徑使用PCV-2衣殼ELISA作為單標籤來篩選純系且用以在一個病毒構建體中創建rRCNV-PRRS/PCV之新穎組合疫苗。

或者，該rRCNV-$PRRS_{pcv}$係藉由以下四個主要步驟構建：(1)將PCV2 ORF2(衣殼基因)選殖入質粒pFD2001TK及/或pFD2006TK中以產生質粒pFD2001TK PCV2 ORF2(P_{11}或P_{SEL})；(2)藉由三方面感染/轉染創建純系庫：COS7細胞、步驟1中之質粒及rRCNV-PRRS；(3)藉由有限稀釋及PCV2 ELISA(作為篩選標籤)實施純系篩選；及(4)藉由PCR、ELISA及西方墨點法測定rRCNV-PRRS//PCV之分子特徵。

實例4：rRCNV-PRRS候選疫苗在豬中之功效研究

在有或無免疫增強佐劑下調配上述構建體(rRCNV-$PRRS_{btw}$、rRCNV-$PRRS_{wtb}$及rRCNV-$PRRS_{pcv}$)並在豬中評價疫苗功效。攻擊研究之成功結果將顯示重組PRRS、PCV或組合疫苗在豬中之功效。

實例5：構建rRCNV-PRRSV

簡言之，病毒rRCNV-PRRSV係藉由將豬呼吸與繁殖症候群病毒(PRRSV)ISU 12(美國株)之包膜糖蛋白(orf 5)基因

及基質蛋白(orf 6)基因及PRRSV Olot 91(歐洲株)基因之包膜糖蛋白(orf 5)基因嵌入RCNV基因組(無毒性Herman株)之血凝集*(ha)*基因座中來構建。

rRCNV-PRRSV之構建過程通過兩個主要步驟來提供。第一，將PRRSV ISU 12株之經PCR擴增之603-bp orf 5及525-bp orf6及PRRSV Olot 91株之606-bp orf 5亞選殖入質粒pFD2003SEL載體(在啓動子P11控制下含有lacZ報告基因)中以產生質粒pFD2003SEL-PRRSV Olot 91 orf5-(SEL)-ISU 12 orf 6 (SEL)-ISU 12 orf 5 (SEL)。PRRSV ISU 12 orf 5及orf 6及PRRSV Olo 91 orf 5基因二者均在啓動子P_{SEL}控制下共表現。第二，實施COS-7細胞中之rRCNV-FCV (2280-DD1)及質粒pFD2003SEL-PRRSV Olot 91 orf5-(SEL)-ISU 12 orf 6 (SEL)-ISU 12 orf 5 (SEL)之三方面共感染/轉染以藉由*ha*基因座處之等位基因交換產生rRCNV-PRRSV。藉由五個蝕斑純化相繼循環在非洲綠猴腎細胞中選殖藍蝕斑(Lac^+)。將候選純系在非洲綠猴腎細胞中使用補充有0.05%乳清蛋白水解產物(LAH)、30 μg/mL硫酸慶大黴素及5%胎牛血清之最低必需培養基(MEM)進一步再擴展兩次，且其後藉由基因特異性PCR證實。第七通道用以製備預備種源。種源係藉由對預備種源及指定rRCNV-PRRSV分別實施1:20,000稀釋建立，其中作為活載體之浣熊痘病毒能夠表現在*ha*基因座處之PRRSV ISU 12及Olot 91株之PRRSV包膜糖蛋白(orf 5)及基質蛋白(M)。PRRSV疫苗之種源病毒活浣熊痘病毒載體(rRCNV-PRRSV)係藉由

PRRSV orf 5或orf 6基因特異性PCR測試確定。正在仔豬及母豬中實施豬呼吸與繁殖症候群病毒疫苗之免疫原性研究(活/不活化浣熊痘病毒載體單獨或其與Suvaxyn PCV2 One Dose及或Suvaxyn MH-one、或活嵌合cPCV1-2及或經修飾之活豬肺炎黴漿菌(例如，J株)之組合)。

實例6：豬繁殖與呼吸症候群病毒疫苗在仔豬中之免疫原性研究，活浣熊痘病毒載體單獨或其與Suvaxyn PCV2 One Dose之組合

為展示PRRSV部分之功效，將以兩次劑量方案以2-3週為間隔向豬投與rRCNV-PRRSV疫苗(凍乾的餅)及作為稀釋劑之含佐劑之無菌水或Suvaxyn PCV2 One Dose，繼之在第二次疫苗接種後實施毒性PRRSV攻擊或PRRSV/PCV2共攻擊2-3週。rRCNV-PRRSV部分之功效將基於PRRSV病毒血症減輕及由PRRSV引起之肺損傷減輕來評價。Suvaxyn® PCV2 One含有用FDAH之專利佐劑調配之不活化豬第一型-第二型環狀病毒嵌合體(cPCV1-2)。

材料及方法

測試動物

至少40隻(20隻疫苗接種及20隻對照)混合飼養雄性及雌性常見豬(3週齡或更大)用於該研究。用於該研究之豬將自商業農場購得且使用耳標標識。將自單個來源畜群獲得豬。在第一次疫苗接種時，如藉由IDEXX HerdCheck ELISA套組(S/P比率小於0.4)所測定，豬對PRRSV為血清陰性。

測試疫苗測試疫苗之組成

凍乾部分：該疫苗由活rRCNV-PRRSV組成。將在五份平行測定分析中滴定疫苗之病毒效價以確定研究中之投與劑量。液體部分：稀釋劑為Suvaxyn PCV2 One Dose或20%之SL-CD佐劑。在疫苗接種時，將rRCNV-PRRSV之凍乾部分用液體部分再水化。

研究設計

所提出之研究為隨機化完全區組設計(優效性試驗)。將同胎幼仔分配至每一研究平行測定中。隨後將每研究中同胎幼仔內之仔豬如下分成兩個群組：

群組	疫苗	動物數量
VI-疫苗接種	凍乾rRCNV-PRRSV(餅)+Suvaxyn PCV2 One Dose	≥20
C1-對照	Suvaxyn PCV2 One Dose(稀釋劑)	≥20
V2-疫苗接種	凍乾rRCNV-PRRSV(餅)+水-SL-CD佐劑(稀釋劑)	≥20
C2-對照	水-SL-CD佐劑(稀釋劑)	≥20

疫苗接種

疫苗接種途徑為在頸右側上之肌內。

對於研究1中之豬：將給予群組V1兩次2.0 mL劑量之rRCNV-PRRSV+Suvaxyn PCV2 One Dose；將給予對照群組C1中之豬兩次2.0 mL劑量之Suvaxyn PCV2 One Dose。

對於研究2中之豬：將給予群組V2兩次2.0 mL劑量之rRCNV-PRRSV+水/SL-CD；將給予對照群組C2中之豬兩次2.0 mL劑量之水-SL-CD佐劑。

第一次疫苗接種將在3週齡時實施，且重複疫苗接種將在2-3週之後。

攻擊

所有動物將在第二次疫苗接種後兩週至三週實施毒性攻擊。

用至少$2\times10^{4.8}$ $FAID_{50}$之野生型病原性PCV2(40895株)及用至少$2\times10^{4.0}$ $TCID_{50}$之PRRSV(ISU-12或等效物)對群組V1及C1中之豬進行攻擊。在攻擊之前將該等兩種攻擊材料在一起混合至少30分鐘。攻擊劑量為鼻內4 mL(2 mL/鼻孔)。

用至少$2\times10^{4.0}$ $TCID_{50}$之PRRSV(ISU-12或等效物)對群組V2及C2中之豬進行攻擊。攻擊劑量為鼻內2 mL(1 mL/鼻孔)。攻擊報告參見附件2。

在攻擊之日藉由PCV2-特異性及PRRSV-特異性間接免疫螢光分析(IFA)對攻擊病毒實施滴定。

觀測

在攻擊後(DPC)第-2天至第10天每天觀測所有豬之臨床體徵及溫度。將任何異常觀測報告給研究主管或農場獸醫。

所監測之臨床體徵可包括但不限於食慾不振、嗜睡、抑鬱症、腹瀉、噴嚏、咳嗽、流鼻涕、眼分泌物、呼吸困難及死亡。若任何豬在攻擊後觀測時間段期間死亡，則將實施屍檢且屍檢報告附於最後報告中。

樣品收集及測試

樣品收集

鼻擦拭物

在PRRSV及PCV2分離株第一次疫苗接種後(DPV1)第0天收集鼻擦拭物以確保在疫苗接種之前測試動物中無PRRSV或PCV2感染。

將鼻擦拭物樣品放置於含有3 mL MEM之單獨滅菌管中並在-50℃下或低於-50℃下儲存直至測試，該MEM中含有乳清蛋白水解產物(LAH)及慶大黴素(60 μg/mL)、青黴素(100 U/mL)及鏈黴素(100 μg/mL)。

血清樣品

在0 DPV1、0 DPV2、7 DPV2、14 DPV2、-1、6及9對豬進行抽血以獲得血清樣品(不多於10 mL)用於ELISA測試且在-1、3、6及9抽血用於PCR測試。

屍檢

將在10-11 DPC對所有動物進行屍檢。收集肺用於肺損傷記分。

樣品測試

酶聯免疫吸附分析(ELISA)

藉由IDEXX® HerdCheck ELISA套組(Westbrook, ME)檢測PRRSV之血清抗體。簡言之，將血清樣品1:40稀釋於樣品稀釋劑中並將100 μL每種樣品一式兩份(一個孔用於PRRSV抗原且一個孔用於正常宿主細胞(NHC)抗原)添加至經抗原塗覆之96-孔板中。在於室溫下30分鐘培育時間段後，將液體倒出並將該等板用約300 μL經磷酸鹽緩衝之洗

滌溶液洗滌3-5次。隨後向所有孔中添加100 μL抗-豬-HRPO偶聯物。將板在室溫下培育30分鐘。在培育時間段後，再次如上洗滌該等板。隨後向每一孔中添加100 μL TMB受質溶液。將該等板在室溫下培育15分鐘之後向所有孔中添加100 μL終止溶液以終止反應。隨後在650 nm處於微量板讀數器上量測光密度(OD)。任意血清效價將以樣品/陽性(S/P)比率報告且藉由使樣品OD-PRRSV減去樣品OD-NHC的數值除以平均陽性對照-PRRSV減去平均陽性對照-NHC的數值來測定。

PCR測試

PRRSV-特異性RT-PCR測試用以檢測血清中PRRSV之存在。RNA提取將在血清樣品上使用QIAamp®病毒RNA Mini套組(Valencia, CA)實施。

肺損傷記分

各個體豬之肺將由兩個獨立記分員針對總肉眼可見損傷基於損傷所改變之肺薄壁組織的量來檢驗。損傷記分員不知情各豬之治療方案一致性。簡言之，每一肺葉中之肺損傷記分將藉由估計展示PRRSV樣損傷(基於顏色及紋理)之肺葉百分比來確定並乘以彼肺葉之可能點值。每一肺葉之最大記分係藉由該肺葉佔總肺體積之相對百分比來測定。隨後將所有肺葉之背側及腹側態樣的記分相加在一起以獲得各豬之總記分。每一動物之可能的最大總記分係100。

一級結果

為主張肺損傷減少，將對肺上所存在之損傷的總記分予

以評定。

二級結果

二級結果為PRRSV病毒血症之發生。

統計學分析

估計量

為對肺損傷嚴重性之降低予以評價，估計量將為減輕部分(MF)統計量。減輕部分將如下計算：

$$MF=\frac{2W_1-n_c(1+n_c+n_v)}{n_c n_v}$$

其中：

W_1=魏克森等級和統計量(Wilcoxon Rank sum statistic)

n_c=對照群組中個體的數量

n_v=每一疫苗接種群組中個體的數量

*注：將對每一研究平行測定之MF統計量予以估計。

計算區間估計之方法的陳述

將計算每一研究平行測定之減輕部分之95%置信區間。

假設陳述

為主張肺損傷嚴重性降低：

H_O: $M_v=M_c$

H_A: $M_v \neq M_c$

其中：

M_v=疫苗接種群組中肺損傷記分等級之中值

M_c=對照群組中肺損傷記分等級之中值

該等研究將測試零假設，即對於每一研究平行測定疫苗

接種群組與安慰劑對照群組之間無肺損傷嚴重性(等級)差異。

其他統計學考慮

豬同胎幼仔分佈將在同胎幼仔內隨機分配。

統計學分析

統計學方法

一級結果

動物內記分之測試再現性將藉由同類相關評定。若認為測試再現性足夠，則將藉由取來自每一記分員之肺記分的平均值計算每只豬之平均肺記分。藉由魏克森等級和以計算之肺記分作為因變量且以所包括之治療作為自變量對每一研究平行測定之兩個治療群組間的計算之肺記分進行比較。若存在足夠完全區組，則將藉由同胎幼仔對該分析實施分級。估計HL偏移。自魏克森統計量估計MF。

二級結果

針對病毒血症發生對二級結果予以評定。單次發生病毒血症將把豬歸類為病毒血症陽性(是或否)。在一般化線性混合模型中以病毒血症發生(是或否)作為二項式因變量且以所包括之治療作為自變量對治療群組間之病毒血症進行比較。若存在足夠完全區組，則將同胎幼仔作為隨機效果協變量包括於模型中。

所有統計學分析將使用SAS系統(SAS Institute公司)實施。顯著性程度設置為$p<0.05$。

在前述中，已出於闡釋而非限制目的提供本發明特定實

施例之詳細闡述。應瞭解，彼等熟習此項技術者基於該揭示內容顯而易見之所有其他修改、分支及等效物皆意欲包括在所主張之本發明範圍內。

【圖式簡單說明】

圖1係pFD2000A-FDAH質粒之核酸序列(SEQ ID NO: 1)

圖2係pFD2001 TK-FDAH質粒之核酸序列(SEQ ID NO: 2)

圖3係pFD2003SEL-FDAH質粒之核酸序列(SEQ ID NO: 3)

圖4係pFD2003SEL-GPV-PV-FDAH質粒之核酸序列(SEQ ID NO: 4)

圖5係PCV2A ORF2-FDAH之核酸序列(SEQ ID NO: 5)

圖6係PCV2B ORF2-FDAH之核酸序列(SEQ ID NO: 6)

圖7係PRRSV ISU12-ORF3-FDAH之核酸序列(SEQ ID NO: 7)

圖8係PRRSV ISU12-ORF4-FDAH之核酸序列(SEQ ID NO: 8)

圖9係PRRSV ISU12-ORF5-FDAH之核酸序列(SEQ ID NO: 9)

圖10係PRRSV ISU12-ORF6-FDAH之核酸序列(SEQ ID NO: 10)

圖11係PRRSV ISU12-ORF7-FDAH之核酸序列(SEQ ID NO: 11)

圖12係PRRSV Olot91-ORF5-FDAH之核酸序列(SEQ ID NO: 12)

序 列 表

<110> 美商惠氏

<120> 表現豬類病毒基因之浣熊痘病毒

<130> AM102713

<140> 097120321
<141> 2008-05-30

<150> 60/932421
<151> 2007-05-30

<160> 12

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1
<211> 6872
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 質粒

<400> 1
ttattggaca ctagataatc atcacatgtt accacaaaat tatataatgt ataaatgcga 60

aattattaaa cgcaaatatc catgggaaaa cgcgcagtat acagacgatt ttttacagta 120

tttggagagt tttataggaa gtatatagag tagaaccaga attttgtaaa aataaatcac 180

atttttatac taatatgaaa caactatcga tagttatatt gctactatcg atagtatata 240

caaccaaacc tcatcctaca cagatatcaa aaaaactagg cgatgatgct actctatcgt 300

gtaatagaaa caatacacat ggatatcttg tcatgagttc ttggtataag aaaccagact 360

ccattattct cttagcagcc aaaaacgatg tcgtatactt tgatgattat acagcggata 420

aagtatcata cgattcaccg tatgatactc tagctacaat tattacaatt aaatcattga 480

catctggaga tgcaggtact tatatatgcg cattctttat aacatcaaca aatgatacgg 540

ataaaataga ttatgaagaa ttcgtcgacg cggccgcctg cagaagcttg gtaccattta 600

tagcatagaa aaaaacaaaa tgaaattcta ctatattttt acatacatat attctaaata 660

tgaaagtggt gattgtgact agcgtagcat cgcttctaga catctatata ctatatagta 720

ataccaatac tcaagactac gaaactgata caatctctta tcatgtgggt aatgttctcg 780

atgtcgatag ccatatgccc ggtagttgcg atatacataa actgatcact aattccaaac 840

ccacccgctt tttatagtaa gtttttcacc cataaataat aaatacaata attaatttct 900

cgtaaaagta gaaaatatat tctaatttat tgcacggtaa ggaagtagaa tcataaagaa 960

cagtgacatg gatcccgtcg ttttacaacg tcgtgactgg gaaaaccctg gcgttaccca 1020

acttaatcgc cttgcagcac atccccctttcgccagctgg cgtaatagcg aagaggcccg 1080

caccgatcgc ccttcccaac agttgcgcag cctgaatggc gaatggcgct ttgcctggtt 1140

tccggcacca gaagcggtgc cggaaagctg gctggagtgc gatcttcctg aggccgatac 1200

tgtcgtcgtc ccctcaaact ggcagatgca cggttacgat gcgcccatct acaccaacgt 1260

aacctatccc attacggtca atccgccgtt tgttcccacg gagaatccga cgggttgtta 1320

ctcgctcaca tttaatgttg atgaaagctg gctacaggaa ggccagacgc gaattatttt 1380

tgatggcgtt aactcggcgt ttcatctgtg gtgcaacggg cgctgggtcg gttacggcca 1440

ggacagtcgt ttgccgtctg aatttgacct gagcgcattt ttacgcgccg gagaaaaccg 1500

cctcgcggtg atggtgctgc gttggagtga cggcagttat ctggaagatc aggatatgtg 1560

gcggatgagc ggcattttcc gtgacgtctc gttgctgcat aaaccgacta cacaaatcag 1620
cgatttccat gttgccactc gctttaatga tgatttcagc cgcgctgtac tggaggctga 1680
agttcagatg tgcggcgagt tgcgtgacta cctacgggta acagtttctt tatggcaggg 1740
tgaaacgcag gtcgccagcg gcaccgcgcc tttcggcggt gaaattatcg atgagcgtgg 1800
tggttatgcc gatcgcgtca cactacgtct caaggtcgaa aacccgaaac tgtggagcgc 1860
cgaaatcccg aatctctatc gtgcggtggt tgaactgcac accgccgacg gcacgctgat 1920
tgaagcagaa gcctgcgatg tcggtttccg cgaggtgcgg attgaaaatg gtctgctgct 1980
gctgaacggc aagccgttgc tgattcgagg cgttaaccgt cacgagcatc atcctctgca 2040
tggtcaggtc atggatgagc agacgatggt gcaggatatc ctgctgatga agcagaacaa 2100
ctttaacgcc gtgcgctgtt cgcattatcc gaaccatccg ctgtggtaca cgctgtgcga 2160
ccgctacggc ctgtatgtgg tggatgaagc caatattgaa acccacggca tggtgccaat 2220
caatcgtctg accgatgatc cgcgctggct accggcgatg agcgaacgcg taacgcgaat 2280
ggtgcagcgc gatcgtaatc acccgagtgt gatcatctgg tcgctgggga atgaatcagg 2340
ccacggcgct aatcacgacg cgctgtatcg ctggatcaaa tctgtcgatc cttcccgccc 2400
ggtgcagtat gaaggcggcg gagccgacac cacggccacc gatattattt gcccgatgta 2460
cgcgcgcgtg gatgaagacc agcccttccc ggctgtgccg aaatggtcca tcaaaaaatg 2520
gctttcgcta cctggagaga cgcgcccgct gatcctttgc gaatacgccc acgcgatggg 2580
taacagtctt ggcggtttcg ctaaatactg gcaggcgttt cgtcagtatc cccgtttaca 2640
gggcggcttc gtctgggact gggtggatca gtcgctgatt aaatatgatg aaaacggcaa 2700
cccgtggtcg gcttacggcg gtgattttgg cgatacgccg aacgatcgcc agttctgtat 2760
gaacggtctg gtctttgccg accgcacgcc gcatccagcg ctgacggaag caaaacacca 2820
gcagcagttt ttccagttcc gtttatccgg gcaaaccatc gaagtgacca gcgaatacct 2880
gttccgtcat agcgataacg agctcctgca ctggatggtg gcgctggatg gtaagccgct 2940
ggcaagcggt gaagtgcctc tggatgtcgc tccacaaggt aaacagttga ttgaactgcc 3000
tgaactaccg cagccggaga gcgccgggca actctggctc acagtacgcg tagtgcaacc 3060
gaacgcgacc gcatggtcag aagccgggca catcagcgcc tggcagcagt ggcgtctggc 3120
ggaaaacctc agtgtgacgc tccccgccgc gtcccacgcc atcccgcatc tgaccaccag 3180
cgaaatggat ttttgcatcg agctgggtaa taagcgttgg caatttaacc gccagtcagg 3240
ctttctttca cagatgtgga ttggcgataa aaaacaactg ctgacgccgc tgcgcgatca 3300
gttcacccgt gcaccgctgg ataacgacat tggcgtaagt gaagcgaccc gcattgaccc 3360
taacgcctgg gtcgaacgct ggaaggcggc gggccattac caggccgaag cagcgttgtt 3420
gcagtgcacg gcagatacac ttgctgatgc ggtgctgatt acgaccggtc acgcgtggca 3480
gcatcagggg aaaaccttat ttatcagccg gaaaacctac cggattgatg gtagtggtca 3540
aatggcgatt accgttgatg ttgaagtggc gagcgataca ccgcatccgg cgcggattgg 3600
cctgaactgc cagctggcgc aggtagcaga gcgggtaaac tggctcggat tagggccgca 3660
agaaaactat cccgaccgcc ttactgccgc ctgttttgac cgctgggatc tgccattgtc 3720
agacatgtat accccgtacg tcttcccgag cgaaaacggt ctgcgctgcg ggacgcgcga 3780

attgaattat ggcccacacc agtggcgcgg cgacttccag ttcaacatca gccgctacag 3840
tcaacagcaa ctgatggaaa ccagccatcg ccatctgctg cacgcggaag aaggcacatg 3900
gctgaatatc gacggtttcc atatggggat tggtggcgac gactcctgga gcccgtcagt 3960
atcggcggaa ttccagctga gcgccgttcg ctaccattac cagttggtct ggtgtcaaaa 4020
ataaggatcc tcgataccaa caacggtaga aagtgttaca atatctacta caaaatatac 4080
aactagtgac tttatagaga tatttggcat tgtttcacta attttattat tggccgtggc 4140
gattttctgt attatatatt atttctgtag tggacggtct cgtaaacaag aaacaaatat 4200
attatagatt ttaactcaga taaatgtctg gaataattaa atctatcgtt ttgagcggac 4260
catctggttc cggcaagaca gctatagtca ggagactctt acaagattat ggaaatatat 4320
ttggatttgt ggtatcccat accactagat ttcctcgtcc tatggaacga gaaggtgtcg 4380
tctaccatta cgttaacaga gaggccattt ggaagggaat agccgctgga aacttgctag 4440
aacatacaga gtttttggga aatatttatg ggacttctaa aacatccatg aacacagctg 4500
ctattaataa tcgtatatgt gttatggatt taaacattga cggagttagg agtcttaaaa 4560
acacatactt gatgccttac tctgtttata taagacctac atctcttaaa atggtagaaa 4620
ctgcatgccc tgatgcggta ttttctcctt acgcatctgt gcggtatttc acaccgcata 4680
tggtgcactc tcagtacaat ctgctctgat gccgcatagt taagccagcc ccgacacccg 4740
ccaacacccg ctgacgcgcc ctgacgggct tgtctgctcc cggcatccgc ttacagacaa 4800
gctgtgaccg tctccgggag ctgcatgtgt cagaggtttt caccgtcatc accgaaacgc 4860
gcgagacgaa agggcctcgt gatacgccta tttttatagg ttaatgtcat gataataatg 4920
gtttcttaga cgtcaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc gcggaacccc tatttgttta 4980
ttttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg ataaatgctt 5040
caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc ccttattccc 5100
ttttttgcgg cattttgcct tcctgttttt gctcacccag aaacgctggt gaaagtaaaa 5160
gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg aactggatct caacagcggt 5220
aagatccttg agagttttcg ccccgaagaa cgttttccaa tgatgagcac ttttaaagtt 5280
ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtatt gacgccgggc aagagcaact cggtcgccgc 5340
atacactatt ctcagaatga cttggttgag tactcaccag tcacagaaaa gcatcttacg 5400
gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa ccatgagtga taacactgcg 5460
gccaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc taaccgcttt tttgcacaac 5520
atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga agccatacca 5580
aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa caacgttgcg caaactatta 5640
actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa tagactggat ggaggcggat 5700
aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg gctggtttat tgctgataaa 5760
tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag cactggggcc agatggtaag 5820
ccctcccgta tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg caactatgga tgaacgaaat 5880
agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt ggtaactgtc agaccaagtt 5940
tactcatata tactttagat tgatttaaaa cttcattttt aatttaaaag gatctaggtg 6000
aagatccttt ttgataatct catgaccaaa atcccttaac gtgagttttc gttccactga 6060

gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag atccttttt tctgcgcgta 6120

atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg tggtttgttt gccggatcaa 6180

gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca gagcgcagat accaaatact 6240

gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc accgcctaca 6300

tacctcgctc tgctaatcct gttaccagtg gctgctgcca gtggcgataa gtcgtgtctt 6360

accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcggtcggg ctgaacgggg 6420

ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca ccgaactgag atacctacag 6480

cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaagggagaa aggcggacag gtatccggta 6540

agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc cagggggaaa cgcctggtat 6600

ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc gtcgattttt gtgatgctcg 6660

tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg cctttttacg gttcctggcc 6720

ttttgctggc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat cccctgattc tgtggataac 6780

cgtattaccg cctttgagtg agctgatacc gctcgccgca gccgaacgac cgagcgcagc 6840

gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagagc tc 6872

<210> 2
<211> 5508
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 質粒

<400> 2
gagctcataa atagtaaacc gatagtgtat aaagattgtg caatgctttt gcgatcaata 60

aatggatcac aaccagtatc tgttgacgat gttcttcgca gatgatgatt catttttaa 120

atatttagct agtcaagacg atgaatcttc attatccgat atattgcaaa ttacccaata 180

tcttgatttt ttattgttgt tattgataca gtcaaaaaat aaactagagg ctgtaggtca 240

ttgttatgaa tctctttcgg aggaatatag acaattggcg aaatttacag acactcaaga 300

gtttaaaaaa ctatttaata aggttcctat tgctacagac ggacgcgtta aacttaataa 360

agggtattta tttgactttg ttgtcagtat gatgagattt aaaaaagagt catctataat 420

accaaacata gatccggttc gatacataga tcctcgtcga gatatagtat tttctaacgt 480

aatggatata ttaaagtcta ataaagtgaa caataattaa atttttattg tcacctagga 540

attcgtcgac gcggccgcct gcagaagctt ggtaccattt atattccaaa aaaaaaaaat 600

aaaatttcaa tttttacata catatattct aaatatgaaa gtggtgattg tgactagcgt 660

agcatcgctt ctagacatct atatactata tagtaatacc aatactcaag actacgaaac 720

tgatacaatc tcttatcatg tgggtaatgt tctcgatgtc gatagccata tgcccggtag 780

ttgcgatata cataaactga tcactaattc caaacccacc cgcttttttat agtaagtttt 840

tcacccataa ataataaata caataattaa tttctcgtaa aagtagaaaa tatattctaa 900

tttattgcac ggtaaggaag tagaatcata aagaacagtg acatggatcc ggtccgtcct 960

gtagaaaccc caacccgtga aatcaaaaaa ctcgacggcc tgtgggcatt cagtctggat 1020

cgcgaaaact gtggaattga tcagcgttgg tgggaaagcg cgttacaaga aagccgggca 1080

attgctgtgc caggcagttt taacgatcag ttcgccgatg cagatattcg taattatgcg 1140
ggcaacgtct ggtatcagcg cgaagtcttt ataccgaaag gttgggcagg ccagcgtatc 1200
gtgctgcgtt tcgatgcggt cactcattac ggcaaagtgt gggtcaataa tcaggaagtg 1260
atggagcatc agggcggcta tacgccattt gaagccgatg tcacgccgta tgttattgcc 1320
gggaaaagtg tacgtatcac cgtttgtgtg aacaacgaac tgaactggca gactatcccg 1380
ccgggaatgg tgattaccga cgaaaacggc aagaaaaagc agtcttactt ccatgatttc 1440
tttaactatg ccggaatcca tcgcagcgta atgctctaca ccacgccgaa cacctgggtg 1500
gacgatatca ccgtggtgac gcatgtcgcg caagactgta accacgcgtc tgttgactgg 1560
caggtggtgg ccaatggtga tgtcagcgtt gaactgcgtg atgcggatca acaggtggtt 1620
gcaactggac aaggcactag cgggactttg caagtggtga atccgcacct ctggcaaccg 1680
ggtgaaggtt atctctatga actgtgcgtc acagccaaaa gccagacaga gtgtgatatc 1740
tacccgcttc gcgtcggcat ccggtcagtg gcagtgaagg gccaacagtt cctgattaac 1800
cacaaaccgt tctactttac tggctttggt cgtcatgaag atgcggactt acgtggcaaa 1860
ggattcgata acgtgctgat ggtgcacgac cacgcattaa tggactggat tggggccaac 1920
tcctaccgta cctcgcatta cccttacgct gaagagatgc tcgactgggc agatgaacat 1980
ggcatcgtgg tgattgatga aactgctgct gtcggctttt cgctctcttt aggcattggt 2040
ttcgaagcgg gcaacaagcc gaaagaactg tacagcgaag aggcagtcaa cggggaaact 2100
cagcaagcgc acttacaggc gattaaagag ctgatagcgc gtgacaaaaa ccacccaagc 2160
gtggtgatgt ggagtattgc caacgaaccg gatacccgtc cgcaaggtgc acgggaatat 2220
ttcgcgccac tggcggaagc aacgcgtaaa ctcgacccga cgcgtccgat cacctgcgtc 2280
aatgtaatgt tctgcgacgc tcacaccgat accatcagcg atctctttga tgtgctgtgc 2340
ctgaaccgtt attacggatg gtatgtccaa agcggcgatt tggaaacggc agagaaggta 2400
ctggaaaaag aacttctggc ctggcaggag aaactgcatc agccgattat catcaccgaa 2460
tacggcgtgg atacgttagc cgggctgcac tcaatgtaca ccgacatgtg gagtgaagag 2520
tatcagtgtg catggctgga tatgtatcac cgcgtctttg atcgcgtcag cgccgtcgtc 2580
ggtgaacagg tatggaattt cgccgatttt gcgacctcgc aaggcatatt gcgcgttggc 2640
ggtaacaaga aagggatctt cactcgcgac cgcaaaccga agtcggcggc ttttctgctg 2700
caaaaacgct ggactggcat gaacttcggt gaaaaaccgc agcagggagg caaacaatga 2760
ggatccggaa atggtagtaa aactgacagc ggtatgtatg aaatgcttta aagaggcgtc 2820
gttttctaaa cgtttgggaa cggaaaccga gatcgaaata attggtggtg aagatatgta 2880
tcaatccgta tgcagaaagt gttacatcaa cgaatgataa tttttctata aaaaactaaa 2940
aataaacatt gattaaattt taatataata cttaaaaatg gatgttgtgt cactggataa 3000
accgtttatg tattttgagg aaatagataa tgaactagaa tacgaaccag aaagtgcaaa 3060
tgaggttgct aaaaaacttc catatcaggg acaattaaaa ctattactag gagaattgtt 3120
ttttcttagt aagctacaga gacacggtat attggacggt gccactgtag tgtatatagg 3180
atcggctcct ggtacacaca tacgttatct acgtgatcat ttctataatt taggggtaat 3240
catcaaatgg atgctaattg acgggcatgc cctgatgcgg tattttctcc ttacgcatct 3300
gtgcggtatt tcacaccgca tatggtgcac tctcagtaca atctgctctg atgccgcata 3360

gttaagccag ccccgacacc cgccaacacc cgctgacgcg ccctgacggg cttgtctgct 3420
cccggcatcc gcttacagac aagctgtgac cgtctccggg agctgcatgt gtcagaggtt 3480
ttcaccgtca tcaccgaaac gcgcgagacg aaagggcctc gtgatacgcc tatttttata 3540
ggttaatgtc atgataataa tggtttctta gacgtcaggt ggcacttttc ggggaaatgt 3600
gcgcggaacc cctatttgtt tatttttcta atacattca aatatgtatc cgctcatgag 3660
acaataaccc tgataaatgc ttcaataata ttgaaaaagg aagagtatga gtattcaaca 3720
tttccgtgtc gcccttattc cctttttgc ggcattttgc cttcctgttt ttgctcaccc 3780
agaaacgctg gtgaaagtaa aagatgctga agatcagttg ggtgcacgag tgggttacat 3840
cgaactggat ctcaacagcg gtaagatcct tgagagtttt cgccccgaag aacgttttcc 3900
aatgatgagc acttttaaag ttctgctatg tggcgcggta ttatcccgta ttgacgccgg 3960
gcaagagcaa ctcggtcgcc gcatacacta ttctcagaat gacttggttg agtactcacc 4020
agtcacagaa aagcatctta cggatggcat gacagtaaga gaattatgca gtgctgccat 4080
aaccatgagt gataacactg cggccaactt acttctgaca acgatcggag gaccgaagga 4140
gctaaccgct tttttgcaca acatgggggga tcatgtaact cgccttgatc gttgggaacc 4200
ggagctgaat gaagccatac caaacgacga gcgtgacacc acgatgcctg tagcaatggc 4260
aacaacgttg cgcaaactat taactggcga actacttact ctagcttccc ggcaacaatt 4320
aatagactgg atggaggcgg ataaagttgc aggaccactt ctgcgctcgg cccttccggc 4380
tggctggttt attgctgata aatctggagc cggtgagcgt gggtctcgcg gtatcattgc 4440
agcactgggg ccagatggta agccctcccg tatcgtagtt atctacacga cggggagtca 4500
ggcaactatg gatgaacgaa atagacagat cgctgagata ggtgcctcac tgattaagca 4560
ttggtaactg tcagaccaag tttactcata tatactttag attgatttaa aacttcattt 4620
ttaatttaaa aggatctagg tgaagatcct ttttgataat ctcatgacca aaatccctta 4680
acgtgagttt tcgttccact gagcgtcaga ccccgtagaa aagatcaaag gatcttcttg 4740
agatcctttt tttctgcgcg taatctgctg cttgcaaaca aaaaaaccac cgctaccagc 4800
ggtggtttgt ttgccggatc aagagctacc aactcttttt ccgaaggtaa ctggcttcag 4860
cagagcgcag ataccaaata ctgttcttct agtgtagccg tagttaggcc accacttcaa 4920
gaactctgta gcaccgccta catacctcgc tctgctaatc ctgttaccag tggctgctgc 4980
cagtggcgat aagtcgtgtc ttaccgggtt ggactcaaga cgatagttac cggataaggc 5040
gcagcggtcg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttggagc gaacgaccta 5100
caccgaactg agatacctac agcgtgagct atgagaaagc gccacgcttc ccgaagggag 5160
aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaca ggagagcgca cgagggagct 5220
tccaggggga aacgcctggt atctttatag tcctgtcggg tttcgccacc tctgacttga 5280
gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gcggagccta tggaaaaacg ccagcaacgc 5340
ggcctttta cggttcctgg ccttttgctg gccttttgct cacatgttct ttcctgcgtt 5400
atcccctgat tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata ccgctcgccg 5460
cagccgaacg accgagcgca gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaaga 5508

<210> 3

<211> 6820
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 質粒

<400> 3
ttattggaca ctagataatc atcacatgtt accacaaaat tatataatgt ataaatgcga 60
aattattaaa cgcaaatatc catgggaaaa cgcgcagtat acagacgatt ttttacagta 120
tttggagagt tttataggaa gtatatagag tagaaccaga attttgtaaa aataaatcac 180
atttttatac taatatgaaa caactatcga tagttatatt gctactatcg atagtatata 240
caaccaaacc tcatcctaca cagatatcaa aaaaactagg cgatgatgct actctatcgt 300
gtaatagaaa caatacacat ggatatcttg tcatgagttc ttggtataag aaaccagact 360
ccattattct cttagcagcc aaaaacgatg tcgtatactt tgatgattat acagcggata 420
aagtatcata cgattcaccg tatgatactc tagctacaat tattacaatt aaatcattga 480
catctggaga tgcaggtact tatatatgcg cattctttat aacatcaaca aatgatacgg 540
ataaaatага ttatgaagaa ttcgtcgacg cggccgcctg cagaagcttg gtaccatggg 600
tatttatatt ccaaaaaaaa aaaataaaat ttcaattttt gctctagaca tctatatact 660
atatagtaat accaatactc aagactacga aactgataca atctcttatc atgtgggtaa 720
tgttctcgat gtcgatagcc atatgcccgg tagttgcgat atacataaac tgatcactaa 780
ttccaaaccc acccgctttt tatagtaagt ttttcaccca taaataataa atacaataat 840
taatttctcg taaaagtaga aaatatattc taatttattg cacggtaagg aagtagaatc 900
ataaagaaca gtgacatgga tcccgtcgtt ttacaacgtc gtgactggga aaaccctggc 960
gttacccaac ttaatcgcct tgcagcacat ccccctttcg ccagctggcg taatagcgaa 1020
gaggcccgca ccgatcgccc ttcccaacag ttgcgcagcc tgaatggcga atggcgcttt 1080
gcctggtttc cggcaccaga agcggtgccg gaaagctggc tggagtgcga tcttcctgag 1140
gccgatactg tcgtcgtccc ctcaaactgg cagatgcacg gttacgatgc gcccatctac 1200
accaacgtaa cctatcccat tacggtcaat ccgccgtttg ttcccacgga gaatccgacg 1260
ggttgttact cgctcacatt taatgttgat gaaagctggc tacaggaagg ccagacgcga 1320
attatttttg atggcgttaa ctcggcgttt catctgtggt gcaacgggcg ctgggtcggt 1380
tacggccagg acagtcgttt gccgtctgaa tttgacctga gcgcattttt acgcgccgga 1440
gaaaaccgcc tcgcggtgat ggtgctgcgt tggagtgacg gcagttatct ggaagatcag 1500
gatatgtggc ggatgagcgg cattttccgt gacgtctcgt tgctgcataa accgactaca 1560
caaatcagcg atttccatgt tgccactcgc tttaatgatg atttcagccg cgctgtactg 1620
gaggctgaag ttcagatgtg cggcgagttg cgtgactacc tacgggtaac agtttcttta 1680
tggcagggtg aaacgcaggt cgccagcggc accgcgcctt tcggcggtga aattatcgat 1740
gagcgtggtg gttatgccga tcgcgtcaca ctacgtctca aggtcgaaaa cccgaaactg 1800
tggagcgccg aaatcccgaa tctctatcgt gcggtggttg aactgcacac cgccgacggc 1860
acgctgattg aagcagaagc ctgcgatgtc ggtttccgcg aggtgcggat tgaaaatggt 1920
ctgctgctgc tgaacggcaa gccgttgctg attcgaggcg ttaaccgtca cgagcatcat 1980
cctctgcatg gtcaggtcat ggatgagcag acgatggtgc aggatatcct gctgatgaag 2040

cagaacaact ttaacgccgt gcgctgttcg cattatccga accatccgct gtggtacacg 2100
ctgtgcgacc gctacggcct gtatgtggtg gatgaagcca atattgaaac ccacggcatg 2160
gtgccaatca atcgtctgac cgatgatccg cgctggctac cggcgatgag cgaacgcgta 2220
acgcgaatgg tgcagcgcga tcgtaatcac ccgagtgtga tcatctggtc gctggggaat 2280
gaatcaggcc acggcgctaa tcacgacgcg ctgtatcgct ggatcaaatc tgtcgatcct 2340
tcccgcccgg tgcagtatga aggcggcgga gccgacacca cggccaccga tattatttgc 2400
ccgatgtacg cgcgcgtgga tgaagaccag cccttcccgg ctgtgccgaa atggtccatc 2460
aaaaaatggc tttcgctacc tggagagacg cgcccgctga tcctttgcga atacgcccac 2520
gcgatgggta acagtcttgg cggtttcgct aaatactggc aggcgtttcg tcagtatccc 2580
cgtttacagg gcggcttcgt ctgggactgg gtggatcagt cgctgattaa atatgatgaa 2640
aacggcaacc cgtggtcggc ttacggcggt gattttggcg atacgccgaa cgatcgccag 2700
ttctgtatga acggtctggt ctttgccgac cgcacgccgc atccagcgct gacggaagca 2760
aaacaccagc agcagttttt ccagttccgt ttatccgggc aaaccatcga agtgaccagc 2820
gaatacctgt tccgtcatag cgataacgag ctcctgcact ggatggtggc gctggatggt 2880
aagccgctgg caagcggtga agtgcctctg gatgtcgctc cacaaggtaa acagttgatt 2940
gaactgcctg aactaccgca gccggagagc gccgggcaac tctggctcac agtacgcgta 3000
gtgcaaccga acgcgaccgc atggtcagaa gccgggcaca tcagcgcctg gcagcagtgg 3060
cgtctggcgg aaaacctcag tgtgacgctc cccgccgcgt cccacgccat cccgcatctg 3120
accaccagcg aaatggattt ttgcatcgag ctgggtaata agcgttggca atttaaccgc 3180
cagtcaggct ttctttcaca gatgtggatt ggcgataaaa aacaactgct gacgccgctg 3240
cgcgatcagt tcacccgtgc accgctggat aacgacattg gcgtaagtga agcgacccgc 3300
attgacccta acgcctgggt cgaacgctgg aaggcggcgg gccattacca ggccgaagca 3360
gcgttgttgc agtgcacggc agatacactt gctgatgcgg tgctgattac gaccggtcac 3420
gcgtggcagc atcaggggaa aaccttattt atcagccgga aaacctaccg gattgatggt 3480
agtggtcaaa tggcgattac cgttgatgtt gaagtggcga gcgatacacc gcatccggcg 3540
cggattggcc tgaactgcca gctggcgcag gtagcagagc gggtaaactg gctcggatta 3600
gggccgcaag aaaactatcc cgaccgcctt actgccgcct gttttgaccg ctgggatctg 3660
ccattgtcag acatgtatac cccgtacgtc ttcccgagcg aaaacggtct gcgctgcggg 3720
acgcgcgaat tgaattatgg cccacaccag tggcgcggcg acttccagtt caacatcagc 3780
cgctacagtc aacagcaact gatggaaacc agccatcgcc atctgctgca cgcggaagaa 3840
ggcacatggc tgaatatcga cggtttccat atggggattg gtggcgacga ctcctggagc 3900
ccgtcagtat cggcggaatt ccagctgagc gccgttcgct accattacca gttggtctgg 3960
tgtcaaaaat aaggatcctc gataccaaca acggtagaaa gtgttacaat atctactaca 4020
aaatatacaa ctagtgactt tatagagata tttggcattg tttcactaat tttattattg 4080
gccgtggcga ttttctgtat tatatattat ttctgtagtg gacggtctcg taaacaagaa 4140
acaaatatat tatagatttt aactcagata aatgtctgga ataattaaat ctatcgtttt 4200
gagcggacca tctggttccg gcaagacagc tatagtcagg agactcttac aagattatgg 4260

aaatatattt ggatttgtgg tatcccatac cactagattt cctcgtccta tggaacgaga 4320
aggtgtcgtc taccattacg ttaacagaga ggccatttgg aagggaatag ccgctggaaa 4380
cttgctagaa catacagagt ttttgggaaa tatttatggg acttctaaaa catccatgaa 4440
cacagctgct attaataatc gtatatgtgt tatggattta aacattgacg gagttaggag 4500
tcttaaaaac acatacttga tgccttactc tgtttatata agacctacat ctcttaaaat 4560
ggtagaaact gcatgccctg atgcggtatt ttctccttac gcatctgtgc ggtatttcac 4620
accgcatatg gtgcactctc agtacaatct gctctgatgc cgcatagtta agccagcccc 4680
gacacccgcc aacacccgct gacgcgccct gacgggcttg tctgctcccg gcatccgctt 4740
acagacaagc tgtgaccgtc tccgggagct gcatgtgtca gaggttttca ccgtcatcac 4800
cgaaacgcgc gagacgaaag ggcctcgtga tacgcctatt tttataggtt aatgtcatga 4860
taataatggt ttcttagacg tcaggtggca cttttcgggg aaatgtgcgc ggaacccctа 4920
tttgtttatt tttctaaata cattcaaata tgtatccgct catgagacaa taaccctgat 4980
aaatgcttca ataatattga aaaaggaaga gtatgagtat tcaacatttc cgtgtcgccc 5040
ttattcccct ttttgcggca ttttgccttc ctgtttttgc tcacccagaa acgctggtga 5100
aagtaaaaga tgctgaagat cagttgggtg cacgagtggg ttacatcgaa ctggatctca 5160
acagcggtaa gatccttgag agttttcgcc ccgaagaacg ttttccaatg atgagcactt 5220
ttaaagttct gctatgtggc gcggtattat cccgtattga cgccgggcaa gagcaactcg 5280
gtcgccgcat acactattct cagaatgact tggttgagta ctcaccagtc acagaaaagc 5340
atcttacgga tggcatgaca gtaagagaat tatgcagtgc tgccataacc atgagtgata 5400
acactgcggc caacttactt ctgacaacga tcggaggacc gaaggagcta accgcttttt 5460
tgcacaacat gggggatcat gtaactcgcc ttgatcgttg ggaaccggag ctgaatgaag 5520
ccataccaaa cgacgagcgt gacaccacga tgcctgtagc aatggcaaca acgttgcgca 5580
aactattaac tggcgaacta cttactctag cttcccggca acaattaata gactggatgg 5640
aggcggataa agttgcagga ccacttctgc gctcggccct tccggctggc tggtttattg 5700
ctgataaatc tggagccggt gagcgtgggt ctcgcggtat cattgcagca ctggggccag 5760
atggtaagcc ctcccgtatc gtagttatct acacgacggg gagtcaggca actatggatg 5820
aacgaaatag acagatcgct gagataggtg cctcactgat taagcattgg taactgtcag 5880
accaagttta ctcatatata ctttagattg atttaaaact tcatttttaa tttaaaagga 5940
tctaggtgaa gatccttttt gataatctca tgaccaaaat cccttaacgt gagttttcgt 6000
tccactgagc gtcagacccc gtagaaaaga tcaaaggatc ttcttgagat cctttttttc 6060
tgcgcgtaat ctgctgcttg caaacaaaaa aaccaccgct accagcggtg gtttgtttgc 6120
cggatcaaga gctaccaact ctttttccga aggtaactgg cttcagcaga gcgcagatac 6180
caaatactgt tcttctagtg tagccgtagt taggccacca cttcaagaac tctgtagcac 6240
cgcctacata cctcgctctg ctaatcctgt taccagtggc tgctgccagt ggcgataagt 6300
cgtgtcttac cgggttggac tcaagacgat agttaccgga taaggcgcag cggtcgggct 6360
gaacgggggg ttcgtgcaca cagcccagct tggagcgaac gacctacacc gaactgagat 6420
acctacagcg tgagctatga gaaagcgcca cgcttcccga agggagaaag gcggacaggt 6480
atccggtaag cggcagggtc ggaacaggag agcgcacgag ggagcttcca gggggaaacg 6540

cctggtatct ttatagtcct gtcgggtttc gccacctctg acttgagcgt cgatttttgt 6600

gatgctcgtc agggggggcgg agcctatgga aaaacgccag caacgcggcc tttttacggt 6660

tcctggcctt ttgctggcct tttgctcaca tgttctttcc tgcgttatcc cctgattctg 6720

tggataaccg tattaccgcc tttgagtgag ctgataccgc tcgccgcagc cgaacgaccg 6780

agcgcagcga gtcagtgagc gaggaagcgg aagagagctc 6820

<210> 4
<211> 8373
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 質粒

<400> 4
ttattggaca ctagataatc atcacatgtt accacaaaat tatataatgt ataaatgcga 60

aattattaaa cgcaaatatc catgggaaaa cgcgcagtat acagacgatt ttttacagta 120

tttggagagt tttataggaa gtatatagag tagaaccaga attttgtaaa aataaatcac 180

atttttatac taatatgaaa caactatcga tagttatatt gctactatcg atagtatata 240

caaccaaacc tcatcctaca cagatatcaa aaaaactagg cgatgatgct actctatcgt 300

gtaatagaaa caatacacat ggatatcttg tcatgagttc ttggtataag aaaccagact 360

ccattattct cttagcagcc aaaaacgatg tcgtatactt tgatgattat acagcggata 420

aagtatcata cgattcaccg tatgatactc tagctacaat tattacaatt aaatcattga 480

catctggaga tgcaggtact tatatatgcg cattctttat aacatcaaca aatgatacgg 540

ataaaataga ttatgaagaa ttcgtcgact cacagtccgg tctcaccccc gctcttgtat 600

gattcccatg aagatatgat cttcccgctt tggggagtga ctgacacctc cctccctgtc 660

cctctgagat tgtgttgtgt aggttccgat cgattgactc ttctccagca tgtcatcagg 720

aaaattatca acatcaaggc agtcagggcc cctgcactca gtaatacata cttcccccag 780

ttcgggagac ccaagtcaac tcctgagatc cgttcgtgca catcgggaag gtgaacttca 840

acaaaatcct cagcctcgtc accgttcttg aaaacggtag acgggtctgc cagggggtgc 900

ataaggggga taaccgagga taccaacaac tccatatgtt gctggaggag ggatgattgc 960

atctctggga ttaagacatt gccgtcaggt cctaatatta taccattgaa aaatacccgg 1020

tttacatgag gatgacacct ccccccaact cttaaacacc cttttgaagg gatgatctca 1080

ttccaagttc tgactgactt gtagtgagca tcggcttcca tcaaggtctt gttgaatatg 1140

gtatatgctt ttccaaaccc agggacaagt tttcttaaat gactgagacg tctgaaactc 1200

actgacttgg tggtcatgat ggactctagt gcatccagac actcctctct cttcttgacc 1260

aactcctcta caacaaggtg ctcaatttcg tctgagcgaa agtcgtgcaa attgatcaac 1320

tgaccgggag ggcaccattt ggtttcattt gatgtttgca tcgagaccca tgttccatcc 1380

ataagtctaa gtccgagaac tccacataac tggagtttgc atgctccttt taaagactta 1440

tataggcctc tttcatctac aaagccgcaa gtctcactcc ctttggatgc tctcttccct 1500

ctactattgg taaaaatgtc acaagacatc cctagtctcg gattctcggg catccaaatg 1560

gtgtaatcgt ggttagtgga gcagtaggta gaagacaccg ctactcctga gcacttcccg 1620

ccagggaaga ccctcgagtg aagggatctg tcatatgggt ccaaatctgc cacacttgga 1680
gatatgataa cgagagactc cttggtggtt tttacagttc gaagccagtg gtagtcaggg 1740
tacggattgt gtagagactc ttcatatctg gggtcaccgg ccatcttcca gttgtacgcg 1800
gctctacatg catctggtgt tgggcggaaa tgctttcttt tgaacgtggt tgtgacataa 1860
ccaacgaagt tagtgtaggt ttcagcctcc gtcacaacgc ctgtgcaagt gaacccgttc 1920
atttttatgg ctgagatgta tccaacttta agttccatgt aggagaaccc tgacaggttg 1980
gtgcatcctt cgtcctccac taccaaattg tttgggcagc tgaggtgatg tatgtcaatc 2040
gggctccagg gaccaagctt gtctggtatc gtgtaaatag ggaatttccc aaaacacaat 2100
ggaaaaacca gaaggggtac aaacaggaga gcctgaggaa ccggtaccat gggtatttat 2160
attccaaaaa aaaaaaataa aatttcaatt tttgctctag acatctatat actatatagt 2220
aataccaata ctcaagacta cgaaactgat acaatctctt atcatgtggg taatgttctc 2280
gatgtcgata gccatatgcc cggtagttgc gatatacata aactgatcac taattccaaa 2340
cccacccgct ttttatagta agtttttcac ccataaataa taaatacaat aattaatttc 2400
tcgtaaaagt agaaaatata ttctaattta ttgcacggta aggaagtaga atcataaaga 2460
acagtgacat ggatcccgtc gttttacaac gtcgtgactg ggaaaaccct ggcgttaccc 2520
aacttaatcg ccttgcagca catccccctt tcgccagctg gcgtaatagc gaagaggccc 2580
gcaccgatcg cccttcccaa cagttgcgca gcctgaatgg cgaatggcgc tttgcctggt 2640
ttccggcacc agaagcggtg ccggaaagct ggctggagtg cgatcttcct gaggccgata 2700
ctgtcgtcgt cccctcaaac tggcagatgc acggttacga tgcgcccatc tacaccaacg 2760
taacctatcc cattacggtc aatccgccgt ttgttcccac ggagaatccg acgggttgtt 2820
actcgctcac atttaatgtt gatgaaagct ggctacagga aggccagacg cgaattattt 2880
ttgatggcgt taactcggcg tttcatctgt ggtgcaacgg gcgctgggtc ggttacggcc 2940
aggacagtcg tttgccgtct gaatttgacc tgagcgcatt tttacgcgcc ggagaaaacc 3000
gcctcgcggt gatggtgctg cgttggagtg acggcagtta tctggaagat caggatatgt 3060
ggcggatgag cggcattttc cgtgacgtct cgttgctgca taaaccgact acacaaatca 3120
gcgatttcca tgttgccact cgctttaatg atgatttcag ccgcgctgta ctggaggctg 3180
aagttcagat gtgcggcgag ttgcgtgact acctacgggt aacagtttct ttatggcagg 3240
gtgaaacgca ggtcgccagc ggcaccgcgc ctttcggcgg tgaaattatc gatgagcgtg 3300
gtggttatgc cgatcgcgtc acactacgtc tcaaggtcga aaacccgaaa ctgtggagcg 3360
ccgaaatccc gaatctctat cgtgcggtgg ttgaactgca caccgccgac ggcacgctga 3420
ttgaagcaga agcctgcgat gtcggtttcc gcgaggtgcg gattgaaaat ggtctgctgc 3480
tgctgaacgg caagccgttg ctgattcgag gcgttaaccg tcacgagcat catcctctgc 3540
atggtcaggt catggatgag cagacgatgg tgcaggatat cctgctgatg aagcagaaca 3600
actttaacgc cgtgcgctgt tcgcattatc cgaaccatcc gctgtggtac acgctgtgcg 3660
accgctacgg cctgtatgtg gtggatgaag ccaatattga aacccacggc atggtgccaa 3720
tcaatcgtct gaccgatgat ccgcgctggc taccggcgat gagcgaacgc gtaacgcgaa 3780
tggtgcagcg cgatcgtaat cacccgagtg tgatcatctg gtcgctgggg aatgaatcag 3840
gccacggcgc taatcacgac gcgctgtatc gctggatcaa atctgtcgat ccttcccgcc 3900

cggtgcagta tgaaggcggc ggagccgaca ccacggccac cgatattatt tgcccgatgt 3960
acgcgcgcgt ggatgaagac cagcccttcc cggctgtgcc gaaatggtcc atcaaaaaat 4020
ggctttcgct acctggagag acgcgcccgc tgatcctttg cgaatacgcc cacgcgatgg 4080
gtaacagtct tggcggtttc gctaaatact ggcaggcgtt tcgtcagtat ccccgtttac 4140
agggcggctt cgtctgggac tgggtggatc agtcgctgat taaatatgat gaaaacggca 4200
acccgtggtc ggcttacggc ggtgattttg gcgatacgcc gaacgatcgc cagttctgta 4260
tgaacggtct ggtctttgcc gaccgcacgc cgcatccagc gctgacggaa gcaaaacacc 4320
agcagcagtt tttccagttc cgtttatccg ggcaaaccat cgaagtgacc agcgaatacc 4380
tgttccgtca tagcgataac gagctcctgc actggatggt ggcgctggat ggtaagccgc 4440
tggcaagcgg tgaagtgcct ctggatgtcg ctccacaagg taaacagttg attgaactgc 4500
ctgaactacc gcagccggag agcgccgggc aactctggct cacagtacgc gtagtgcaac 4560
cgaacgcgac cgcatggtca gaagccgggc acatcagcgc ctggcagcag tggcgtctgg 4620
cggaaaacct cagtgtgacg ctccccgccg cgtcccacgc catcccgcat ctgaccacca 4680
gcgaaatgga tttttgcatc gagctgggta ataagcgttg gcaatttaac cgccagtcag 4740
gctttctttc acagatgtgg attggcgata aaaaacaact gctgacgccg ctgcgcgatc 4800
agttcacccg tgcaccgctg gataacgaca ttggcgtaag tgaagcgacc cgcattgacc 4860
ctaacgcctg ggtcgaacgc tggaaggcgg cgggccatta ccaggccgaa gcagcgttgt 4920
tgcagtgcac ggcagataca cttgctgatg cggtgctgat tacgaccggt cacgcgtggc 4980
agcatcaggg gaaaacctta tttatcagcc ggaaaaccta ccggattgat ggtagtggtc 5040
aaatggcgat taccgttgat gttgaagtgg cgagcgatac accgcatccg gcgcggattg 5100
gcctgaactg ccagctggcg caggtagcag agcgggtaaa ctggctcgga ttagggccgc 5160
aagaaaacta tcccgaccgc cttactgccg cctgttttga ccgctgggat ctgccattgt 5220
cagacatgta taccccgtac gtcttcccga gcgaaaacgg tctgcgctgc gggacgcgcg 5280
aattgaatta tggcccacac cagtggcgcg gcgacttcca gttcaacatc agccgctaca 5340
gtcaacagca actgatggaa accagccatc gccatctgct gcacgcggaa gaaggcacat 5400
ggctgaatat cgacggtttc catatgggga ttggtggcga cgactcctgg agcccgtcag 5460
tatcggcgga attccagctg agcgccgttc gctaccatta ccagttggtc tggtgtcaaa 5520
aataaggatc ctcgatacca acaacggtag aaagtgttac aatatctact acaaaatata 5580
caactagtga ctttatagag atatttggca ttgtttcact aattttatta ttggccgtgg 5640
cgattttctg tattatatat tatttctgta gtggacggtc tcgtaaacaa gaaacaaata 5700
tattatagat tttaactcag ataaatgtct ggaataatta aatctatcgt tttgagcgga 5760
ccatctggtt ccggcaagac agctatagtc aggagactct tacaagatta tggaaatata 5820
tttggatttg tggtatccca taccactaga tttcctcgtc ctatggaacg agaaggtgtc 5880
gtctaccatt acgttaacag agaggccatt tggaagggaa tagccgctgg aaacttgcta 5940
gaacatacag agtttttggg aaatatttat gggacttcta aaacatccat gaacacagct 6000
gctattaata atcgtatatg tgttatggat ttaaacattg acggagttag gagtcttaaa 6060
aacacatact tgatgcctta ctctgtttat ataagaccta catctcttaa aatggtagaa 6120

actgcatgcc ctgatgcggt attttctcct tacgcatctg tgcggtattt cacaccgcat 6180
atggtgcact ctcagtacaa tctgctctga tgccgcatag ttaagccagc cccgacaccc 6240
gccaacaccc gctgacgcgc cctgacgggc ttgtctgctc ccggcatccg cttacagaca 6300
agctgtgacc gtctccggga gctgcatgtg tcagaggttt tcaccgtcat caccgaaacg 6360
cgcgagacga aagggcctcg tgatacgcct atttttatag gttaatgtca tgataataat 6420
ggtttcttag acgtcaggtg gcacttttcg gggaaatgtg cgcggaaccc ctatttgttt 6480
atttttctaa atacattcaa atatgtatcc gctcatgaga caataaccct gataaatgct 6540
tcaataatat tgaaaaagga agagtatgag tattcaacat ttccgtgtcg cccttattcc 6600
ctttttgcg gcattttgcc ttcctgtttt tgctcaccca gaaacgctgg tgaaagtaaa 6660
agatgctgaa gatcagttgg gtgcacgagt gggttacatc gaactggatc tcaacagcgg 6720
taagatcctt gagagttttc gccccgaaga acgttttcca atgatgagca cttttaaagt 6780
tctgctatgt ggcgcggtat tatcccgtat tgacgccggg caagagcaac tcggtcgccg 6840
catacactat tctcagaatg acttggttga gtactcacca gtcacagaaa agcatcttac 6900
ggatggcatg acagtaagag aattatgcag tgctgccata accatgagtg ataacactgc 6960
ggccaactta cttctgacaa cgatcggagg accgaaggag ctaaccgctt ttttgcacaa 7020
catgggggat catgtaactc gccttgatcg ttgggaaccg gagctgaatg aagccatacc 7080
aaacgacgag cgtgacacca cgatgcctgt agcaatggca acaacgttgc gcaaactatt 7140
aactggcgaa ctacttactc tagcttcccg gcaacaatta atagactgga tggaggcgga 7200
taaagttgca ggaccacttc tgcgctcggc ccttccggct ggctggttta ttgctgataa 7260
atctggagcc ggtgagcgtg ggtctcgcgg tatcattgca gcactggggc cagatggtaa 7320
gccctcccgt atcgtagtta tctacacgac ggggagtcag gcaactatgg atgaacgaaa 7380
tagacagatc gctgagatag gtgcctcact gattaagcat tggtaactgt cagaccaagt 7440
ttactcatat atactttaga ttgatttaaa acttcatttt taatttaaaa ggatctaggt 7500
gaagatcctt tttgataatc tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttccactg 7560
agcgtcagac cccgtagaaa agatcaaagg atcttcttga gatccttttt ttctgcgcgt 7620
aatctgctgc ttgcaaacaa aaaaaccacc gctaccagcg gtggtttgtt tgccggatca 7680
agagctacca actcttttc cgaaggtaac tggcttcagc agagcgcaga taccaaatac 7740
tgttcttcta gtgtagccgt agttaggcca ccacttcaag aactctgtag caccgcctac 7800
atacctcgct ctgctaatcc tgttaccagt ggctgctgcc agtggcgata agtcgtgtct 7860
taccgggttg gactcaagac gatagttacc ggataaggcg cagcggtcgg gctgaacggg 7920
gggttcgtgc acacagccca gcttggagcg aacgacctac accgaactga gatacctaca 7980
gcgtgagcta tgagaaagcg ccacgcttcc cgaagggaga aaggcggaca ggtatccggt 8040
aagcggcagg gtcggaacag gagagcgcac gagggagctt ccagggggaa acgcctggta 8100
tctttatagt cctgtcgggt ttcgccacct ctgacttgag cgtcgatttt tgtgatgctc 8160
gtcaggggggg cggagcctat ggaaaaacgc cagcaacgcg gccttttttac ggttcctggc 8220
cttttgctgg ccttttgctc acatgttctt tcctgcgtta tcccctgatt ctgtggataa 8280
ccgtattacc gcctttgagt gagctgatac cgctcgccgc agccgaacga ccgagcgcag 8340
cgagtcagtg agcgaggaag cggaagagag ctc 8373

<210> 5
<211> 702
<212> DNA
<213> 豬環狀病毒

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(702)
<223> 豬第2A型環狀病毒ORF2

<400> 5
atgacgtatc caaggaggcg ttaccgcaga agaagacacc gcccccgcag ccatcttggc 60

cagatcctcc gccgccgccc ctggctcgtc cacccccgcc accgctaccg ttggagaagg 120

aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcaccttcg gatatactgt caaggctacc 180

acagtcagaa cgccctcctg ggcggtggac atgatgagat ttaatattga cgactttgtt 240

ccccccgggag gggggaccaa caaaatctct atacccttg aatactacag aataagaaag 300

gttaaggttg aattctggcc ctgctccccc atcacccagg gtgatagggg agtgggctcc 360

actgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca cagccctaac ctatgaccca 420

tatgtaaact actcctcccg ccatacaatc ccccaaccct tctcctacca ctcccgttac 480

ttcacaccca aacctgttct tgactccacc attgattact tccaaccaaa taacaaaagg 540

aatcagcttt ggatgaggct acaaacctct agaaatgtgg accacgtagg cctcggcact 600

gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggac tacaatatcc gtgtaaccat gtatgtacaa 660

ttcagagaat ttaatcttaa agacccccca cttaaaccct aa 702

<210> 6
<211> 702
<212> DNA
<213> 豬環狀病毒

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(702)
<223> 豬第2B型環狀病毒ORF2

<400> 6
atgacgtatc caaggaggcg ttaccgaaga agaagacacc gcccccgcag ccatcttggc 60

cagatcctcc gccgccgccc ctggctcgtc cacccccgcc accgttaccg ctggagaagg 120

aaaaatggca tcttcaacac ccgcctctcc cgcaccttcg gatatactgt caagcgaacc 180

acagtcagaa cgccctcctg ggcggtggac atgatgagat tcaatattaa tgactttctt 240

cccccaggag ggggctcaaa cccccgctct gtgcccttg aatactacag aataagaaag 300

gttaaggttg aattctggcc ctgctccccg atcacccagg gtgacagggg agtgggctcc 360

agtgctgtta ttctagatga taactttgta acaaaggcca cagccctcac ctatgacccc 420

tatgtaaact actcctcccg ccataccata acccagccct tctcctacca ctcccggtac 480

tttaccccca aacctgtcct agattccact attgattact tccaaccaaa caacaaaaga 540

aaccagctgt ggctgagact acaaactgct ggaaatgtag accacgtagg cctcggcact 600

gcgttcgaaa acagtatata cgaccaggaa tacaatatcc gtgtaaccat gtatgtacaa 660

ttcagagaat ttaattttaa agacccccca cttaaccctt aa 702

<210> 7
<211> 765
<212> DNA
<213> 豬繁殖與呼吸症候群病毒

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(765)
<223> 豬繁殖與呼吸症候群病毒株ISU12 ORF3

<400> 7
atggctaata gctgtacatt cctccatatt ttcctctgtt gcagcttctt gtactctttt 60

tgttgtgctg tggttgcggg ttccaatgct acgtactgtt tttggtttcc gctggttagg 120

ggcaattttt ctttcgaact cacggtgaac tacacggtgt gcccgccttg cctcacccgg 180

caagcagccg cagaggccta cgaacccggt aggtcccttt ggtgcaggat agggcatgat 240

cgatgtgggg aggacgatca tgatgaacta gggtttgtgg tgccgcctgg cctctccagc 300

gaaggccact tgaccagtgc ttacgcctgg ttggcgttcc tgtccttcag ctatacggcc 360

cagttccatc ccgagatatt cgggataggg aatgtgagtc gagtctatgt tgacatcaag 420

caccaattca tttgcgctgt tcatgatggg cagaacacca ccttgcccca ccatgacaac 480

atttcagccg tgtttcagac ctattaccag catcaggtcg acggcggcaa ttggtttcac 540

ctagaatggc tgcgtccctt cttttcctct tggttggttt taaatgtctc ttggtttctc 600

aggcgttcgc ctgcaagcca tgtttcagtt cgagtctttc agacatcaag accaacacca 660

ccgcagcggc aggctttgct gtcctccaag acatcagttg ccttaggcat cgcaactcgg 720

cctctgaggc gattcgcaaa gtccctcagt gccgcacggc gatag 765

<210> 8
<211> 537
<212> DNA
<213> 豬繁殖與呼吸症候群病毒

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(537)
<223> 豬繁殖與呼吸症候群病毒株ISU12 ORF4

<400> 8
atggctgcgt cccttctttt cctcttggtt ggttttaaat gtctcttggt ttctcaggcg 60

ttcgcctgca agccatgttt cagttcgagt ctttcagaca tcaagaccaa caccaccgca 120

gcggcaggct ttgctgtcct ccaagacatc agttgcctta ggcatcgcaa ctcggcctct 180

gaggcgattc gcaaagtccc tcagtgccgc acggcgatag ggacacccgt gtatatcact 240

gtcacagcca atgttaccga tgagaattat ttgcattcct ctgatcttct catgctttct 300

tcttgccttt tctatgcttc tgagatgagt gaaaagggat ttaaggtggt atttggcaat 360

gtgtcaggca tcgtggcagt gtgcgtcaac ttcaccagtt acgtccaaca tgtcaaggaa 420

tttacccaac gttccttggt agttgaccat gtgcggctgc tccatttcat gacgcccgag 480

accatgaggt gggcaactgt tttagcctgt cttttgcca ttctgttggc aatttga 537

<210> 9
<211> 603

<212> DNA
<213> 豬繁殖與呼吸症候群病毒

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(603)
<223> 豬繁殖與呼吸症候群病毒株ISU12 ORF5

<400> 9
atgttgggga aatgcttgac cgcgggctgt tgctcgcaat tgctttttt gtggtgtatc 60

gtgccgtctt gttttgttgc gctcgtcagc gccaacggga acagcagctc aaatttacag 120

ctgatttaca acttgacgct atgtgagctg aatggcacag attggctagc taataaattt 180

gactgggcag tggagtgttt tgtcattttt cctgtgttga ctcacattgt ctcttatggt 240

gccctcacta ctagccattt ccttgacaca gtcggtctgg tcactgtgtc taccgctggg 300

tttgttcacg ggcggtatgt tctgagtagc atctacgcgg tctgtgccct ggctgcgttg 360

atttgcttcg tcattaggct tgcgaagaat tgcatgtcct ggcgctactc atgtaccaga 420

tataccaact ttcttctgga cactaagggc agactctatc gttggcggtc gcctgtcatc 480

atagagaaaa ggggcaaagt tgaggtcgaa ggtcacctga tcgacctcaa aagagttgtg 540

cttgatggtt ccgcggctac ccctgtaacc agagtttcag cggaacaatg gggtcgtcct 600

tag 603

<210> 10
<211> 525
<212> DNA
<213> 豬繁殖與呼吸症候群病毒

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(525)
<223> 豬繁殖與呼吸症候群病毒株ISU12 ORF6

<400> 10
atggggtcgt ccttagatga cttctgtcat gatagcacgg ctccacaaaa ggtgctcttg 60

gcgttttcta ttacctacac gccagtgatg atatatgccc taaaggtgag tcgcggccga 120

ctgctagggc ttctgcacct tttgatcttc ctgaattgtg ctttcacctt cgggtacatg 180

acattcgtgc actttcagag tacaaataag gtcgcgctca ctatgggagc agtagttgca 240

ctcctttggg gggtgtactc agccatagaa acctggaaat tcatcacctc cagatgccgt 300

ttgtgcttgc taggccgcaa gtacattctg gcccctgccc accacgttga aagtgccgca 360

ggctttcatc cgattgcggc aaatgataac cacgcatttg tcgtccggcg tcccggctcc 420

actacggtca acggcacatt ggtgcccggg ttaaaaagcc tcgtgttggg tggcagaaaa 480

gctgttaaac agggagtggt aaaccttgtc aaatatgcca aataa 525

<210> 11
<211> 372
<212> DNA
<213> 豬繁殖與呼吸症候群病毒

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(372)

<223> 豬繁殖與呼吸症候群病毒株ISU12 ORF7

<400> 11
atgccaaata acaacggcaa gcagcagaag agaaagaagg gggatggcca gccagtcaat 60

cagctgtgcc agatgctggg taagatcatc gctcagcaaa accagtccag aggcaaggga 120

ccgggaaaga aaaataagaa gaaaaacccg gagaagcccc atttccctct agcgactgaa 180

gatgatgtca gacatcactt tacccctagt gagcggcaat tgtgtctgtc gtcaatccag 240

accgcctttа atcaaggcgc tgggacttgc accctgtcag attcagggag gataagttac 300

actgtggagt ttagtttgcc tacgcatcat actgtgcgcc tgatccgcgt cacagcatca 360

ccctcagcat ga 372

<210> 12
<211> 606
<212> DNA
<213> 豬繁殖與呼吸症候群病毒

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(606)
<223> 豬繁殖與呼吸症候群病毒株Olot/91 ORF5

<400> 12
atgagatgtt ctcacaaatt ggggcgtttc ttgactcctc actcttgctt ctggtggctt 60

ttttgctgt gtaccggctt gtcctggtcc tttgtcgctg gcagcggcag cagctcgaca 120

taccaataca tatataactt aacgatatgc gagctgaatg ggaccgactg gttgtccaac 180

cattttgatt gggcagtcga gacctttgtg ctttacccgg ttgccactca tatcctctca 240

ctgggttttc tcacaacaag ccatttttt gacgcgctcg gtctcggcgc tgtgtccact 300

acaggatttg ttggcgggcg gtatgtactc agcagcgtgt acggcgcttg tgctttcgca 360

gcgctcgtat gttttgtcat ccgtgctgtt aaaaattgca tggcttgccg ctatgcccac 420

acccggttta ccaacttcat tgtggacgac cgggggagaa tccatcggtg gaagtctcca 480

atagtggtag agaaattggg caaagctgaa gtcggtggcg accttgtcac catcaaacat 540

gtcgtcctcg aaggggttaa agctcaaccc ttgacgagga cttcggctga gcaatgggaa 600

gcctag 606

五、中文發明摘要：

本發明係關於新穎重組浣熊痘病毒載體疫苗，其中該載體表現在血球凝集素(*ha*)及/或胸苷激酶(*tk*)基因座之一或多種豬繁殖與呼吸症候群病毒株之多個開放讀碼框(較佳為ORF5、ORF6及/或ORF3/ORF4/ORF7)單獨或與豬第二型環狀病毒(PCV-2)之開放讀碼框(較佳為ORF2)組合所編碼的一或多種抗原蛋白。

六、英文發明摘要：

The present invention relates to a new recombinant raccoon poxvirus vector vaccine in which the vector expresses one or more antigenic proteins encoded by multiple open reading frames, preferably the ORF5, ORF6 and/or ORF3/ORF4/ORF7, of one or more porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains alone or in combination with an open reading frame of porcine circovirus type 2 (PCV-2), preferably ORF2, at the hemagglutinin (*ha*) and/or thymidine kinase (*tk*) loci.

十、申請專利範圍：

1. 一種重組浣熊瘟病毒載體(rRCNV)，其包含一或多個編碼豬繁殖與呼吸症候群病毒(PRRSV)蛋白之外源核酸分子，其中：

(a) 至少一個核酸分子嵌入該浣熊瘟病毒基因組之血球凝集素基因座或胸苷激酶基因座中；或

(b) 至少兩個核酸分子嵌入該浣熊瘟病毒基因組之血球凝集素基因座或胸苷激酶基因座中；或

(c) 至少一個核酸分子嵌入該浣熊瘟病毒基因組之血球凝集素基因座中且至少一個核酸分子嵌入該浣熊瘟病毒基因組之胸苷激酶基因座中。

2. 如請求項1之重組浣熊瘟病毒載體，其中至少兩個核酸分子嵌入該浣熊瘟病毒基因組之血球凝集素基因座中且至少兩個核酸分子嵌入該浣熊瘟病毒基因組之胸苷激酶基因座中。

3. 如請求項1或2中任一項之重組浣熊瘟病毒載體，其進一步包含除在該浣熊瘟病毒基因組之胸苷激酶及血球凝集素基因座外亦在該浣熊瘟病毒基因組之第三非必需位點中嵌入一個編碼豬繁殖與呼吸症候群病毒(PRRSV)蛋白的核酸分子。

4. 如請求項3之重組浣熊瘟病毒載體，其中該浣熊瘟病毒基因組之該第三非必需位點係絲胺酸蛋白酶抑制劑位點。

5. 如請求項1至4中任一項之重組浣熊瘟病毒載體，其中該

瘟病毒載體編碼相同豬繁殖與呼吸症候群病毒蛋白之至少兩個拷貝。

6. 如請求項5之重組浣熊瘟病毒載體，其中該相同蛋白之該兩個拷貝係由兩個不同核酸分子編碼。

7. 如請求項5之重組浣熊瘟病毒載體，其中該相同蛋白之該兩個拷貝係由相同核酸分子編碼。

8. 如請求項7之重組浣熊瘟病毒載體，其中該相同蛋白之該兩個拷貝可操作地連接於一個啓動子。

9. 如請求項6或7中任一項之重組浣熊瘟病毒載體，其中該相同蛋白之該兩個拷貝可操作地連接於各別啓動子。

10. 如請求項6、7、8或9中任一項之重組浣熊瘟病毒載體，其中該相同蛋白之該兩個拷貝係由一個選自由ORF1、ORF2、ORF3、ORF4、ORF5、ORF6、ORF7及其組合組成之群之豬繁殖與呼吸症候群病毒(PRRSV)開放讀碼框(ORF)編碼。

11. 如請求項1或2中任一項之重組浣熊瘟病毒載體，其中各外源核酸分子編碼PRRSV ORF。

12. 如請求項11之重組浣熊瘟病毒載體，其中該ORF係一或多個選自由ORF1、ORF2、ORF3、ORF4、ORF5、ORF6、ORF7及其組合組成之群。

13. 如請求項2之重組浣熊瘟病毒載體，其中該兩個或多個外源核酸分子編碼兩個或多個選自由下列組成之群之PRRSV ORFs：ORF5-ORF6、ORF5-ORF6-ORF7、ORF3-ORF5-ORF6、ORF3-ORF4-ORF7、ORF3-ORF4-ORF5-

ORF7 、 ORF3-ORF4-ORF6-ORF7 及 ORF3-ORF4-ORF5-ORF6-ORF7。

14. 如請求項1至13中任一項之重組浣熊瘟病毒載體，其中該豬繁殖與呼吸症候群病毒係ISU12 (Iowa)、Olot/91(西班牙)或二者。

15. 如請求項1至14中任一項之重組浣熊瘟病毒載體，其中兩個或多個核酸分子嵌入該浣熊瘟病毒基因組之血球凝集素基因座中。

16. 如請求項15之重組浣熊瘟病毒載體，其進一步包含一個編碼豬第二型環狀病毒(PCV2)之開放讀碼框的核酸分子。

17. 如請求項16之重組浣熊瘟病毒載體，其中該PCV2開放讀碼框係ORF2。

18. 如請求項17之重組浣熊瘟病毒載體，其中該PCV2 ORF2各別嵌入該浣熊瘟病毒基因組之胸苷激酶基因座中。

19. 如請求項15至18中任一項之重組浣熊瘟病毒載體，其進一步包含一個編碼貓白血病病毒$P27^+$表型之糖蛋白的核苷酸序列。

20. 如請求項1至19中任一項之重組浣熊瘟病毒載體，其中該浣熊瘟病毒係活病毒且可複製。

21. 一種重組豬疫苗，其包含免疫有效量之如請求項1至20中任一項之重組浣熊瘟病毒載體及視情況一種適宜載劑、稀釋劑或佐劑。

22. 一種重組豬疫苗，其包含免疫有效量之兩種或多種如請

求項1至20中任一項之重組浣熊痘病毒載體及視情況一種適宜載劑或稀釋劑。

23. 如請求項21或22中任一項之重組豬疫苗，其中該浣熊痘病毒係活病毒且可複製。

24. 如請求項21或22之重組豬疫苗，其進一步包含至少一種其他豬抗原。

25. 如請求項24之重組豬疫苗，其中該其他豬抗原係選自由下列組成之群：豬肺炎黴漿菌(*Mycoplasma hyopneumoniae*)抗原、副豬嗜血桿菌(*Haemophilus parasuis*)抗原、多殺巴斯德菌(*Pasteurella multocida*)抗原、豬鏈球菌(*Streptococcus suis*)抗原、胸膜肺炎放線桿菌(*Actinobacillus pleuropneumoniae*)抗原、支氣管敗血性博德特菌(*Bordetella bronchiseptica*)抗原、豬霍亂沙門氏菌(*Salmonella choleraesuis*)抗原、豬丹毒桿菌(*Erysipelothrix rhusiopathiae*)抗原、鉤端螺旋體細菌(leptospira bacteria)抗原、豬流感病毒抗原、豬細小病毒抗原、大腸桿菌(*Escherichia coli*)抗原、豬呼吸冠狀病毒抗原、輪狀病毒抗原、奧傑士基氏病(Aujesky's disease)之致病病原體抗原、豬傳染性胃腸炎(Swine Transmissible Gastroenteritis)抗原及其組合。

26. 一種誘發抵抗豬繁殖與呼吸症候群病毒之免疫反應的方法，其包含向豬類動物投與免疫有效量之如請求項21至25中任一項之重組豬疫苗。

27. 如請求項24之方法，其中該重組豬疫苗包含活的且可複

製之重組浣熊痘病毒載體。

28. 一種預防豬繁殖與呼吸症候群及斷乳後多系統消耗性(Wasting)症候群之方法，其包含向需要保護之豬類動物投與一種包含免疫有效量之如請求項16至19中任一項之重組浣熊痘病毒載體及視情況一種適宜載劑、稀釋劑或佐劑的重組豬疫苗。

29. 如請求項28之方法，其中該重組浣熊痘病毒載體係活載體且可複製。

30. 如請求項26之方法，其中該疫苗之免疫有效量介於約4.5 $Log_{10}TCID_{50}$/ml至約7.5 $Log_{10}TCID_{50}$/ml範圍內。

31. 如請求項26之方法，其中該疫苗係以單次劑量或以重複劑量投與。

32. 如請求項21至25中任一項之重組豬疫苗，其中該疫苗不含佐劑。

十一、圖式：

質粒 pFD2000A-FDAH-Seq

```
   1 TTATTGGACA CTAGATAATC ATCACATGTT ACCACAAAAT TATATAATGT ATAAATGCGA
  61 AATTATTAAA CGCAAATATC CATGGGAAAA CGCGCAGTAT ACAGACGATT TTTTACAGTA
 121 TTTGGAGAGT TTTATAGGAA GTATATAGAG TAGAACCAGA ATTTTGTAAA AATAAATCAC
 181 ATTTTTATAC TAATATGAAA CAACTATCGA TAGTTATATT GCTACTATCG ATAGTATATA
 241 CAACCAAACC TCATCCTACA CAGATATCAA AAAAACTAGG CGATGATGCT ACTCTATCGT
 301 GTAATAGAAA CAATACACAT GGATATCTTG TCATGAGTTC TTGGTATAAG AAACCAGACT
 361 CCATTATTCT CTTAGCAGCC AAAAACGATG TCGTATACTT TGATGATTAT ACAGCGGATA
 421 AAGTATCATA CGATTCACCG TATGATACTC TAGCTACAAT TATTACAATT AAATCATTGA
 481 CATCTGGAGA TGCAGGTACT TATATATGCG CATTCTTTAT AACATCAACA AATGATACGG
 541 ATAAAATAGA TTATGAAGAA TTCGTCGACG CGGCCGCCTG CAGAAGCTTG GTACCATTTA
 601 TAGCATAGAA AAAAACAAAA TGAAATTCTA CTATATTTTT ACATACATAT ATTCTAAATA
 661 TGAAAGTGGT GATTGTGACT AGCGTAGCAT CGCTTCTAGA CATCTATATA CTATATAGTA
 721 ATACCAATAC TCAAGACTAC GAAACTGATA CAATCTCTTA TCATGTGGGT AATGTTCTCG
 781 ATGTCGATAG CCATATGCCC GGTAGTTGCG ATATACATAA ACTGATCACT AATTCCAAAC
 841 CCACCCGCTT TTTATAGTAA GTTTTTCACC CATAAATAAT AAATACAATA ATTAATTTCT
 901 CGTAAAAGTA GAAAATATAT TCTAATTTAT TGCACGGTAA GGAAGTAGAA TCATAAAGAA
 961 CAGTGACATG GATCCCGTCG TTTTACAACG TCGTGACTGG GAAAACCCTG GCGTTACCCA
1021 ACTTAATCGC CTTGCAGCAC ATCCCCCTTT CGCCAGCTGG CGTAATAGCG AAGAGGCCCG
1081 CACCGATCGC CCTTCCCAAC AGTTGCGCAG CCTGAATGGC GAATGGCGCT TTGCCTGGTT
1141 TCCGGCACCA GAAGCGGTGC CGGAAAGCTG GCTGGAGTGC GATCTTCCTG AGGCCGATAC
1201 TGTCGTCGTC CCCTCAAACT GGCAGATGCA CGGTTACGAT GCGCCCATCT ACACCAACGT
1261 AACCTATCCC ATTACGGTCA ATCCGCCGTT TGTTCCCACG GAGAATCCGA CGGGTTGTTA
1321 CTCGCTCACA TTTAATGTTG ATGAAAGCTG GCTACAGGAA GGCCAGACGC GAATTATTTT
1381 TGATGGCGTT AACTCGGCGT TTCATCTGTG GTGCAACGGG CGCTGGGTCG GTTACGGCCA
1441 GGACAGTCGT TTGCCGTCTG AATTTGACCT GAGCGCATTT TTACGCGCCG GAGAAAACCG
1501 CCTCGCGGTG ATGGTGCTGC GTTGGAGTGA CGGCAGTTAT CTGGAAGATC AGGATATGTG
1561 GCGGATGAGC GGCATTTTCC GTGACGTCTC GTTGCTGCAT AAACCGACTA CACAAATCAG
1621 CGATTTCCAT GTTGCCACTC GCTTTAATGA TGATTTCAGC CGCGCTGTAC TGGAGGCTGA
1681 AGTTCAGATG TGCGGCGAGT TGCGTGACTA CCTACGGGTA ACAGTTTCTT TATGGCAGGG
1741 TGAAACGCAG GTCGCCAGCG GCACCGCGCC TTTCGGCGGT GAAATTATCG ATGAGCGTGG
1801 TGGTTATGCC GATCGCGTCA CACTACGTCT CAAGGTCGAA AACCCGAAAC TGTGGAGCGC
1861 CGAAATCCCG AATCTCTATC GTGCGGTGGT TGAACTGCAC ACCGCCGACG GCACGCTGAT
1921 TGAAGCAGAA GCCTGCGATG TCGGTTTCCG CGAGGTGCGG ATTGAAAATG GTCTGCTGCT
1981 GCTGAACGGC AAGCCGTTGC TGATTCGAGG CGTTAACCGT CACGAGCATC ATCCTCTGCA
2041 TGGTCAGGTC ATGGATGAGC AGACGATGGT GCAGGATATC CTGCTGATGA AGCAGAACAA
2101 CTTTAACGCC GTGCGCTGTT CGCATTATCC GAACCATCCG CTGTGGTACA CGCTGTGCGA
2161 CCGCTACGGC CTGTATGTGG TGGATGAAGC CAATATTGAA ACCCACGGCA TGGTGCCAAT
2221 CAATCGTCTG ACCGATGATC CGCGCTGGCT ACCGGCGATG AGCGAACGCG TAACGCGAAT
2281 GGTGCAGCGC GATCGTAATC ACCCGAGTGT GATCATCTGG TCGCTGGGGA ATGAATCAGG
2341 CCACGGCGCT AATCACGACG CGCTGTATCG CTGGATCAAA TCTGTCGATC CTTCCCGCCC
2401 GGTGCAGTAT GAAGGCGGCG GAGCCGACAC CACGGCCACC GATATTATTT GCCCGATGTA
2461 CGCGCGCGTG GATGAAGACC AGCCCTTCCC GGCTGTGCCG AAATGGTCCA TCAAAAAATG
2521 GCTTTCGCTA CCTGGAGAGA CGCGCCCGCT GATCCTTTGC GAATACGCCC ACGCGATGGG
2581 TAACAGTCTT GGCGGTTTCG CTAAATACTG GCAGGCGTTT CGTCAGTATC CCCGTTTACA
```

圖 1

質粒 pFD2000A-FDAH-Seq

```
2641 GGGCGGCTTC GTCTGGGACT GGGTGGATCA GTCGCTGATT AAATATGATG AAAACGGCAA
2701 CCCGTGGTCG GCTTACGGCG GTGATTTTGG CGATACGCCG AACGATCGCC AGTTCTGTAT
2761 GAACGGTCTG GTCTTTGCCG ACCGCACGCC GCATCCAGCG CTGACGGAAG CAAAACACCA
2821 GCAGCAGTTT TTCCAGTTCC GTTTATCCGG GCAAACCATC GAAGTGACCA GCGAATACCT
2881 GTTCCGTCAT AGCGATAACG AGCTCCTGCA CTGGATGGTG GCGCTGGATG GTAAGCCGCT
2941 GGCAAGCGGT GAAGTGCCTC TGGATGTCGC TCCACAAGGT AAACAGTTGA TTGAACTGCC
3001 TGAACTACCG CAGCCGGAGA GCGCCGGGCA ACTCTGGCTC ACAGTACGCG TAGTGCAACC
3061 GAACGCGACC GCATGGTCAG AAGCCGGGCA CATCAGCGCC TGGCAGCAGT GGCGTCTGGC
3121 GGAAAACCTC AGTGTGACGC TCCCCGCCGC GTCCCACGCC ATCCCGCATC TGACCACCAG
3181 CGAAATGGAT TTTTGCATCG AGCTGGGTAA TAAGCGTTGG CAATTTAACC GCCAGTCAGG
3241 CTTTCTTTCA CAGATGTGGA TTGGCGATAA AAAACAACTG CTGACGCCGC TGCGCGATCA
3301 GTTCACCCGT GCACCGCTGG ATAACGACAT TGGCGTAAGT GAAGCGACCC GCATTGACCC
3361 TAACGCCTGG GTCGAACGCT GGAAGGCGGC GGGCCATTAC CAGGCCGAAG CAGCGTTGTT
3421 GCAGTGCACG GCAGATACAC TTGCTGATGC GGTGCTGATT ACGACCGGTC ACGCGTGGCA
3481 GCATCAGGGG AAAACCTTAT TTATCAGCCG GAAAACCTAC CGGATTGATG GTAGTGGTCA
3541 AATGGCGATT ACCGTTGATG TTGAAGTGGC GAGCGATACA CCGCATCCGG CGCGGATTGG
3601 CCTGAACTGC CAGCTGGCGC AGGTAGCAGA GCGGGTAAAC TGGCTCGGAT TAGGGCCGCA
3661 AGAAAACTAT CCCGACCGCC TTACTGCCGC CTGTTTTGAC CGCTGGGATC TGCCATTGTC
3721 AGACATGTAT ACCCCGTACG TCTTCCCGAG CGAAAACGGT CTGCGCTGCG GGACGCGCGA
3781 ATTGAATTAT GGCCCACACC AGTGGCGCGG CGACTTCCAG TTCAACATCA GCCGCTACAG
3841 TCAACAGCAA CTGATGGAAA CCAGCCATCG CCATCTGCTG CACGCGGAAG AAGGCACATG
3901 GCTGAATATC GACGGTTTCC ATATGGGGAT TGGTGGCGAC GACTCCTGGA GCCCGTCAGT
3961 ATCGGCGGAA TTCCAGCTGA GCGCCGTTCG CTACCATTAC CAGTTGGTCT GGTGTCAAAA
4021 ATAAGGATCC TCGATACCAA CAACGGTAGA AAGTGTTACTA ATATCTACTA CAAAATATAC
4081 AACTAGTGAC TTTATAGAGA TATTTGGCAT TGTTTCACTA ATTTTATTAT TGGCCGTGGC
4141 GATTTTCTGT ATTATATATT ATTTCTGTAG TGGACGGTCT CGTAAACAAG AAACAAATAT
4201 ATTATAGATT TTAACTCAGA TAAATGTCTG GAATAATTAA ATCTATCGTT TTGAGCGGAC
4261 CATCTGGTTC CGGCAAGACA GCTATAGTCA GGAGACTCTT ACAAGATTAT GGAAATATAT
4321 TTGGATTTGT GGTATCCCAT ACCACTAGAT TTCCTCGTCC TATGGAACGA GAAGGTGTCG
4381 TCTACCATTA CGTTAACAGA GAGGCCATTT GGAAGGGAAT AGCCGCTGGA AACTTGCTAG
4441 AACATACAGA GTTTTTGGGA AATATTTATG GGACTTCTAA AACATCCATG AACACAGCTG
4501 CTATTAATAA TCGTATATGT GTTATGGATT TAAACATTGA CGGAGTTAGG AGTCTTAAAA
4561 ACACATACTT GATGCCTTAC TCTGTTTATA TAAGACCTAC ATCTCTTAAA ATGGTAGAAA
4621 CTGCATGCCC TGATGCGGTA TTTTCTCCTT ACGCATCTGT GCGGTATTTC ACACCGCATA
4681 TGGTGCACTC TCAGTACAAT CTGCTCTGAT GCCGCATAGT TAAGCCAGCC CCGACACCCG
4741 CCAACACCCG CTGACGCGCC CTGACGGGCT TGTCTGCTCC CGGCATCCGC TTACAGACAA
4801 GCTGTGACCG TCTCCGGGAG CTGCATGTGT CAGAGGTTTT CACCGTCATC ACCGAAACGC
4861 GCGAGACGAA AGGGCCTCGT GATACGCCTA TTTTTATAGG TTAATGTCAT GATAATAATG
4921 GTTTCTTAGA CGTCAGGTGG CACTTTTCGG GGAAATGTGC GCGGAACCCC TATTTGTTTA
4981 TTTTTCTAAA TACATTCAAA TATGTATCCG CTCATGAGAC AATAACCCTG ATAAATGCTT
5041 CAATAATATT GAAAAAGGAA GAGTATGAGT ATTCAACATT TCCGTGTCGC CCTTATTCCC
5101 TTTTTTGCGG CATTTTGCCT TCCTGTTTTT GCTCACCCAG AAACGCTGGT GAAAGTAAAA
5161 GATGCTGAAG ATCAGTTGGG TGCACGAGTG GGTTACATCG AACTGGATCT CAACAGCGGT
5221 AAGATCCTTG AGAGTTTTCG CCCCGAAGAA CGTTTTCCAA TGATGAGCAC TTTTAAAGTT
5281 CTGCTATGTG GCGCGGTATT ATCCCGTATT GACGCCGGGC AAGAGCAACT CGGTCGCCGC
5341 ATACACTATT CTCAGAATGA CTTGGTTGAG TACTCACCAG TCACAGAAAA GCATCTTACG
5401 GATGGCATGA CAGTAAGAGA ATTATGCAGT GCTGCCATAA CCATGAGTGA TAACACTGCG
5461 GCCAACTTAC TTCTGACAAC GATCGGAGGA CCGAAGGAGC TAACCGCTTT TTTGCACAAC
5521 ATGGGGGATC ATGTAACTCG CCTTGATCGT TGGGAACCGG AGCTGAATGA AGCCATACCA
5581 AACGACGAGC GTGACACCAC GATGCCTGTA GCAATGGCAA CAACGTTGCG CAAACTATTA
5641 ACTGGCGAAC TACTTACTCT AGCTTCCCGG CAACAATTAA TAGACTGGAT GGAGGCGGAT
5701 AAAGTTGCAG GACCACTTCT GCGCTCGGCC CTTCCGGCTG GCTGGTTTAT TGCTGATAAA
5761 TCTGGAGCCG GTGAGCGTGG GTCTCGCGGT ATCATTGCAG CACTGGGGCC AGATGGTAAG
5821 CCCTCCCGTA TCGTAGTTAT CTACACGACG GGGAGTCAGG CAACTATGGA TGAACGAAAT
5881 AGACAGATCG CTGAGATAGG TGCCTCACTG ATTAAGCATT GGTAACTGTC AGACCAAGTT
5941 TACTCATATA TACTTTAGAT TGATTTAAAA CTTCATTTTT AATTTAAAAG GATCTAGGTG
6001 AAGATCCTTT TTGATAATCT CATGACCAAA ATCCCTTAAC GTGAGTTTTC GTTCCACTGA
6061 GCGTCAGACC CCGTAGAAAA GATCAAAGGA TCTTCTTGAG ATCCTTTTTT TCTGCGCGTA
6121 ATCTGCTGCT TGCAAACAAA AAAACCACCG CTACCAGCGG TGGTTTGTTT GCCGGATCAA
6181 GAGCTACCAA CTCTTTTTCC GAAGGTAACT GGCTTCAGCA GAGCGCAGAT ACCAAATACT
6241 GTTCTTCTAG TGTAGCCGTA GTTAGGCCAC CACTTCAAGA ACTCTGTAGC ACCGCCTACA
6301 TACCTCGCTC TGCTAATCCT GTTACCAGTG GCTGCTGCCA GTGGCGATAA GTCGTGTCTT
6361 ACCGGGTTGG ACTCAAGACG ATAGTTACCG GATAAGGCGC AGCGGTCGGG CTGAACGGGG
```

圖 1(續)

質粒 pFD2000A-FDAH-Seq

```
6421 GGTTCGTGCA CACAGCCCAG CTTGGAGCGA ACGACCTACA CCGAACTGAG ATACCTACAG
6481 CGTGAGCTAT GAGAAAGCGC CACGCTTCCC GAAGGGAGAA AGGCGGACAG GTATCCGGTA
6541 AGCGGCAGGG TCGGAACAGG AGAGCGCACG AGGGAGCTTC CAGGGGGAAA CGCCTGGTAT
6601 CTTTATAGTC CTGTCGGGTT TCGCCACCTC TGACTTGAGC GTCGATTTTT GTGATGCTCG
6661 TCAGGGGGGC GGAGCCTATG GAAAAACGCC AGCAACGCGG CCTTTTTACG GTTCCTGGCC
6721 TTTTGCTGGC CTTTTGCTCA CATGTTCTTT CCTGCGTTAT CCCCTGATTC TGTGGATAAC
6781 CGTATTACCG CCTTTGAGTG AGCTGATACC GCTCGCCGCA GCCGAACGAC CGAGCGCAGC
6841 GAGTCAGTGA GCGAGGAAGC GGAAGAGAGC TC
```

圖 1(續)

質粒pFD2001TK-FDAH-seq

```
   1 GAGCTCATAA ATAGTAAACC GATAGTGTAT AAAGATTGTG CAATGCTTTT GCGATCAATA
  61 AATGGATCAC AACCAGTATC TGTTGACGAT GTTCTTCGCA GATGATGATT CATTTTTTAA
 121 ATATTTAGCT AGTCAAGACG ATGAATCTTC ATTATCCGAT ATATTGCAAA TTACCCAATA
 181 TCTTGATTTT TTATTGTTGT TATTGATACA GTCAAAAAAT AAACTAGAGG CTGTAGGTCA
 241 TTGTTATGAA TCTCTTTCGG AGGAATATAG ACAATTGGCG AAATTTACAG ACACTCAAGA
 301 GTTTAAAAAA CTATTTAATA AGGTTCCTAT TGCTACAGAC GGACGCGTTA AACTTAATAA
 361 AGGGTATTTA TTTGACTTTG TTGTCAGTAT GATGAGATTT AAAAAAGAGT CATCTATAAT
 421 ACCAAACATA GATCCGGTTC GATACATAGA TCCTCGTCGA GATATAGTAT TTTCTAACGT
 481 AATGGATATA TTAAAGTCTA ATAAAGTGAA CAATAATTAA ATTTTTATTG TCACCTAGGA
 541 ATTCGTCGAC GCGGCCGCCT GCAGAAGCTT GGTACCATTT ATATTCCAAA AAAAAAAAAT
 601 AAAATTTCAA TTTTTACATA CATATATTCT AAATATGAAA GTGGTGATTG TGACTAGCGT
 661 AGCATCGCTT CTAGACATCT ATATACTATA TAGTAATACC AATACTCAAG ACTACGAAAC
 721 TGATACAATC TCTTATCATG TGGGTAATGT TCTCGATGTC GATAGCCATA TGCCCGGTAG
 781 TTGCGATATA CATAAACTGA TCACTAATTC CAAACCCACC CGCTTTTTAT AGTAAGTTTT
 841 TCACCCATAA ATAATAAATA CAATAATTAA TTTCTCGTAA AAGTAGAAAA TATATTCTAA
 901 TTTATTGCAC GGTAAGGAAG TAGAATCATA AAGAACAGTG ACATGGATCC GGTCCGTCCT
 961 GTAGAAACCC CAACCCGTGA AATCAAAAAA CTCGACGGCC TGTGGGCATT CAGTCTGGAT
1021 CGCGAAAACT GTGGAATTGA TCAGCGTTGG TGGGAAAGCG CGTTACAAGA AAGCCGGGCA
1081 ATTGCTGTGC CAGGCAGTTT TAACGATCAG TTCGCCGATG CAGATATTCG TAATTATGCG
1141 GGCAACGTCT GGTATCAGCG CGAAGTCTTT ATACCGAAAG GTTGGGCAGG CCAGCGTATC
1201 GTGCTGCGTT TCGATGCGGT CACTCATTAC GGCAAAGTGT GGGTCAATAA TCAGGAAGTG
1261 ATGGAGCATC AGGGCGGCTA TACGCCATTT GAAGCCGATG TCACGCCGTA TGTTATTGCC
1321 GGGAAAAGTG TACGTATCAC CGTTTGTGTG AACAACGAAC TGAACTGGCA GACTATCCCG
1381 CCGGGAATGG TGATTACCGA CGAAAACGGC AAGAAAAAGC AGTCTTACTT CCATGATTTC
1441 TTTAACTATG CCGGAATCCA TCGCAGCGTA ATGCTCTACA CCACGCCGAA CACCTGGGTG
1501 GACGATATCA CCGTGGTGAC GCATGTCGCG CAAGACTGTA ACCACGCGTC TGTTGACTGG
1561 CAGGTGGTGG CCAATGGTGA TGTCAGCGTT GAACTGCGTG ATGCGGATCA ACAGGTGGTT
1621 GCAACTGGAC AAGGCACTAG CGGGACTTTG CAAGTGGTGA ATCCGCACCT CTGGCAACCG
1681 GGTGAAGGTT ATCTCTATGA ACTGTGCGTC ACAGCCAAAA GCCAGACAGA GTGTGATATC
1741 TACCCGCTTC GCGTCGGCAT CCGGTCAGTG GCAGTGAAGG GCCAACAGTT CCTGATTAAC
1801 CACAAACCGT TCTACTTTAC TGGCTTTGGT CGTCATGAAG ATGCGGACTT ACGTGGCAAA
1861 GGATTCGATA ACGTGCTGAT GGTGCACGAC CACGCATTAA TGGACTGGAT TGGGGCCAAC
1921 TCCTACCGTA CCTCGCATTA CCCTTACGCT GAAGAGATGC TCGACTGGGC AGATGAACAT
1981 GGCATCGTGG TGATTGATGA AACTGCTGCT GTCGGCTTTT CGCTCTCTTT AGGCATTGGT
2041 TTCGAAGCGG GCAACAAGCC GAAAGAACTG TACAGCGAAG AGGCAGTCAA CGGGGAAACT
2101 CAGCAAGCGC ACTTACAGGC GATTAAAGAG CTGATAGCGC GTGACAAAAA CCACCCAAGC
2161 GTGGTGATGT GGAGTATTGC CAACGAACCG GATACCCGTC CGCAAGGTGC ACGGGAATAT
2221 TTCGCGCCAC TGGCGGAAGC AACGCGTAAA CTCGACCCGA CGCGTCCGAT CACCTGCGTC
2281 AATGTAATGT TCTGCGACGC TCACACCGAT ACCATCAGCG ATCTCTTTGA TGTGCTGTGC
2341 CTGAACCGTT ATTACGGATG GTATGTCCAA AGCGGCGATT TGGAAACGGC AGAGAAGGTA
2401 CTGGAAAAAG AACTTCTGGC CTGGCAGGAG AAACTGCATC AGCCGATTAT CATCACCGAA
2461 TACGGCGTGG ATACGTTAGC CGGGCTGCAC TCAATGTACA CCGACATGTG GAGTGAAGAG
```

圖2

質粒 pFD2001TK-FDAH-seq

```
2521 TATCAGTGTG CATGGCTGGA TATGTATCAC CGCGTCTTTG ATCGCGTCAG CGCCGTCGTC
2581 GGTGAACAGG TATGGAATTT CGCCGATTTT GCGACCTCGC AAGGCATATT GCGCGTTGGC
2641 GGTAACAAGA AAGGGATCTT CACTCGCGAC CGCAAACCGA AGTCGGCGGC TTTTCTGCTG
2701 CAAAAACGCT GGACTGGCAT GAACTTCGGT GAAAAACCGC AGCAGGGAGG CAAACAATGA
2761 GGATCCGGAA ATGGTAGTAA AACTGACAGC GGTATGTATG AAATGCTTTA AAGAGGCGTC
2821 GTTTTCTAAA CGTTTGGGAA CGGAAACCGA GATCGAAATA ATTGGTGGTG AAGATATGTA
2881 TCAATCCGTA TGCAGAAAGT GTTACATCAA CGAATGATAA TTTTTCTATA AAAAACTAAA
2941 AATAAACATT GATTAAATTT TAATATAATA CTTAAAAATG GATGTTGTGT CACTGGATAA
3001 ACCGTTTATG TATTTTGAGG AAATAGATAA TGAACTAGAA TACGAACCAG AAAGTGCAAA
3061 TGAGGTTGCT AAAAAACTTC CATATCAGGG ACAATTAAAA CTATTACTAG GAGAATTGTT
3121 TTTTCTTAGT AAGCTACAGA GACACGGTAT ATTGGACGGT GCCACTGTAG TGTATATAGG
3181 ATCGGCTCCT GGTACACACA TACGTTATCT ACGTGATCAT TTCTATAATT TAGGGGTAAT
3241 CATCAAATGG ATGCTAATTG ACGGGCATGC CCTGATGCGG TATTTTCTCC TTACGCATCT
3301 GTGCGGTATT TCACACCGCA TATGGTGCAC TCTCAGTACA ATCTGCTCTG ATGCCGCATA
3361 GTTAAGCCAG CCCCGACACC CGCCAACACC CGCTGACGCG CCCTGACGGG CTTGTCTGCT
3421 CCCGGCATCC GCTTACAGAC AAGCTGTGAC CGTCTCCGGG AGCTGCATGT GTCAGAGGTT
3481 TTCACCGTCA TCACCGAAAC GCGCGAGACG AAAGGGCCTC GTGATACGCC TATTTTTATA
3541 GGTTAATGTC ATGATAATAA TGGTTTCTTA GACGTCAGGT GGCACTTTTC GGGGAAATGT
3601 GCGCGGAACC CCTATTTGTT TATTTTTCTA AATACATTCA AATATGTATC CGCTCATGAG
3661 ACAATAACCC TGATAAATGC TTCAATAATA TTGAAAAAGG AAGAGTATGA GTATTCAACA
3721 TTTCCGTGTC GCCCTTATTC CCTTTTTTGC GGCATTTTGC CTTCCTGTTT TTGCTCACCC
3781 AGAAACGCTG GTGAAAGTAA AAGATGCTGA AGATCAGTTG GGTGCACGAG TGGGTTACAT
3841 CGAACTGGAT CTCAACAGCG GTAAGATCCT TGAGAGTTTT CGCCCCGAAG AACGTTTTCC
3901 AATGATGAGC ACTTTTAAAG TTCTGCTATG TGGCGCGGTA TTATCCCGTA TTGACGCCGG
3961 GCAAGAGCAA CTCGGTCGCC GCATACACTA TTCTCAGAAT GACTTGGTTG AGTACTCACC
4021 AGTCACAGAA AAGCATCTTA CGGATGGCAT GACAGTAAGA GAATTATGCA GTGCTGCCAT
4081 AACCATGAGT GATAACACTG CGGCCAACTT ACTTCTGACA ACGATCGGAG GACCGAAGGA
4141 GCTAACCGCT TTTTTGCACA ACATGGGGGA TCATGTAACT CGCCTTGATC GTTGGGAACC
4201 GGAGCTGAAT GAAGCCATAC CAAACGACGA GCGTGACACC ACGATGCCTG TAGCAATGGC
4261 AACAACGTTG CGCAAACTAT TAACTGGCGA ACTACTTACT CTAGCTTCCC GGCAACAATT
4321 AATAGACTGG ATGGAGGCGG ATAAAGTTGC AGGACCACTT CTGCGCTCGG CCCTTCCGGC
4381 TGGCTGGTTT ATTGCTGATA AATCTGGAGC CGGTGAGCGT GGGTCTCGCG GTATCATTGC
4441 AGCACTGGGG CCAGATGGTA AGCCCTCCCG TATCGTAGTT ATCTACACGA CGGGGAGTCA
4501 GGCAACTATG GATGAACGAA ATAGACAGAT CGCTGAGATA GGTGCCTCAC TGATTAAGCA
4561 TTGGTAACTG TCAGACCAAG TTTACTCATA TATACTTTAG ATTGATTTAA AACTTCATTT
4621 TTAATTTAAA AGGATCTAGG TGAAGATCCT TTTTGATAAT CTCATGACCA AAATCCCTTA
4681 ACGTGAGTTT TCGTTCCACT GAGCGTCAGA CCCCGTAGAA AAGATCAAAG GATCTTCTTG
4741 AGATCCTTTT TTTCTGCGCG TAATCTGCTG CTTGCAAACA AAAAAACCAC CGCTACCAGC
4801 GGTGGTTTGT TTGCCGGATC AAGAGCTACC AACTCTTTTT CCGAAGGTAA CTGGCTTCAG
4861 CAGAGCGCAG ATACCAAATA CTGTTCTTCT AGTGTAGCCG TAGTTAGGCC ACCACTTCAA
4921 GAACTCTGTA GCACCGCCTA CATACCTCGC TCTGCTAATC CTGTTACCAG TGGCTGCTGC
4981 CAGTGGCGAT AAGTCGTGTC TTACCGGGTT GGACTCAAGA CGATAGTTAC CGGATAAGGC
5041 GCAGCGGTCG GGCTGAACGG GGGGTTCGTG CACACAGCCC AGCTTGGAGC GAACGACCTA
5101 CACCGAACTG AGATACCTAC AGCGTGAGCT ATGAGAAAGC GCCACGCTTC CCGAAGGGAG
5161 AAAGGCGGAC AGGTATCCGG TAAGCGGCAG GGTCGGAACA GGAGAGCGCA CGAGGGAGCT
5221 TCCAGGGGGA AACGCCTGGT ATCTTTATAG TCCTGTCGGG TTTCGCCACC TCTGACTTGA
5281 GCGTCGATTT TTGTGATGCT CGTCAGGGGG GCGGAGCCTA TGGAAAAACG CCAGCAACGC
5341 GGCCTTTTTA CGGTTCCTGG CCTTTTGCTG GCCTTTTGCT CACATGTTCT TTCCTGCGTT
5401 ATCCCCTGAT TCTGTGGATA ACCGTATTAC CGCCTTTGAG TGAGCTGATA CCGCTCGCCG
5461 CAGCCGAACG ACCGAGCGCA GCGAGTCAGT GAGCGAGGAA GCGGAAGA
```

圖2(續)

質粒pFD2003SEL-FDAH-Seq

```
   1 TTATTGGACA CTAGATAATC ATCACATGTT ACCACAAAAT TATATAATGT ATAAATGCGA
  61 AATTATTAAA CGCAAATATC CATGGGAAAA CGCGCAGTAT ACAGACGATT TTTTACAGTA
 121 TTTGGAGAGT TTTATAGGAA GTATATAGAG TAGAACCAGA ATTTTGTAAA AATAAATCAC
 181 ATTTTTATAC TAATATGAAA CAACTATCGA TAGTTATATT GCTACTATCG ATAGTATATA
 241 CAACCAAACC TCATCCTACA CAGATATCAA AAAAACTAGG CGATGATGCT ACTCTATCGT
 301 GTAATAGAAA CAATACACAT GGATATCTTG TCATGAGTTC TTGGTATAAG AAACCAGACT
 361 CCATTATTCT CTTAGCAGCC AAAAACGATG TCGTATACTT TGATGATTAT ACAGCGGATA
 421 AAGTATCATA CGATTCACCG TATGATACTC TAGCTACAAT TATTACAATT AAATCATTGA
 481 CATCTGGAGA TGCAGGTACT TATATATGCG CATTCTTTAT AACATCAACA AATGATACGG
 541 ATAAAATAGA TTATGAAGAA TTCGTCGACG CGGCCGCCTG CAGAAGCTTG GTACCATGGG
 601 TATTTATATT CCAAAAAAAA AAAATAAAAT TTCAATTTTT GCTCTAGACA TCTATATACT
 661 ATATAGTAAT ACCAATACTC AAGACTACGA AACTGATACA ATCTCTTATC ATGTGGGTAA
 721 TGTTCTCGAT GTCGATAGCC ATATGCCCGG TAGTTGCGAT ATACATAAAC TGATCACTAA
 781 TTCCAAACCC ACCCGCTTTT TATAGTAAGT TTTTCACCCA TAAATAATAA ATACAATAAT
 841 TAATTTCTCG TAAAAGTAGA AAATATATTC TAATTTATTG CACGGTAAGG AAGTAGAATC
 901 ATAAAGAACA GTGACATGGA TCCCGTCGTT TTACAACGTC GTGACTGGGA AAACCCTGGC
 961 GTTACCCAAC TTAATCGCCT TGCAGCACAT CCCCCTTTCG CCAGCTGGCG TAATAGCGAA
1021 GAGGCCCGCA CCGATCGCCC TTCCCAACAG TTGCGCAGCC TGAATGGCGA ATGGCGCTTT
1081 GCCTGGTTTC CGGCACCAGA AGCGGTGCCG GAAAGCTGGC TGGAGTGCGA TCTTCCTGAG
1141 GCCGATACTG TCGTCGTCCC CTCAAACTGG CAGATGCACG GTTACGATGC GCCCATCTAC
1201 ACCAACGTAA CCTATCCCAT TACGGTCAAT CCGCCGTTTG TTCCCACGGA GAATCCGACG
1261 GGTTGTTACT CGCTCACATT TAATGTTGAT GAAAGCTGGC TACAGGAAGG CCAGACGCGA
1321 ATTATTTTTG ATGGCGTTAA CTCGGCGTTT CATCTGTGGT GCAACGGGCG CTGGGTCGGT
1381 TACGGCCAGG ACAGTCGTTT GCCGTCTGAA TTTGACCTGA GCGCATTTTT ACGCGCCGGA
1441 GAAAACCGCC TCGCGGTGAT GGTGCTGCGT TGGAGTGACG GCAGTTATCT GGAAGATCAG
1501 GATATGTGGC GGATGAGCGG CATTTTCCGT GACGTCTCGT TGCTGCATAA ACCGACTACA
1561 CAAATCAGCG ATTTCCATGT TGCCACTCGC TTTAATGATG ATTTCAGCCG CGCTGTACTG
1621 GAGGCTGAAG TTCAGATGTG CGGCGAGTTG CGTGACTACC TACGGGTAAC AGTTTCTTTA
1681 TGGCAGGGTG AAACGCAGGT CGCCAGCGGC ACCGCGCCTT TCGGCGGTGA AATTATCGAT
1741 GAGCGTGGTG GTTATGCCGA TCGCGTCACA CTACGTCTCA AGGTCGAAAA CCCGAAACTG
1801 TGGAGCGCCG AAATCCCGAA TCTCTATCGT GCGGTGGTTG AACTGCACAC CGCCGACGGC
1861 ACGCTGATTG AAGCAGAAGC CTGCGATGTC GGTTTCCGCG AGGTGCGGAT TGAAAATGGT
1921 CTGCTGCTGC TGAACGGCAA GCCGTTGCTG ATTCGAGGCG TTAACCGTCA CGAGCATCAT
1981 CCTCTGCATG GTCAGGTCAT GGATGAGCAG ACGATGGTGC AGGATATCCT GCTGATGAAG
2041 CAGAACAACT TTAACGCCGT GCGCTGTTCG CATTATCCGA ACCATCCGCT GTGGTACACG
2101 CTGTGCGACC GCTACGGCCT GTATGTGGTG GATGAAGCCA ATATTGAAAC CCACGGCATG
2161 GTGCCAATCA ATCGTCTGAC CGATGATCCG CGCTGGCTAC CGGCGATGAG CGAACGCGTA
2221 ACGCGAATGG TGCAGCGCGA TCGTAATCAC CCGAGTGTGA TCATCTGGTC GCTGGGGAAT
2281 GAATCAGGCC ACGGCGCTAA TCACGACGCG CTGTATCGCT GGATCAAATC TGTCGATCCT
2341 TCCCGCCCGG TGCAGTATGA AGGCGGCGGA GCCGACACCA CGGCCACCGA TATTATTTGC
2401 CCGATGTACG CGCGCGTGGA TGAAGACCAG CCCTTCCCGG CTGTGCCGAA ATGGTCCATC
2461 AAAAAATGGC TTTCGCTACC TGGAGAGACG CGCCCGCTGA TCCTTTGCGA ATACGCCCAC
```

圖3

質粒 pFD2003SEL-FDAH-Seq

```
2521 GCGATGGGTA ACAGTCTTGG CGGTTTCGCT AAATACTGGC AGGCGTTTCG TCAGTATCCC
2581 CGTTTACAGG GCGGCTTCGT CTGGGACTGG GTGGATCAGT CGCTGATTAA ATATGATGAA
2641 AACGGCAACC CGTGGTCGGC TTACGGCGGT GATTTTGGCG ATACGCCGAA CGATCGCCAG
2701 TTCTGTATGA ACGGTCTGGT CTTTGCCGAC CGCACGCCGC ATCCAGCGCT GACGGAAGCA
2761 AAACACCAGC AGCAGTTTTT CCAGTTCCGT TTATCCGGGC AAACCATCGA AGTGACCAGC
2821 GAATACCTGT TCCGTCATAG CGATAACGAG CTCCTGCACT GGATGGTGGC GCTGGATGGT
2881 AAGCCGCTGG CAAGCGGTGA AGTGCCTCTG GATGTCGCTC CACAAGGTAA ACAGTTGATT
2941 GAACTGCCTG AACTACCGCA GCCGGAGAGC GCCGGGCAAC TCTGGCTCAC AGTACGCGTA
3001 GTGCAACCGA ACGCGACCGC ATGGTCAGAA GCCGGGCACA TCAGCGCCTG GCAGCAGTGG
3061 CGTCTGGCGG AAAACCTCAG TGTGACGCTC CCCGCCGCGT CCCACGCCAT CCCGCATCTG
3121 ACCACCAGCG AAATGGATTT TTGCATCGAG CTGGGTAATA AGCGTTGGCA ATTTAACCGC
3181 CAGTCAGGCT TTCTTTCACA GATGTGGATT GGCGATAAAA AACAACTGCT GACGCCGCTG
3241 CGCGATCAGT TCACCCGTGC ACCGCTGGAT AACGACATTG GCGTAAGTGA AGCGACCCGC
3301 ATTGACCCTA ACGCCTGGGT CGAACGCTGG AAGGCGGCGG GCCATTACCA GGCCGAAGCA
3361 GCGTTGTTGC AGTGCACGGC AGATACACTT GCTGATGCGG TGCTGATTAC GACCGGTCAC
3421 GCGTGGCAGC ATCAGGGGAA AACCTTATTT ATCAGCCGGA AAACCTACCG GATTGATGGT
3481 AGTGGTCAAA TGGCGATTAC CGTTGATGTT GAAGTGGCGA GCGATACACC GCATCCGGCG
3541 CGGATTGGCC TGAACTGCCA GCTGGCGCAG GTAGCAGAGC GGGTAAACTG GCTCGGATTA
3601 GGGCCGCAAG AAAACTATCC CGACCGCCTT ACTGCCGCCT GTTTTGACCG CTGGGATCTG
3661 CCATTGTCAG ACATGTATAC CCCGTACGTC TTCCCGAGCG AAAACGGTCT GCGCTGCGGG
3721 ACGCGCGAAT TGAATTATGG CCCACACCAG TGGCGCGGCG ACTTCCAGTT CAACATCAGC
3781 CGCTACAGTC AACAGCAACT GATGGAAACC AGCCATCGCC ATCTGCTGCA CGCGGAAGAA
3841 GGCACATGGC TGAATATCGA CGGTTTCCAT ATGGGGATTG GTGGCGACGA CTCCTGGAGC
3901 CCGTCAGTAT CGGCGGAATT CCAGCTGAGC GCCGTTCGCT ACCATTACCA GTTGGTCTGG
3961 TGTCAAAAAT AAGGATCCTC GATACCAACA ACGGTAGAAA GTGTTACAAT ATCTACTACA
4021 AAATATACAA CTAGTGACTT TATAGAGATA TTTGGCATTG TTTCACTAAT TTTATTATTG
4081 GCCGTGGCGA TTTTCTGTAT TATATATTAT TTCTGTAGTG GACGGTCTCG TAAACAAGAA
4141 ACAAATATAT TATAGATTTT AACTCAGATA AATGTCTGGA ATAATTAAAT CTATCGTTTT
4201 GAGCGGACCA TCTGGTTCCG GCAAGACAGC TATAGTCAGG AGACTCTTAC AAGATTATGG
4261 AAATATATTT GGATTTGTGG TATCCCATAC CACTAGATTT CCTCGTCCTA TGGAACGAGA
4321 AGGTGTCGTC TACCATTACG TTAACAGAGA GGCCATTTGG AAGGGAATAG CCGCTGGAAA
4381 CTTGCTAGAA CATACAGAGT TTTTGGGAAA TATTTATGGG ACTTCTAAAA CATCCATGAA
4441 CACAGCTGCT ATTAATAATC GTATATGTGT TATGGATTTA AACATTGACG GAGTTAGGAG
4501 TCTTAAAAAC ACATACTTGA TGCCTTACTC TGTTTATATA AGACCTACAT CTCTTAAAAT
4561 GGTAGAAACT GCATGCCCTG ATGCGGTATT TTCTCCTTAC GCATCTGTGC GGTATTTCAC
4621 ACCGCATATG GTGCACTCTC AGTACAATCT GCTCTGATGC CGCATAGTTA AGCCAGCCCC
4681 GACACCCGCC AACACCCGCT GACGCGCCCT GACGGGCTTG TCTGCTCCCG GCATCCGCTT
4741 ACAGACAAGC TGTGACCGTC TCCGGGAGCT GCATGTGTCA GAGGTTTTCA CCGTCATCAC
4801 CGAAACGCGC GAGACGAAAG GGCCTCGTGA TACGCCTATT TTTATAGGTT AATGTCATGA
4861 TAATAATGGT TTCTTAGACG TCAGGTGGCA CTTTTCGGGG AAATGTGCGC GGAACCCCTA
4921 TTTGTTTATT TTTCTAAATA CATTCAAATA TGTATCCGCT CATGAGACAA TAACCCTGAT
4981 AAATGCTTCA ATAATATTGA AAAAGGAAGA GTATGAGTAT TCAACATTTC CGTGTCGCCC
5041 TTATTCCCTT TTTTGCGGCA TTTTGCCTTC CTGTTTTTGC TCACCCAGAA ACGCTGGTGA
5101 AAGTAAAAGA TGCTGAAGAT CAGTTGGGTG CACGAGTGGG TTACATCGAA CTGGATCTCA
5161 ACAGCGGTAA GATCCTTGAG AGTTTTCGCC CCGAAGAACG TTTTCCAATG ATGAGCACTT
5221 TTAAAGTTCT GCTATGTGGC GCGGTATTAT CCCGTATTGA CGCCGGGCAA GAGCAACTCG
5281 GTCGCCGCAT ACACTATTCT CAGAATGACT TGGTTGAGTA CTCACCAGTC ACAGAAAAGC
5341 ATCTTACGGA TGGCATGACA GTAAGAGAAT TATGCAGTGC TGCCATAACC ATGAGTGATA
5401 ACACTGCGGC CAACTTACTT CTGACAACGA TCGGAGGACC GAAGGAGCTA ACCGCTTTTT
5461 TGCACAACAT GGGGGATCAT GTAACTCGCC TTGATCGTTG GGAACCGGAG CTGAATGAAG
5521 CCATACCAAA CGACGAGCGT GACACCACGA TGCCTGTAGC AATGGCAACA ACGTTGCGCA
5581 AACTATTAAC TGGCGAACTA CTTACTCTAG CTTCCCGGCA ACAATTAATA GACTGGATGG
5641 AGGCGGATAA AGTTGCAGGA CCACTTCTGC GCTCGGCCCT TCCGGCTGGC TGGTTTATTG
5701 CTGATAAATC TGGAGCCGGT GAGCGTGGGT CTCGCGGTAT CATTGCAGCA CTGGGGCCAG
5761 ATGGTAAGCC CTCCCGTATC GTAGTTATCT ACACGACGGG GAGTCAGGCA ACTATGGATG
5821 AACGAAATAG ACAGATCGCT GAGATAGGTG CCTCACTGAT TAAGCATTGG TAACTGTCAG
5881 ACCAAGTTTA CTCATATATA CTTTAGATTG ATTTAAAACT TCATTTTTAA TTTAAAAGGA
5941 TCTAGGTGAA GATCCTTTTT GATAATCTCA TGACCAAAAT CCCTTAACGT GAGTTTTCGT
6001 TCCACTGAGC GTCAGACCCC GTAGAAAAGA TCAAAGGATC TTCTTGAGAT CCTTTTTTTC
6061 TGCGCGTAAT CTGCTGCTTG CAAACAAAAA AACCACCGCT ACCAGCGGTG GTTTGTTTGC
6121 CGGATCAAGA GCTACCAACT CTTTTTCCGA AGGTAACTGG CTTCAGCAGA GCGCAGATAC
6181 CAAATACTGT TCTTCTAGTG TAGCCGTAGT TAGGCCACCA CTTCAAGAAC TCTGTAGCAC
6241 CGCCTACATA CCTCGCTCTG CTAATCCTGT TACCAGTGGC TGCTGCCAGT GGCGATAAGT
```

圖3(續)

質粒 pFD2003SEL-FDAH-Seq

```
6301 CGTGTCTTAC CGGGTTGGAC TCAAGACGAT AGTTACCGGA TAAGGCGCAG CGGTCGGGCT
6361 GAACGGGGGG TTCGTGCACA CAGCCCAGCT TGGAGCGAAC GACCTACACC GAACTGAGAT
6421 ACCTACAGCG TGAGCTATGA GAAAGCGCCA CGCTTCCCGA AGGGAGAAAG GCGGACAGGT
6481 ATCCGGTAAG CGGCAGGGTC GGAACAGGAG AGCGCACGAG GGAGCTTCCA GGGGGAAACG
6541 CCTGGTATCT TTATAGTCCT GTCGGGTTTC GCCACCTCTG ACTTGAGCGT CGATTTTTGT
6601 GATGCTCGTC AGGGGGGCGG AGCCTATGGA AAAACGCCAG CAACGCGGCC TTTTTACGGT
6661 TCCTGGCCTT TTGCTGGCCT TTTGCTCACA TGTTCTTTCC TGCGTTATCC CCTGATTCTG
6721 TGGATAACCG TATTACCGCC TTTGAGTGAG CTGATACCGC TCGCCGCAGC CGAACGACCG
6781 AGCGCAGCGA GTCAGTGAGC GAGGAAGCGG AAGAGAGCTC
```

圖3(續)

質粒 pFD2003SEL-GPV-PV-FDAH-Seq

```
   1 TTATTGGACA CTAGATAATC ATCACATGTT ACCACAAAAT TATATAATGT ATAAATGCGA
  61 AATTATTAAA CGCAAATATC CATGGGAAAA CGCGCAGTAT ACAGACGATT TTTTACAGTA
 121 TTTGGAGAGT TTTATAGGAA GTATATAGAG TAGAACCAGA ATTTTGTAAA AATAAATCAC
 181 ATTTTTATAC TAATATGAAA CAACTATCGA TAGTTATATT GCTACTATCG ATAGTATATA
 241 CAACCAAACC TCATCCTACA CAGATATCAA AAAAACTAGG CGATGATGCT ACTCTATCGT
 301 GTAATAGAAA CAATACACAT GGATATCTTG TCATGAGTTC TTGGTATAAG AAACCAGACT
 361 CCATTATTCT CTTAGCAGCC AAAAACGATG TCGTATACTT TGATGATTAT ACAGCGGATA
 421 AAGTATCATA CGATTCACCG TATGATACTC TAGCTACAAT TATTACAATT AAATCATTGA
 481 CATCTGGAGA TGCAGGTACT TATATATGCG CATTCTTTAT AACATCAACA AATGATACGG
 541 ATAAAATAGA TTATGAAGAA TTCGTCGACT CACAGTCCGG TCTCACCCCC GCTCTTGTAT
 601 GATTCCCATG AAGATATGAT CTTCCCGCTT TGGGGAGTGA CTGACACCTC CCTCCCTGTC
 661 CCTCTGAGAT TGTGTTGTGT AGGTTCCGAT CGATTGACTC TTCTCCAGCA TGTCATCAGG
 721 AAAATTATCA ACATCAAGGC AGTCAGGGCC CCTGCACTCA GTAATACATA CTTCCCCCAG
 781 TTCGGGAGAC CCAAGTCAAC TCCTGAGATC CGTTCGTGCA CATCGGGAAG GTGAACTTCA
 841 ACAAAATCCT CAGCCTCGTC ACCGTTCTTG AAAACGGTAG ACGGGTCTGC CAGGGGGTGC
 901 ATAAGGGGGA TAACCGAGGA TACCAACAAC TCCATATGTT GCTGGAGGAG GGATGATTGC
 961 ATCTCTGGGA TTAAGACATT GCCGTCAGGT CCTAATATTA TACCATTGAA AAATACCCCG
1021 TTTACATGAG GATGACACCT CCCCCCAACT CTTAAACACC CTTTTGAAGG GATGATCTCA
1081 TTCCAAGTTC TGACTGACTT GTAGTGAGCA TCGGCTTCCA TCAAGGTCTT GTTGAATATG
1141 GTATATGCTT TTCCAAACCC AGGGACAAGT TTTCTTAAAT GACTGAGACG TCTGAAACTC
1201 ACTGACTTGG TGGTCATGAT GGACTCTAGT GCATCCAGAC ACTCCTCTCT CTTCTTGACC
1261 AACTCCTCTA CAACAAGGTG CTCAATTTCG TCTGAGCGAA AGTCGTGCAA ATTGATCAAC
1321 TGACCGGGAG GGCACCATTT GGTTTCATTT GATGTTTGCA TCGAGACCCA TGTTCCATCC
1381 ATAAGTCTAA GTCCGAGAAC TCCACATAAC TGGAGTTTGC ATGCTCCTTT TAAAGACTTA
1441 TATAGGCCTC TTTCATCTAC AAAGCCGCAA GTCTCACTCC CTTTGGATGC TCTCTTCCCT
1501 CTACTATTGG TAAAAATGTC ACAAGACATC CCTAGTCTCG GATTCTCGGG CATCCAAATG
1561 GTGTAATCGT GGTTAGTGGA GCAGTAGGTA GAAGACACCG CTACTCCTGA GCACTTCCCG
1621 CCAGGGAAGA CCCTCGAGTG AAGGGATCTG TCATATGGGT CCAAATCTGC CACACTTGGA
1681 GATATGATAA CGAGAGACTC CTTGGTGGTT TTTACAGTTC GAAGCCAGTG GTAGTCAGGG
1741 TACGGATTGT GTAGAGACTC TTCATATCTG GGGTCACCGG CCATCTTCCA GTTGTACGCG
1801 GCTCTACATG CATCTGGTGT TGGGCGGAAA TGCTTTCTTT TGAACGTGGT TGTGACATAA
1861 CCAACGAAGT TAGTGTAGGT TTCAGCCTCC GTCACAACGC CTGTGCAAGT GAACCCGTTC
1921 ATTTTTATGG CTGAGATGTA TCCAACTTTA AGTTCCATGT AGGAGAACCC TGACAGGTTG
1981 GTGCATCCTT CGTCCTCCAC TACCAAATTG TTTGGGCAGC TGAGGTGATG TATGTCAATC
2041 GGGCTCCAGG GACCAAGCTT GTCTGGTATC GTGTAAATAG GGAATTTCCC AAAACACAAT
2101 GGAAAAACCA GAAGGGGTAC AAACAGGAGA GCCTGAGGAA CCGGTACCAT GGGTATTTAT
2161 ATTCCAAAAA AAAAAAATAA AATTTCAATT TTTGCTCTAG ACATCTATAT ACTATATAGT
2221 AATACCAATA CTCAAGACTA CGAAACTGAT ACAATCTCTT ATCATGTGGG TAATGTTCTC
2281 GATGTCGATA GCCATATGCC CGGTAGTTGC GATATACATA AACTGATCAC TAATTCCAAA
2341 CCCACCCGCT TTTTATAGTA AGTTTTTCAC CCATAAATAA TAAATACAAT AATTAATTTC
```

圖4

質粒 pFD2003SEL-GPV-PV-FDAH-Seq

```
2401 TCGTAAAAGT AGAAAATATA TTCTAATTTA TTGCACGGTA AGGAAGTAGA ATCATAAAGA
2461 ACAGTGACAT GGATCCCGTC GTTTTACAAC GTCGTGACTG GGAAAACCCT GGCGTTACCC
2521 AACTTAATCG CCTTGCAGCA CATCCCCCTT TCGCCAGCTG GCGTAATAGC GAAGAGGCCC
2581 GCACCGATCG CCCTTCCCAA CAGTTGCGCA GCCTGAATGG CGAATGGCGC TTTGCCTGGT
2641 TTCCGGCACC AGAAGCGGTG CCGGAAAGCT GGCTGGAGTG CGATCTTCCT GAGGCCGATA
2701 CTGTCGTCGT CCCCTCAAAC TGGCAGATGC ACGGTTACGA TGCGCCCATC TACACCAACG
2761 TAACCTATCC CATTACGGTC AATCCGCCGT TTGTTCCCAC GGAGAATCCG ACGGGTTGTT
2821 ACTCGCTCAC ATTTAATGTT GATGAAAGCT GGCTACAGGA AGGCCAGACG CGAATTATTT
2881 TTGATGGCGT TAACTCGGCG TTTCATCTGT GGTGCAACGG GCGCTGGGTC GGTTACGGCC
2941 AGGACAGTCG TTTGCCGTCT GAATTTGACC TGAGCGCATT TTTACGCGCC GGAGAAAACC
3001 GCCTCGCGGT GATGGTGCTG CGTTGGAGTG ACGGCAGTTA TCTGGAAGAT CAGGATATGT
3061 GGCGGATGAG CGGCATTTTC CGTGACGTCT CGTTGCTGCA TAAACCGACT ACACAAATCA
3121 GCGATTTCCA TGTTGCCACT CGCTTTAATG ATGATTTCAG CCGCGCTGTA CTGGAGGCTG
3181 AAGTTCAGAT GTGCGGCGAG TTGCGTGACT ACCTACGGGT AACAGTTTCT TTATGGCAGG
3241 GTGAAACGCA GGTCGCCAGC GGCACCGCGC CTTTCGGCGG TGAAATTATC GATGAGCGTG
3301 GTGGTTATGC CGATCGCGTC ACACTACGTC TCAAGGTCGA AAACCCGAAA CTGTGGAGCG
3361 CCGAAATCCC GAATCTCTAT CGTGCGGTGG TTGAACTGCA CACCGCCGAC GGCACGCTGA
3421 TTGAAGCAGA AGCCTGCGAT GTCGGTTTCC GCGAGGTGCG GATTGAAAAT GGTCTGCTGC
3481 TGCTGAACGG CAAGCCGTTG CTGATTCGAG GCGTTAACCG TCACGAGCAT CATCCTCTGC
3541 ATGGTCAGGT CATGGATGAG CAGACGATGG TGCAGGATAT CCTGCTGATG AAGCAGAACA
3601 ACTTTAACGC CGTGCGCTGT TCGCATTATC CGAACCATCC GCTGTGGTAC ACGCTGTGCG
3661 ACCGCTACGG CCTGTATGTG GTGGATGAAG CCAATATTGA AACCCACGGC ATGGTGCCAA
3721 TCAATCGTCT GACCGATGAT CCGCGCTGGC TACCGGCGAT GAGCGAACGC GTAACGCGAA
3781 TGGTGCAGCG CGATCGTAAT CACCCGAGTG TGATCATCTG GTCGCTGGGG AATGAATCAG
3841 GCCACGGCGC TAATCACGAC GCGCTGTATC GCTGGATCAA ATCTGTCGAT CCTTCCCGCC
3901 CGGTGCAGTA TGAAGGCGGC GGAGCCGACA CCACGGCCAC CGATATTATT TGCCCGATGT
3961 ACGCGCGCGT GGATGAAGAC CAGCCCTTCC CGGCTGTGCC GAAATGGTCC ATCAAAAAAT
4021 GGCTTTCGCT ACCTGGAGAG ACGCGCCCGC TGATCCTTTG CGAATACGCC CACGCGATGG
4081 GTAACAGTCT TGGCGGTTTC GCTAAATACT GGCAGGCGTT TCGTCAGTAT CCCCGTTTAC
4141 AGGGCGGCTT CGTCTGGGAC TGGGTGGATC AGTCGCTGAT TAAATATGAT GAAAACGGCA
4201 ACCCGTGGTC GGCTTACGGC GGTGATTTTG GCGATACGCC GAACGATCGC CAGTTCTGTA
4261 TGAACGGTCT GGTCTTTGCC GACCGCACGC CGCATCCAGC GCTGACGGAA GCAAAACACC
4321 AGCAGCAGTT TTTCCAGTTC CGTTTATCCG GGCAAACCAT CGAAGTGACC AGCGAATACC
4381 TGTTCCGTCA TAGCGATAAC GAGCTCCTGC ACTGGATGGT GGCGCTGGAT GGTAAGCCGC
4441 TGGCAAGCGG TGAAGTGCCT CTGGATGTCG CTCCACAAGG TAAACAGTTG ATTGAACTGC
4501 CTGAACTACC GCAGCCGGAG AGCGCCGGGC AACTCTGGCT CACAGTACGC GTAGTGCAAC
4561 CGAACGCGAC CGCATGGTCA GAAGCCGGGC ACATCAGCGC CTGGCAGCAG TGGCGTCTGG
4621 CGGAAAACCT CAGTGTGACG CTCCCCGCCG CGTCCCACGC CATCCCGCAT CTGACCACCA
4681 GCGAAATGGA TTTTTGCATC GAGCTGGGTA ATAAGCGTTG GCAATTTAAC CGCCAGTCAG
4741 GCTTTCTTTC ACAGATGTGG ATTGGCGATA AAAAACAACT GCTGACGCCG CTGCGCGATC
4801 AGTTCACCCG TGCACCGCTG GATAACGACA TTGGCGTAAG TGAAGCGACC CGCATTGACC
4861 CTAACGCCTG GGTCGAACGC TGGAAGGCGG CGGGCCATTA CCAGGCCGAA GCAGCGTTGT
4921 TGCAGTGCAC GGCAGATACA CTTGCTGATG CGGTGCTGAT TACGACCGGT CACGCGTGGC
4981 AGCATCAGGG GAAAACCTTA TTTATCAGCC GGAAAACCTA CCGGATTGAT GGTAGTGGTC
5041 AAATGGCGAT TACCGTTGAT GTTGAAGTGG CGAGCGATAC ACCGCATCCG GCGCGGATTG
5101 GCCTGAACTG CCAGCTGGCG CAGGTAGCAG AGCGGGTAAA CTGGCTCGGA TTAGGGCCGC
5161 AAGAAAACTA TCCCGACCGC CTTACTGCCG CCTGTTTTGA CCGCTGGGAT CTGCCATTGT
5221 CAGACATGTA TACCCCGTAC GTCTTCCCGA GCGAAAACGG TCTGCGCTGC GGGACGCGCG
5281 AATTGAATTA TGGCCCACAC CAGTGGCGCG GCGACTTCCA GTTCAACATC AGCCGCTACA
5341 GTCAACAGCA ACTGATGGAA ACCAGCCATC GCCATCTGCT GCACGCGGAA GAAGGCACAT
5401 GGCTGAATAT CGACGGTTTC CATATGGGGA TTGGTGGCGA CGACTCCTGG AGCCCGTCAG
5461 TATCGGCGGA ATTCCAGCTG AGCGCCGTTC GCTACCATTA CCAGTTGGTC TGGTGTCAAA
5521 AATAAGGATC CTCGATACCA ACAACGGTAG AAAGTGTTAC AATATCTACT ACAAAATATA
5581 CAACTAGTGA CTTTATAGAG ATATTTGGCA TTGTTTCACT AATTTTATTA TTGGCCGTGG
5641 CGATTTTCTG TATTATATAT TATTTCTGTA GTGGACGGTC TCGTAAACAA GAAACAAATA
5701 TATTATAGAT TTTAACTCAG ATAAATGTCT GGAATAATTA AATCTATCGT TTTGAGCGGA
5761 CCATCTGGTT CCGGCAAGAC AGCTATAGTC AGGAGACTCT TACAAGATTA TGGAAATATA
5821 TTTGGATTTG TGGTATCCCA TACCACTAGA TTTCCTCGTC CTATGGAACG AGAAGGTGTC
5881 GTCTACCATT ACGTTAACAG AGAGGCCATT TGGAAGGGAA TAGCCGCTGG AAACTTGCTA
5941 GAACATACAG AGTTTTTGGG AAATATTTAT GGGACTTCTA AAACATCCAT GAACACAGCT
6001 GCTATTAATA ATCGTATATG TGTTATGGAT TTAAACATTG ACGGAGTTAG GAGTCTTAAA
6061 AACACATACT TGATGCCTTA CTCTGTTTAT ATAAGACCTA CATCTCTTAA AATGGTAGAA
6121 ACTGCATGCC CTGATGCGGT ATTTTCTCCT TACGCATCTG TGCGGTATTT CACACCGCAT
```

圖4(續)

質粒 pFD2003SEL-GPV-PV-FDAH-Seq

```
6181 ATGGTGCACT CTCAGTACAA TCTGCTCTGA TGCCGCATAG TTAAGCCAGC CCCGACACCC
6241 GCCAACACCC GCTGACGCGC CCTGACGGGC TTGTCTGCTC CCGGCATCCG CTTACAGACA
6301 AGCTGTGACC GTCTCCGGGA GCTGCATGTG TCAGAGGTTT TCACCGTCAT CACCGAAACG
6361 CGCGAGACGA AAGGGCCTCG TGATACGCCT ATTTTTATAG GTTAATGTCA TGATAATAAT
6421 GGTTTCTTAG ACGTCAGGTG GCACTTTTCG GGGAAATGTG CGCGGAACCC CTATTTGTTT
6481 ATTTTTCTAA ATACATTCAA ATATGTATCC GCTCATGAGA CAATAACCCT GATAAATGCT
6541 TCAATAATAT TGAAAAAGGA AGAGTATGAG TATTCAACAT TTCCGTGTCG CCCTTATTCC
6601 CTTTTTTGCG GCATTTTGCC TTCCTGTTTT TGCTCACCCA GAAACGCTGG TGAAAGTAAA
6661 AGATGCTGAA GATCAGTTGG GTGCACGAGT GGGTTACATC GAACTGGATC TCAACAGCGG
6721 TAAGATCCTT GAGAGTTTTC GCCCCGAAGA ACGTTTTCCA ATGATGAGCA CTTTTAAAGT
6781 TCTGCTATGT GGCGCGGTAT TATCCCGTAT TGACGCCGGG CAAGAGCAAC TCGGTCGCCG
6841 CATACACTAT TCTCAGAATG ACTTGGTTGA GTACTCACCA GTCACAGAAA AGCATCTTAC
6901 GGATGGCATG ACAGTAAGAG AATTATGCAG TGCTGCCATA ACCATGAGTG ATAACACTGC
6961 GGCCAACTTA CTTCTGACAA CGATCGGAGG ACCGAAGGAG CTAACCGCTT TTTTGCACAA
7021 CATGGGGGAT CATGTAACTC GCCTTGATCG TTGGGAACCG GAGCTGAATG AAGCCATACC
7081 AAACGACGAG CGTGACACCA CGATGCCTGT AGCAATGGCA ACAACGTTGC GCAAACTATT
7141 AACTGGCGAA CTACTTACTC TAGCTTCCCG GCAACAATTA ATAGACTGGA TGGAGGCGGA
7201 TAAAGTTGCA GGACCACTTC TGCGCTCGGC CCTTCCGGCT GGCTGGTTTA TTGCTGATAA
7261 ATCTGGAGCC GGTGAGCGTG GGTCTCGCGG TATCATTGCA GCACTGGGGC CAGATGGTAA
7321 GCCCTCCCGT ATCGTAGTTA TCTACACGAC GGGGAGTCAG GCAACTATGG ATGAACGAAA
7381 TAGACAGATC GCTGAGATAG GTGCCTCACT GATTAAGCAT TGGTAACTGT CAGACCAAGT
7441 TTACTCATAT ATACTTTAGA TTGATTTAAA ACTTCATTTT TAATTTAAAA GGATCTAGGT
7501 GAAGATCCTT TTTGATAATC TCATGACCAA AATCCCTTAA CGTGAGTTTT CGTTCCACTG
7561 AGCGTCAGAC CCCGTAGAAA AGATCAAAGG ATCTTCTTGA GATCCTTTTT TTCTGCGCGT
7621 AATCTGCTGC TTGCAAACAA AAAAACCACC GCTACCAGCG GTGGTTTGTT TGCCGGATCA
7681 AGAGCTACCA ACTCTTTTTC CGAAGGTAAC TGGCTTCAGC AGAGCGCAGA TACCAAATAC
7741 TGTTCTTCTA GTGTAGCCGT AGTTAGGCCA CCACTTCAAG AACTCTGTAG CACCGCCTAC
7801 ATACCTCGCT CTGCTAATCC TGTTACCAGT GGCTGCTGCC AGTGGCGATA AGTCGTGTCT
7861 TACCGGGTTG GACTCAAGAC GATAGTTACC GGATAAGGCG CAGCGGTCGG GCTGAACGGG
7921 GGGTTCGTGC ACACAGCCCA GCTTGGAGCG AACGACCTAC ACCGAACTGA GATACCTACA
7981 GCGTGAGCTA TGAGAAAGCG CCACGCTTCC CGAAGGGAGA AAGGCGGACA GGTATCCGGT
8041 AAGCGGCAGG GTCGGAACAG GAGAGCGCAC GAGGGAGCTT CCAGGGGGAA ACGCCTGGTA
8101 TCTTTATAGT CCTGTCGGGT TTCGCCACCT CTGACTTGAG CGTCGATTTT TGTGATGCTC
8161 GTCAGGGGGG CGGAGCCTAT GGAAAAACGC CAGCAACGCG GCCTTTTTAC GGTTCCTGGC
8221 CTTTTGCTGG CCTTTTGCTC ACATGTTCTT TCCTGCGTTA TCCCCTGATT CTGTGGATAA
8281 CCGTATTACC GCCTTTGAGT GAGCTGATAC CGCTCGCCGC AGCCGAACGA CCGAGCGCAG
8341 CGAGTCAGTG AGCGAGGAAG CGGAAGAGAG CTC
```

圖4(續)

PCV2a orf2-FDAH-Seq

```
   1 ATGACGTATC CAAGGAGGCG TTACCGCAGA AGAAGACACC GCCCCCGCAG CCATCTTGGC
  61 CAGATCCTCC GCCGCCGCCC CTGGCTCGTC CACCCCCGCC ACCGCTACCG TTGGAGAAGG
 121 AAAAATGGCA TCTTCAACAC CCGCCTCTCC CGCACCTTCG GATATACTGT CAAGGCTACC
 181 ACAGTCAGAA CGCCCTCCTG GGCGGTGGAC ATGATGAGAT TTAATATTGA CGACTTTGTT
 241 CCCCCGGGAG GGGGGACCAA CAAAATCTCT ATACCCTTTG AATACTACAG AATAAGAAAG
 301 GTTAAGGTTG AATTCTGGCC CTGCTCCCCC ATCACCCAGG GTGATAGGGG AGTGGGCTCC
 361 ACTGCTGTTA TTCTAGATGA TAACTTTGTA ACAAAGGCCA CAGCCCTAAC CTATGACCCA
 421 TATGTAAACT ACTCCTCCCG CCATACAATC CCCCAACCCT TCTCCTACCA CTCCCGTTAC
 481 TTCACACCCA AACCTGTTCT TGACTCCACC ATTGATTACT TCCAACCAAA TAACAAAAGG
 541 AATCAGCTTT GGATGAGGCT ACAAACCTCT AGAAATGTGG ACCACGTAGG CCTCGGCACT
 601 GCGTTCGAAA ACAGTATATA CGACCAGGAC TACAATATCC GTGTAACCAT GTATGTACAA
 661 TTCAGAGAAT TTAATCTTAA AGACCCCCCA CTTAAACCCT AA
```

圖5

PCV2b-orf2-FDAH-Seq

```
   1 ATGACGTATC CAAGGAGGCG TTACCGAAGA AGAAGACACC GCCCCCGCAG CCATCTTGGC
  61 CAGATCCTCC GCCGCCGCCC CTGGCTCGTC CACCCCCGCC ACCGTTACCG CTGGAGAAGG
 121 AAAAATGGCA TCTTCAACAC CCGCCTCTCC CGCACCTTCG GATATACTGT CAAGCGAACC
 181 ACAGTCAGAA CGCCCTCCTG GGCGGTGGAC ATGATGAGAT TCAATATTAA TGACTTTCTT
 241 CCCCCAGGAG GGGGCTCAAA CCCCCGCTCT GTGCCCTTTG AATACTACAG AATAAGAAAG
 301 GTTAAGGTTG AATTCTGGCC CTGCTCCCCG ATCACCCAGG GTGACAGGGG AGTGGGCTCC
 361 AGTGCTGTTA TTCTAGATGA TAACTTTGTA ACAAAGGCCA CAGCCCTCAC CTATGACCCC
 421 TATGTAAACT ACTCCTCCCG CCATACCATA ACCCAGCCCT TCTCCTACCA CTCCCGGTAC
 481 TTTACCCCCA AACCTGTCCT AGATTCCACT ATTGATTACT TCCAACCAAA CAACAAAAGA
 541 AACCAGCTGT GGCTGAGACT ACAAACTGCT GGAAATGTAG ACCACGTAGG CCTCGGCACT
 601 GCGTTCGAAA ACAGTATATA CGACCAGGAA TACAATATCC GTGTAACCAT GTATGTACAA
 661 TTCAGAGAAT TTAATTTTAA AGACCCCCCA CTTAACCCTT AA
```

圖6

PRRSV ISU12-orf3-FDAH-Seq

```
   1 ATGGCTAATA GCTGTACATT CCTCCATATT TTCCTCTGTT GCAGCTTCTT GTACTCTTTT
  61 TGTTGTGCTG TGGTTGCGGG TTCCAATGCT ACGTACTGTT TTTGGTTTCC GCTGGTTAGG
 121 GGCAATTTTT CTTTCGAACT CACGGTGAAC TACACGGTGT GCCCGCCTTG CCTCACCCGG
 181 CAAGCAGCCG CAGAGGCCTA CGAACCCGGT AGGTCCCTTT GGTGCAGGAT AGGGCATGAT
 241 CGATGTGGGG AGGACGATCA TGATGAACTA GGGTTTGTGG TGCCGCCTGG CCTCTCCAGC
 301 GAAGGCCACT TGACCAGTGC TTACGCCTGG TTGGCGTTCC TGTCCTTCAG CTATACGGCC
 361 CAGTTCCATC CCGAGATATT CGGGATAGGG AATGTGAGTC GAGTCTATGT TGACATCAAG
 421 CACCAATTCA TTTGCGCTGT TCATGATGGG CAGAACACCA CCTTGCCCCA CCATGACAAC
 481 ATTTCAGCCG TGTTTCAGAC CTATTACCAG CATCAGGTCG ACGGCGGCAA TTGGTTTCAC
 541 CTAGAATGGC TGCGTCCCTT CTTTTCCTCT TGGTTGGTTT TAAATGTCTC TTGGTTTCTC
 601 AGGCGTTCGC CTGCAAGCCA TGTTTCAGTT CGAGTCTTTC AGACATCAAG ACCAACACCA
 661 CCGCAGCGGC AGGCTTTGCT GTCCTCCAAG ACATCAGTTG CCTTAGGCAT CGCAACTCGG
 721 CCTCTGAGGC GATTCGCAAA GTCCCTCAGT GCCGCACGGC GATAG
```

圖7

PRRSV ISU12-orf4-FDAH-Seq

```
  1 ATGGCTGCGT CCCTTCTTTT CCTCTTGGTT GGTTTTAAAT GTCTCTTGGT TTCTCAGGCG
 61 TTCGCCTGCA AGCCATGTTT CAGTTCGAGT CTTTCAGACA TCAAGACCAA CACCACCGCA
121 GCGGCAGGCT TTGCTGTCCT CCAAGACATC AGTTGCCTTA GGCATCGCAA CTCGGCCTCT
181 GAGGCGATTC GCAAAGTCCC TCAGTGCCGC ACGGCGATAG GGACACCCGT GTATATCACT
241 GTCACAGCCA ATGTTACCGA TGAGAATTAT TTGCATTCCT CTGATCTTCT CATGCTTTCT
301 TCTTGCCTTT TCTATGCTTC TGAGATGAGT GAAAAGGGAT TTAAGGTGGT ATTTGGCAAT
361 GTGTCAGGCA TCGTGGCAGT GTGCGTCAAC TTCACCAGTT ACGTCCAACA TGTCAAGGAA
421 TTTACCCAAC GTTCCTTGGT AGTTGACCAT GTGCGGCTGC TCCATTTCAT GACGCCCGAG
481 ACCATGAGGT GGGCAACTGT TTTAGCCTGT CTTTTTGCCA TTCTGTTGGC AATTTGA
```

圖8

PRRSV-ISU12-orf5-FDAH-Seq

```
  1 ATGTTGGGGA AATGCTTGAC CGCGGGCTGT TGCTCGCAAT TGCTTTTTTT GTGGTGTATC
 61 GTGCCGTCTT GTTTTGTTGC GCTCGTCAGC GCCAACGGGA ACAGCAGCTC AAATTTACAG
121 CTGATTTACA ACTTGACGCT ATGTGAGCTG AATGGCACAG ATTGGCTAGC TAATAAATTT
181 GACTGGGCAG TGGAGTGTTT TGTCATTTTT CCTGTGTTGA CTCACATTGT CTCTTATGGT
241 GCCCTCACTA CTAGCCATTT CCTTGACACA GTCGGTCTGG TCACTGTGTC TACCGCTGGG
301 TTTGTTCACG GGCGGTATGT TCTGAGTAGC ATCTACGCGG TCTGTGCCCT GGCTGCGTTG
361 ATTTGCTTCG TCATTAGGCT TGCGAAGAAT TGCATGTCCT GGCGCTACTC ATGTACCAGA
421 TATACCAACT TTCTTCTGGA CACTAAGGGC AGACTCTATC GTTGGCGGTC GCCTGTCATC
481 ATAGAGAAAA GGGGCAAAGT TGAGGTCGAA GGTCACCTGA TCGACCTCAA AAGAGTTGTG
541 CTTGATGGTT CCGCGGCTAC CCCTGTAACC AGAGTTTCAG CGGAACAATG GGGTCGTCCT
601 TAG
```

圖9

PRRSV-ISU12-orf6-FDAH-Seq

```
  1 ATGGGGTCGT CCTTAGATGA CTTCTGTCAT GATAGCACGG CTCCACAAAA GGTGCTCTTG
 61 GCGTTTTCTA TTACCTACAC GCCAGTGATG ATATATGCCC TAAAGGTGAG TCGCGGCCGA
121 CTGCTAGGGC TTCTGCACCT TTTGATCTTC CTGAATTGTG CTTTCACCTT CGGGTACATG
181 ACATTCGTGC ACTTTCAGAG TACAAATAAG GTCGCGCTCA CTATGGGAGC AGTAGTTGCA
241 CTCCTTTGGG GGGTGTACTC AGCCATAGAA ACCTGGAAAT TCATCACCTC CAGATGCCGT
301 TTGTGCTTGC TAGGCCGCAA GTACATTCTG GCCCCTGCCC ACCACGTTGA AAGTGCCGCA
361 GGCTTTCATC CGATTGCGGC AAATGATAAC CACGCATTTG TCGTCCGGCG TCCCGGCTCC
421 ACTACGGTCA ACGGCACATT GGTGCCCGGG TTAAAAAGCC TCGTGTTGGG TGGCAGAAAA
481 GCTGTTAAAC AGGGAGTGGT AAACCTTGTC AAATATGCCA AATAA
```

圖10

PRRSV-ISU12-orf7-FDAH-Seq

```
  1 ATGCCAAATA ACAACGGCAA GCAGCAGAAG AGAAAGAAGG GGGATGGCCA GCCAGTCAAT
 61 CAGCTGTGCC AGATGCTGGG TAAGATCATC GCTCAGCAAA ACCAGTCCAG AGGCAAGGGA
121 CCGGGAAAGA AAAATAAGAA GAAAAACCCG GAGAAGCCCC ATTTCCCTCT AGCGACTGAA
181 GATGATGTCA GACATCACTT TACCCCTAGT GAGCGGCAAT TGTGTCTGTC GTCAATCCAG
241 ACCGCCTTTA ATCAAGGCGC TGGGACTTGC ACCCTGTCAG ATTCAGGGAG GATAAGTTAC
301 ACTGTGGAGT TTAGTTTGCC TACGCATCAT ACTGTGCGCC TGATCCGCGT CACAGCATCA
361 CCCTCAGCAT GA
```

圖11

PRRSV-Olot91-orf5-FDAH-seq

```
  1 ATGAGATGTT CTCACAAATT GGGGCGTTTC TTGACTCCTC ACTCTTGCTT CTGGTGGCTT
 61 TTTTTGCTGT GTACCGGCTT GTCCTGGTCC TTTGTCGCTG GCAGCGGCAG CAGCTCGACA
121 TACCAATACA TATATAACTT AACGATATGC GAGCTGAATG GGACCGACTG GTTGTCCAAC
181 CATTTTGATT GGGCAGTCGA GACCTTTGTG CTTTACCCGG TTGCCACTCA TATCCTCTCA
241 CTGGGTTTTC TCACAACAAG CCATTTTTTT GACGCGCTCG GTCTCGGCGC TGTGTCCACT
301 ACAGGATTTG TTGGCGGGCG GTATGTACTC AGCAGCGTGT ACGGCGCTTG TGCTTTCGCA
361 GCGCTCGTAT GTTTTGTCAT CCGTGCTGTT AAAAATTGCA TGGCTTGCCG CTATGCCCAC
421 ACCCGGTTTA CCAACTTCAT TGTGGACGAC CGGGGGAGAA TCCATCGGTG GAAGTCTCCA
481 ATAGTGGTAG AGAAATTGGG CAAAGCTGAA GTCGGTGGCG ACCTTGTCAC CATCAAACAT
541 GTCGTCCTCG AAGGGGTTAA AGCTCAACCC TTGACGAGGA CTTCGGCTGA GCAATGGGAA
601 GCCTAG
```

圖12

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（ 5 ）圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)