



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102361648 A

(43) 申请公布日 2012.02.22

(21) 申请号 200980152792.1

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2009.11.20

A61K 39/02 (2006.01)

(30) 优先权数据

G01N 33/569 (2006.01)

08020242.7 2008.11.20 EP

C12N 1/36 (2006.01)

C07K 14/255 (2006.01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011.06.28

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2009/065571 2009.11.20

(87) PCT申请的公布数据

W02010/057985 EN 2010.05.27

(83) 生物保藏信息

DSM 21972 2008.11.06

(71) 申请人 克雷托根实验室有限公司

地址 德国波茨坦

(72) 发明人 H·埃普菲尔

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 罗菊华

权利要求书 1 页 说明书 13 页

序列表 28 页 附图 15 页

(54) 发明名称

沙门氏菌标记疫苗

(57) 摘要

本发明涉及适宜用作具有灭活的基因的标记物疫苗的沙门氏菌株。

1. 肠沙门氏菌肠亚种肠炎血清型变种 (*Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar *Enteritidis*) 株 DSM 21972 或由其衍生出的任何株。

2. 权利要求 1 的株,其用于医学,例如兽医学。

3. 权利要求 2 的株,其用作疫苗。

4. 权利要求 3 的株,其用作活疫苗。

5. 权利要求 3 或 4 的株,其用作抵御沙门氏菌属 (*Salmonella*) 感染的疫苗。

6. 权利要求 1 ~ 5 中任一项的株,其用于哺乳动物,例如猪;或鸟,例如禽类,例如,鸡。

7. 包括沙门氏菌属 (*Salmonella*) *phoN* 多肽或 / 和其任何免疫原性部分的多肽作为血清学标记物抗原的用途,其中 *phoN* 多肽包括序列 SEQ ID NO :1 或至少 70% 同于 SEQ ID NO :1 的序列,且其中免疫原性部分的长度是优选至少 10 个、更优选至少 20 个和再更优选至少 30 个氨基酸。

8. 权利要求 7 的用途,其用于用权利要求 1 ~ 6 中任一项的株疫苗接种后感染的动物和免疫接种的动物的区分 (DIVA)。

9. 权利要求 7 或 8 的用途,其中 *phoN* 抗原通过 *phoN* 核酸的,尤其在重组宿主细胞、例如大肠杆菌中的重组表达来制备。

10. 权利要求 7 ~ 9 中任一项的用途,其中 *phoN* 抗原包括 SEQ ID NO :1 的全长 *phoN* 多肽。

11. 用于检测针对沙门氏菌属 (*Salmonella*) *phoN* 抗原的抗体的血清学测试系统,其包括至少一种重组沙门氏菌属 (*Salmonella*) *phoN* 抗原或其任何免疫原性部分,以及任选其他测试成分,其中 *phoN* 抗原包括序列 SEQ ID NO :1 或至少 70% 同于 SEQ ID NO :1 的序列。

12. 沙门氏菌属 (*Salmonella*) *phoN* 核酸用于制备重组沙门氏菌属 (*Salmonella*) *phoN* 抗原或其任何免疫原性部分的用途,其中 *phoN* 抗原包括序列 SEQ ID NO :1 或至少 70% 同于 SEQ ID NO :1 的序列。

沙门氏菌标记疫苗

[0001] 本发明涉及具有灭活的 *phoN* 基因的沙门氏菌株。尤其是,本发明涉及 $\Delta phoN$ 肠沙门氏菌 (*Salmonella enterica*) 减毒活疫苗株的制备方法。而且,本发明涉及用于免疫接种的动物与沙门氏菌属 (*Salmonella*) 感染的动物的区分的使用重组沙门氏菌属 (*Salmonella*) 蛋白 PhoN 的血清学测试系统。此外公开了用于 DIVA 的细菌学测试系统。

[0002] 本发明还涉及肠沙门氏菌肠亚种肠炎血清型变种 (*Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar *Enteritidis*) 株 CLAB SE404 (DSM 21972) 和其用作减毒活 $\Delta phoN$ 沙门氏菌标记疫苗株用于治疗禽类以阻止肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 感染和 / 或用于制备保护家畜免于额外的病原体的多价重组沙门氏菌属载体疫苗的用途。CLAB SE404 通过血清学或 / 和细菌学手段致使感染的动物和免疫接种的动物的区分 (DIVA)。

[0003] 非伤寒沙门氏菌感染是动物和人中普遍的疾病。在人中,其是最常见的主要源于禽类和猪产品的食品来源疾病。在欧盟将建立监督系统,其应降低将病原性沙门氏菌属亚种 (*Salmonella* ssp.) 引入食品链 (规定 EC 2160-2003)。疫苗接种可降低病原性沙门氏菌属亚种 (*Salmonella* ssp.) 在家畜中的发病率,由此最小化传播率。例如产蛋鸡和猪的抗 - 沙门氏菌疫苗可商购。疫苗是细菌苗或减毒活沙门氏菌疫苗。在产蛋鸡中,这些疫苗用于减少病原体的卵巢内传播和粪便脱落。

[0004] 减毒活沙门氏菌疫苗被发现功效优于细菌苗。减毒活沙门氏菌疫苗对家畜的优选的使用,需求感染的动物和免疫接种的动物的区分 (DIVA) 的方法,其符合 EC 2160-2003 的规定。

[0005] 大部分获准的减毒活沙门氏菌疫苗从肠沙门氏菌肠亚种的血清型变种 (*Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar) 的指定的野生型分离物通过化学诱变制备。当前,通过细菌学手段区别减毒活沙门氏菌疫苗和野生型沙门氏菌属亚种 (*Salmonella* ssp.)。这些方法耗时耗力。免疫接种的和感染的动物的血清学区别将高度优选的。当前可用的减毒活沙门氏菌疫苗不能使根据 DIVA 策略血清学区别。

[0006] DIVA 活疫苗在家畜中成功地用于防止病毒感染。

[0007] 标记物疫苗可作为阳性或阴性标记物制备。阳性标记物疫苗含额外的抗原,其在免疫接种的动物中,而非感染的动物中诱导特异性抗体。阳性标记物疫苗明显有短处,因为有随后感染的免疫接种的动物不可与仅免疫接种的动物区分开。

[0008] 阴性标记物疫苗通过去除在感染的动物中引发特异性抗体的抗原来制备。由此,阴性标记物疫苗在免疫接种的动物中引发体液免疫应答,这不同于感染的动物。理想情况下,此差异可通过血清学手段检测。不同于阳性标记物疫苗,阴性标记物疫苗致使将随后感染的免疫接种的动物的鉴定。

[0009] 为选择阴性标记物抗原,必需考虑的几个方面是:抗原必需是免疫原性的,但不涉及保护动物免于病原体的免疫过程。由此,去除或灭活编码标记物抗原的基因必需维持疫苗株的免疫原性。最后,标记物抗原应特异于病原体,以便避免被可在家畜中出现且引发体液免疫应答的其他生物诱导的假阳性血清学结果。

[0010] 由于不同于病毒疫苗的减毒活细菌疫苗的高复杂性,开发减毒活细菌标记物疫苗

需要更多努力。减毒活细菌标记物疫苗仍在实验阶段。通过缺失高度免疫原性表面抗原的基因从减毒活沙门氏菌疫苗株建立阴性沙门氏菌标记疫苗的第一候选物。这些减毒活沙门氏菌属 DIVA 疫苗能够通过血清学手段区分感染的和免疫接种的动物。但是,这些原型相比亲本疫苗株欠保护性。

[0011] 基因 *phoN* 编码非特异性酸磷酸酶,其已被发现在全部沙门氏菌属亚种中广泛保守。基因 *phoN* 在 *PhoPQ* 调控子(沙门氏菌属中毒力基因的通用的调节子)控制下表达。不知 *phoN* 是否对于动物中沙门氏菌存活必要。

[0012] *phoN* 与 *PhoPQ* 调控子的连接可表明 *phoN* 在沙门氏菌属占领宿主组织时活化。由此出现问题,是否消除或灭活减毒活沙门氏菌疫苗株中的基因 *phoN* 可负面影响其在免疫接种的动物中诱导保护性免疫的潜力。已知减毒活沙门氏菌疫苗株中单个基因的删除可还降低其残留的毒力,其可减少宿主免疫应答的刺激,且结果可消除保护性免疫。

[0013] 本发明旨在提供适宜作为至少部分克服现有疫苗的以上描述的缺点的阴性标记物疫苗的沙门氏菌株。

[0014] 在本发明,基因 *phoN* 被选作制备沙门氏菌属 DIVA 疫苗的靶。意外地, *phoN* 基因提供使 *phoN*- 缺陷型沙门氏菌株尤其适宜作为活疫苗的组合特性。

[0015] 第一意外的性质是 *PhoN* 蛋白在全部非-沙门氏菌属细菌相比沙门氏菌属中的不同的结构。另一方面, *PhoN* 氨基酸序列在不同的沙门氏菌属物种中具有至少 95% 程度的同一性(跨氨基酸序列的总长度计算的)。

[0016] 第二意外的性质是 *PhoN* 是免疫原性的。来自经沙门氏菌属亚种(*Salmonella* ssp.) 感染的鸡和小鼠的血清的分析明显显示出现特异性地结合纯化的 *PhoN* 蛋白的抗体。此结果提供第一证据, *PhoN* 是免疫原性的,且可将其用作用于检测沙门氏菌属-感染的鸟和哺乳动物的血清学标记物抗原。如果在任何沙门氏菌疫苗株中基因 *phoN* 的表达消除,此可允许通过血清学手段区别感染的动物和免疫接种的动物。由此,通过耗竭 *PhoN* 抗原的沙门氏菌属活疫苗株免疫接种的动物将不产生 *PhoN*- 特异性抗体,而经野生型沙门氏菌感染的动物将产生 *PhoN*- 特异性抗体。

[0017] 第三意外的性质是去除减毒活沙门氏菌疫苗株的基因 *phoN* 可还降低疫苗株的毒力,但不影响其免疫原性和其从同源血清型变种的沙门氏菌属感染保护免疫接种的鸡的功效。

[0018] 本发明的第一主题是具有灭活的 *phoN* 基因的沙门氏菌株。此在本文中以 Δ *phoN* 表示。 Δ *phoN* 沙门氏菌株基本上无 *phoN* 活性。分子生物学领域的技术人员知道细菌(例如沙门氏菌属细菌)中基因灭活的方法。

[0019] *phoN* 的灭活包括 *phoN* 基因的缺失或/和修饰。尤其是,本发明的沙门氏菌株基本上不产生 *PhoN* 蛋白或其能诱导针对 *PhoN* 蛋白或其片段的免疫应答的片段,本发明的沙门氏菌株不对于 *PhoN* 蛋白或其片段是免疫原性。*phoN* 基因可完全或至少部分缺失。*phoN* 基因的部分缺失可为 *phoN* 基因的全长序列的至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90% 或至少 95% 或至少 98% 缺失。如果 *phoN* 基因序列缺失部分,其余序列优选不能表达 *PhoN* 蛋白或其片段,尤其是如本文所述的免疫原性片段。

[0020] *phoN* 基因序列的修饰包括序列取代。*phoN* 基因可完全被另一序列取代。缺失的 *phoN* 基因序列可被其他序列完全或部分取代。

[0021] *phoN* 基因的编码序列（开放阅读框）可完全或至少部分缺失。*phoN* 编码序列的部分缺失可为全长 *phoN* 编码序列的序列的至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90% 或至少 95% 或至少 98% 缺失。如果 *phoN* 编码序列部分缺失，其余序列优选不能表达 PhoN 蛋白或其片段，尤其是如本文所述的免疫原性片段。

[0022] *phoN* 编码序列的修饰包括序列取代。*phoN* 编码序列可完全被另一序列取代。*phoN* 编码序列的缺失的序列可被其他序列完全或部分取代。

[0023] 沙门氏菌属的 *phoN* 多肽序列的典型例描述于图 1 (SEQ ID NO :1 ~ 20)。沙门氏菌属 *phoN* 基因座位的典型例描述于图 2, 包括 *phoN* 开放阅读框 (ORF) 和 *phoN* ORF 的上游或 / 和下游调控序列 (SEQ ID NO :23 ~ 27)。

[0024] 本发明的 *phoN* 多肽片段可具有最小 10、至少 20 或至少 30 个氨基酸残基的长度。它们可具有最大 200、最大 150 或最大 100 个氨基酸残基的长度。片段包括免疫原性片段（也在本文中称为免疫原性部分）。

[0025] *phoN* 基因的灭活优选是不可逆的灭活，例如通过 *phoN* 编码区的完全或至少部分缺失，或通过 *phoN* 编码区的取代，如本文所述。尤其是，不可逆的灭活阻止本发明的沙门氏菌株恢复为野生型 *phoN* 基因型。

[0026] 如上所述，本发明的沙门氏菌株基本上不产生能诱导针对 PhoN 蛋白的免疫应答的 PhoN 蛋白，即本发明的沙门氏菌株对于 PhoN 蛋白或其片段不是免疫原性的。对于 PhoN 蛋白或其片段的免疫原性可为待用本发明的沙门氏菌株处理的任何物种中的免疫原性。尤其是，对于 PhoN 蛋白或其片段的免疫原性是哺乳动物（例如猪）或鸟（例如禽类，例如鸡）中的免疫原性。

[0027] 本领域技术人员能鉴定沙门氏菌属或非 - 沙门氏菌株中的 PhoN 多肽和 *phoN* 基因。在本发明中，沙门氏菌属 PhoN 蛋白可为包括选自的下列的序列的蛋白：SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :10、SEQ ID NO :11、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :17、SEQ ID NO :18、SEQ ID NO :19 和 SEQ ID NO :20、或包括至少 70%、至少 80%、至少 90%、至少 95%、至少 98% 或至少 99% 同于选定的序列的序列的多肽，其中同一性相对于选定的序列长度计算。非 - 沙门氏菌属 PhoN 蛋白可为从埃希氏菌属 (*Escherichia*) 或志贺菌属 (*Shigella*) 获得的 PhoN 蛋白，且可具有选自 SEQ ID NO :21 和 SEQ ID NO :22 的序列、或为包括至少 70%、至少 80%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、或至少 99% 同于选自 SEQ ID NO :21 和 SEQ ID NO :22 的序列的序列的多肽，其中同一性相对于选定的序列长度计算。

[0028] 使经历如本文所述 *phoN* 灭活，以便获得根据本发明的株的沙门氏菌株可选自肠沙门氏菌亚种 (*Salmonella enterica* ssp)。优选是，选自肠沙门氏菌亚种 (*Salmonella enterica* ssp. *enterica*) 的血清型变种的沙门氏菌株，例如来自下列的血清型变种：肠炎变种 (*Enteritidis*)、都柏林变种 (*Dublin*)、鸡变种 (*Gallinarum*)、伤寒变种 (鼠伤寒)、新港变种 (*Newport*)、霍乱变种 (*Choleraesuis*)、阿哥拉变种 (*Agona*)、哈达尔变种 (*Hadar*)、海德堡变种 (*Heidelberg*)、肯塔基变种 (*Kentucky*)、圣保罗变种 (*Saintpaul*)、魏尔肖变种 (*Virchow*)、韦尔泰夫利丁变种 (*Weltevreden*)、爪哇变种 (*Javiana*)、施瓦岑格隆德变种 (*Schwarzengrund*)、副伤寒变种 (*Paratyphi*) 和伤寒变种 (*Typhi*) 或来自列于图

1 的血清型变种。

[0029] 使如本文所述经历 *phoN* 灭活的沙门氏菌株可为减毒的沙门氏菌株, 例如减毒活沙门氏菌株, 例如减毒活肠沙门氏菌肠亚种肠炎血清型变种 (*Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar *Enteritidis*) His-Ade- 株, 例如 Salmovac SE 株 (Springer et al., 2000, Berl. Münch. **Tierärztl.** Wschr. 113, 246-252) 或其变体。

[0030] 可也将如本文所述的 *phoN* 基因的灭活应用于获准的减毒活沙门氏菌疫苗。可将这些株不影响它们的免疫原性地转化进减毒活沙门氏菌属 Δ *phoN* 标记物疫苗, 以便例如从沙门氏菌属感染保护家畜, 且同时允许区别免疫接种的和沙门氏菌属感染的家畜。此转化方法可应用于通过化学诱变和 / 或遗传加工制备的减毒活沙门氏菌疫苗株, 或应用于使用减毒活沙门氏菌疫苗株例如作为表达至少一种额外的自体抗原和 / 或一种额外的异源病原体的抗原的载体的任何重组沙门氏菌疫苗方法, 或应用于用作载体以递送用于疫苗接种的 DNA 的减毒活沙门氏菌疫苗株。

[0031] 使如本文所述经历 *phoN* 灭活的是减毒活沙门氏菌疫苗株的沙门氏菌株尤其是:

[0032] (i) 通过化学诱变和 / 或遗传加工制备的疫苗株,

[0033] (ii) 任选重组表达至少一种自体沙门氏菌属抗原和 / 或至少一种异源抗原 (例如异源病原体的抗原) 的重组疫苗株, 或者

[0034] (iii) 用于 DNA 递送的重组载体株。

[0035] 本发明的优选的沙门氏菌株是肠沙门氏菌肠亚种肠炎变种 (*Salmonella enterica enterica* *Enteritidis*) 株 CLAB SE404 (DSM 21972), 和由其衍生出的任何株。

[0036] 本发明的沙门氏菌株, 尤其是株 DSM 21972, 可用于医学, 例如兽医学。本发明的沙门氏菌株, 尤其是株 DSM 21972, 可用作疫苗。本发明的沙门氏菌株, 尤其是株 DSM 21972, 可用作活疫苗。本发明的沙门氏菌株, 尤其是如本文所述的疫苗, 更特定株 DSM 21972, 可用作抵御沙门氏菌属感染的, 尤其是抵御肠沙门氏菌亚种 (*Salmonella enterica* ssp.) 的感染的疫苗。本发明的沙门氏菌株, 尤其是株 DSM 21972, 可用于哺乳动物 (例如猪) 或鸟 (例如禽类, 例如鸡)。

[0037] 本发明的沙门氏菌株, 尤其是株 DSM 21972, 可用于制备药物, 例如兽医学中的药物。本发明的沙门氏菌株, 尤其是株 DSM 21972, 可用于制备疫苗。本发明的沙门氏菌株, 尤其是株 DSM 21972, 可用于制备活疫苗。本发明的沙门氏菌株, 尤其是如本文所述的疫苗, 更尤其是株 DSM 21972, 可用于制备抵御沙门氏菌属感染的, 尤其是抵御肠沙门氏菌亚种 (*Salmonella enterica* ssp.) 感染的疫苗。本发明的沙门氏菌株, 尤其是株 DSM 21972, 可用于制备用于哺乳动物 (例如猪) 或鸟 (例如禽类, 例如鸡) 的药物。

[0038] 本发明的疫苗, 尤其是株 DSM 21972, 可为用于抵御随后沙门氏菌属感染、尤其是抵御随后肠沙门氏菌亚种 (*Salmonella* ssp.) 感染, 且为用于制备抵御额外的病原体的多价重组沙门氏菌载体疫苗的疫苗。疫苗任选重组表达至少一种自体沙门氏菌属抗原和 / 或至少一种异源抗原, 例如异源病原体抗原。疫苗可适宜于施用给哺乳动物 (例如猪) 或鸟 (例如禽类, 例如鸡)。

[0039] 本发明的主题是预防或 / 和治疗沙门氏菌属感染的方法, 包括给有需要的受试者施用本发明的沙门氏菌株, 尤其是株 DSM 21972。受试者可为哺乳动物 (例如猪) 或鸟 (例如禽类, 例如鸡)。

[0040] 本发明的另一主题是预防或 / 和治疗病原体感染的方法, 包括给有需要的受试者施用本发明的沙门氏菌株, 其中制备本发明的沙门氏菌株以赋予抵御此病原体, 例如多价沙门氏菌属活疫苗。优选是, 此沙门氏菌株源于 DSM 21972。受试者可为哺乳动物 (例如猪) 或鸟 (例如禽类, 例如鸡)。尤其是, 不同于沙门氏菌属的病原体。

[0041] 本发明的另一主题是产生如本文所述的沙门氏菌株的方法, 尤其是株 DSM 21972, 包括灭活沙门氏菌株的 *phoN* 基因。

[0042] 如上所述, *phoN* 的灭活还可降低减毒活沙门氏菌疫苗株的毒力, 但其不影响该转化的沙门氏菌疫苗株的免疫原性。因此 *phoN* 灭活是产生减毒活沙门氏菌属 DIVA 疫苗株的适宜方法。

[0043] 减毒活 Δ *phoN* 沙门氏菌属 DIVA 疫苗的制备可从能保护例如禽类和 / 或哺乳动物家畜免于沙门氏菌属感染 (尤其是免于肠沙门氏菌亚种 (*Salmonella enterica* ssp.) 感染) 的任何减毒活沙门氏菌疫苗株开始。DSM 21972 的制备始于株 Salmovac SE 的变体。从所述沙门氏菌疫苗株, 如本文所述通过施加遗传加工灭活基因 *phoN*。*phoN* 灭活完成后, 应分析个体沙门氏菌属变体株, 以便评估与亲本沙门氏菌疫苗株相关呈现的差异。 Δ *phoN* 沙门氏菌属变体株优选除了来自亲本沙门氏菌疫苗株的 *phoN* 之外在生物学特征上基本上相同。如果 Δ *phoN* 沙门氏菌属变体株在一个或多个与 *phoN* 不相关的特征上不同于亲本沙门氏菌疫苗株, 这些改变可为永久性的, 且最重要的是, 可基本上维持亲本株的在适当免疫接种的动物中引发针对随后沙门氏菌属感染的保护免疫应答的原免疫原性表征。

[0044] 优先, *phoN* 通过利用遗传加工的编码基因 *phoN* 的核酸片段的缺失来不可逆地灭活。灭活处理也可包括用于 *phoN* 起始转录的附属核酸的缺失。*phoN* 的缺失可以抑制新转录物呈现的方式进行。遗传加工含盖致使如所示本文中沙门氏菌基因组中基因 *phoN* 缺失的同源重组的任何加工。优选地, 同源重组加工应致使基因 *phoN* 的精确的缺失, 而其余基因组仍不变, 这在本文中被称作 “干净的” 缺失处理。此外, 同源重组处理优选由暂时共表达的重组酶 (例如 Datsenko 和 Wanner 所述的噬菌体 λ 红重组酶系统) 驱动。

[0045] 本发明的沙门氏菌株可有降低的能动性、例如至少 30%、至少 50% 或至少 90%、或 / 和降低的生物膜形成能力、例如至少 30%、至少 50% 或至少 90%。

[0046] 如上所述, Δ *phoN* 沙门氏菌株, 尤其是减毒活 Δ *phoN* 沙门氏菌株, 更特定 DSM 21972, 可为标记物疫苗。减毒活 Δ *phoN* 沙门氏菌标记疫苗株例如 DSM 21972 致使通过血清学和 / 或补充性细菌学手段区分感染的和疫苗接种的动物 (DIVA)。

[0047] 本发明再一主题是包括沙门氏菌属 *PhoN* 多肽或 / 和其免疫原性片段的多肽作为血清学标记物抗原的用途。血清学标记物抗原可为任何源于 *PhoN* 多肽的抗原。*phoN* 抗原可为包括全长 *PhoN* 多肽、或包括其任何免疫原性部分的多肽, 其具有优选至少 10 个、更优选至少 20 个和再更优选至少 30 个氨基酸的长度。*PhoN* 多肽可为包括选自下列的序列的多肽: SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19 和 SEQ ID NO:20、或包括至少 70%、至少 80%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、或至少 99% 同于选自下列的序列的序列的多肽: SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID

NO :9、SEQ ID NO :10、SEQ ID NO :11、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :17、SEQ ID NO :18、SEQ ID NO :19 和 SEQ ID NO :20,其中%同一性相对于选定的序列全长计算。免疫原性部分可具有与本文所述的 PhoN 多肽的序列具有至少 70%、至少 80%、至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%相同的氨基酸位置的序列,其中%同一性相对于免疫原性部分长度计算。如本文所述的同一性可通过常见的算法例如 BLAST 或 FASTA 计算。优选的序列是源于株 CLAB_SE 360 的 SEQ ID NO :1(见图 1)。

[0048] 如本文所述的血清学标记物抗原可用于在用本发明的沙门氏菌株疫苗接种后的感染的动物和免疫接种的动物的区分(DIVA)。源于 SEQ ID NO :1 的血清学标记物抗原可尤其用于感染的动物和用株 DSM 21972 免疫接种的动物的区分。

[0049] 本发明的 phoN 抗原可通过,尤其在重组宿主细胞(例如大肠杆菌)中 phoN 核酸的重组表达来制备。phoN 抗原可作为冷冻的浓储物或作为冷冻干燥物提供,任选伴随适当的防腐剂。

[0050] 本发明的再一主题是用于检测针对沙门氏菌属 phoN 抗原的抗体的血清学测试系统,其包括至少一种重组沙门氏菌属 phoN 抗原或其任何免疫原性部分,以及任选其他测试成分。血清学测试系统可区别沙门氏菌属感染的动物和通过本发明的沙门氏菌株(尤其是减毒活 Δ phoN 沙门氏菌属 DIVA 疫苗,例如 CLAB SE404(DSM 21972))免疫接种的动物。至少一种 phoN 抗原是如本文所述的抗原。沙门氏菌属 phoN 抗原优选包括序列 SEQ ID NO :1 或至少 70%、至少 80%、至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%同于 SEQ ID NO :1 的序列,其中同一性相对于 SEQ ID NO :1 长度计算。

[0051] 在血清学测试系统中,抗原作为在疫苗接种后疑似感染沙门氏菌或可成为感染沙门氏菌的动物的血清中特异性地检测抗体的靶抗原。如果使用成功地通过本发明的沙门氏菌株(尤其是减毒活 Δ phoN 沙门氏菌属 DIVA 疫苗)免疫接种的动物血清,则通过 PhoN 靶抗原检测不到抗体。检测可以 ELISA 形式进行。

[0052] 任选将额外的沙门氏菌属特异性抗原用于血清学测试系统,例如沙门氏菌属 LPS、其检测由野生型沙门氏菌属和本发明的沙门氏菌疫苗株(尤其是减毒活 Δ phoN 沙门氏菌属 DIVA 疫苗)诱导的抗体。

[0053] 本发明的再一主题是编码如本文所述的沙门氏菌属抗原的 phoN 核酸。phoN 核酸包括如本文所述编码 PhoN 多肽或其片段的序列,例如包括选自下列的序列的多肽:SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :10、SEQ ID NO :11、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :17、SEQ ID NO :18、SEQ ID NO :19 和 SEQ ID NO :20、或包括至少 70%、至少 80%、至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%同于所述序列的序列的多肽,其中同一性相对于所述序列长度计算。核酸可编码如本文所述的 PhoN 多肽的任何免疫原性片段。

[0054] phoN 核酸可用于,例如在宿主(例如大肠埃希氏菌(*E. coli*))中通过使用适当的重组 DNA 载体制备重组沙门氏菌属 phoN 抗原或其任何免疫原性部分。phoN 抗原可为如本文所述的抗原。phoN 抗原可包括 SEQ ID NO :1 的序列、或至少 70%、至少 80%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、或至少 99%同于 SEQ ID NO :1 的序列,或其任何免疫原性部分,如本

文所述。同一性相对于 SEQ ID NO :1 长度计算。

[0055] 本发明还涉及用于区分野生型沙门氏菌属亚种 (*Salmonella* spp.) 和本发明的沙门氏菌株 (例如减毒活 Δ phoN 沙门氏菌属 DIVA 疫苗) 的细菌学测试系统。此细菌学测试系统完善规定生物学样品中沙门氏菌属检测的官方的标准方法。

[0056] 本发明的细菌学测试系统澄清了以标准检测方法何时沙门氏菌属集落呈现, 无论这些是野生型沙门氏菌株或本发明的沙门氏菌株, 例如减毒活 Δ phoN 沙门氏菌属。分析至少一个怀疑的沙门氏菌属集落, 以便评估是否个体沙门氏菌属集落的基因组含基因 phoN 或其片段。分析可通过 PCR 方法进行、或 / 和通过检测 PhoN 活性或 / 和 PhoN 基因产物来进行。可分析代表性的怀疑的沙门氏菌属集落数, 例如至少 5、至少 10、至少 15 或至少 20 个集落。

[0057] PhoN 活性可通过将等份的单个集落转移进含 PhoN 特异性底物混合物的分离瓶 (例如微孔板的孔) 中来测量, 其中 PhoN 产生可通过视觉对照或通过适当的装置检测的发色产物。PhoN 定位在沙门氏菌属亚种的周质空间内, 其允许使用用于确定 PhoN 活性的完整的细胞。根据测试系统, 野生型沙门氏菌通过产生发色产物显示 PhoN 活性, 然而减毒活 Δ phoN 沙门氏菌属则不。适宜底物可为 BCIP。

[0058] 本发明的沙门氏菌株可通过根据 ISO 6579 的测试来检测。ISO 6579 通过引用包括在本文中。通过根据 ISO 6579 的测试, PhoN 活性可通过发色底物 BCIP 检测。

[0059] 发明通过以下图、实施例和序列表进一步阐述。

【附图说明】

[0060] 【图 1】各肠沙门氏菌肠亚种的血清型变种 (*Salmonella enterica entericaserovar*) 之间的 PhoN 蛋白的相似性。

[0061] 【图 2】肠沙门氏菌肠亚种的血清型变种 (*Salmonella enterica entericaserovar*) 的 phoN 的基因组区。

[0062] 【图 3】

[0063] 图 3 显示使用如 Datsenko 和 Wanner 所述的取代重组的减毒活肠沙门氏菌肠亚种肠炎变种 (*Salmonella enterica enterica Enteritidis*) 疫苗株 Salmovac SE 的 phoN 缺失突变体的制备策略。例示肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) 株 P125109 的基因组区包括同于肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) 疫苗株 Salmovac SE 的 phoN 座位。基因组区开始于保藏在 NCBI (美国生物技术信息中心) 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes>) 的序列 NC_011294.1 的核苷酸 (nt) 4,419,410。任何开放阅读框 (ORF) 的取向和长度通过箭头指出。注释的 ORF 通过黑色箭标显示, 而其他通过条纹箭标显示。对于 phoN, 预测了通过空心箭标显示的 2 个启动子 (P1, P2)。

[0064] 图 3A 例示包括基因 phoN 的缺失区的边界 (实体垂直线)。图 3B 显示 phoN 取代后原基因组区之内的 ORF。原 ORF 中的 3 种 (ORF1 ~ 3) 由重组处理延长 (空心箭标)。

[0065] 【图 4】

[0066] 图 4 显示由肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) 疫苗株 Salmovac SE 通过如图 3 所示的取代重组制备的 phoN 突变体株的基因组区之内的反转录酶 PCR (RT-PCR) 分析。

[0067] 在 A 部分显示指定为推定的乙酰基转移酶 (黑色箭标) 的 ORF 的 RT-PCR 分析的

数据。分析显示含盖推定的乙酰基转移酶及之后的 ORF 1-3 的转录物 (mRNA)。RT-PCR 分析还显示, 转录物延长到取代片段, 但, 意外地, 不过该片段。

[0068] 在右上框图中, 显示取代片段的一级结构和包括的 FRT- 位点。FRT- 位点形成高稳定性 (-17kcal/mol) 的二分体结构。其提示, FRT- 位点实际上发挥转录终止子的作用, 其抑制超过取代片段的 ORF 1-3 的表达。

[0069] 构建 RT-PCR 引物以检测超过取代片段 (1) 或覆盖 FRT- 位点前部区 (2) 的转录物。图 4B 显示从在 PCR 之前用反转录酶 (RNA) 处理的或保持未处理的 (DNA) 的肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) Δ phoN 疫苗株的 RNA 制备物获得的 RT-PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳。数据显示纯的 RNA 探针。作为对照, 给出基因 *gyrB* 的 RT-PCR。如已指定, 超过取代片段的转录物几乎消除 (泳道 1), 这不同于在 FRT- 位点前端停止的转录物 (泳道 2)。

[0070] 【图 5】

[0071] 将野生型肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) 株的毒力与减毒活肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) 疫苗株 Salmovac SE 和 Δ phoN 突变体株 CLAB_SE404 相比。各沙门氏菌株的相对毒力通过测定沙门氏菌属在 24 小时内 MDCK 细胞内的存活率评定。细胞用野生型肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) 株以 10 的 MOI 感染。两种减毒活肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) 疫苗株以 100 的 MOI 施用。2 小时感染时期后, 通过洗涤去除培养基中的过量细菌。附加地, 添加庆大霉素 [25 μ g/mL], 以便抑制细胞外沙门氏菌。在适当的条件下感染的细胞的 24h 培养后, 通过在含 1% Triton-X100 的 PBS 中裂解 MDCK 细胞来测定细胞内沙门氏菌的数。

[0072] 数据明显显示两种减毒活肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) 疫苗株相比野生肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) 分离物在 MDCK 细胞中的强烈降低的持续。意外地、数据显示两种沙门氏菌疫苗株在 MDCK 细胞中不同的存活率。CLAB_SE404 是如对图 3 的说明中所述由减毒活肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) 疫苗株 Salmovac SE 制备的不同的 Δ phoN 突变体克隆的非 - 能动性变体。数据表示相比祖先株 Salmovac SE, CLAB_SE404 的降低的毒力。

[0073] 【图 6】

[0074] 在白色来亨鸡中进一步评估 2 种 Δ phoN 肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) 疫苗株的毒力。在 1 和 21 日龄用 $1 \sim 2 \times 10^8$ CFU 的 CLAB_SE404 或 CLAB_SE441 将动物经口免疫接种。CLAB_SE441 是肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) Δ phoN[ade/his]⁻ 的能动性变体。相比对比度, CLAB_SE404 是肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) Δ phoN[ade/his]⁻ 的非 - 能动性变体。

[0075] 在疫苗接种后不同的时间、将 5 个动物处死, 以及测定免疫接种的动物的各组织中细菌的数。高定居值表明通过直接在选择性 XLT-4 琼脂板上培养检测到沙门氏菌。如 IS06579 中所述在胨水上富集培养和随后在 MSR/V 琼脂板上温育后测定到残量定居。

[0076] 数据确认两种 Δ phoN 肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) 疫苗株之间毒力的差异。相比 CLAB_SE441, CLAB_SE404 从免疫接种的鸡组织更快速消失。

[0077] 【图 7】

[0078] 如图 6 的说明中所述用 CLAB_SE404 免疫接种两次的白色来亨鸡接受 $1 \sim 2 \times 10^8$ CFU 的野生型肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) (SE 147N) 的口服攻击感染。攻击感染在加施疫苗接种 21 天后施用及再分析 14 天。作为对照, 在同龄感染幼稚的白色来亨鸡 42

天。

[0079] 在不同的时间,两个动物组之内的沙门氏菌的脱落和组织定居测定和总结于图 7A。数据显示免疫接种的动物的明显的保护。由此,脱落野生型肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) 的动物的数明显在免疫接种的组中降低。此外,在脾脏和肝脏中有沙门氏菌的动物的数在免疫接种的相比未处理的对照组中更低。相比幼稚的动物,免疫接种的动物甚至在盲肠含量中具有野生型沙门氏菌数的显著减少(图 7B)。数据明显展示 CLAB_SE404(*Salmovac SE Δ phoN* 疫苗株的非-能动性变体)的保护性质。

[0080] 【图 8】

[0081] 与根据 ISO6579 的标准沙门氏菌检测测试平行使用的细菌学 *phoN*-DIVA 测试的批准。

[0082] 图 8A 例示在补充了发色磷酸酶底物 BCIP[80 μg/mL] 的 XLT4 琼脂板和 LB- 琼脂板上野生型伤寒沙门氏菌 (*Salmonella Typhimurium*) 和肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 的分别平行平铺。野生型伤寒沙门氏菌 (*Salmonella Typhimurium*) 和肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 通常在 XLD/XLT4 琼脂板呈现为黑色的集落,以及在 BCIP LB- 琼脂板 (*PhoN*-DIVA 测试) 上呈现为蓝-绿染色的集落。

[0083] 在图 8B 中显示了活减毒的肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) $\Delta phoN$ 疫苗株 CLAB_SE404 的平行平铺。 $\Delta phoN$ 沙门氏菌疫苗株在沙门氏菌属特异性 XLD/XLT4 琼脂板上呈现为黑色的集落,但在 BCIP LB- 琼脂板上仍未着色。此发现是令人意外的,由于已知沙门氏菌表达有磷酸酶活性的几种酶。得出,*phoN* 基因的灭活足以阻止本文所述的发色磷酸反应。

[0084] 描述的测试允许在标准沙门氏菌属测试设置之内使用减毒活 *phoN*-DIVA 肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 疫苗株 CLAB_SE404 的感染的动物和免疫接种的动物的清楚的区分。

[0085] 【图 9】

[0086] 在白色来亨鸡中 *PhoN*-DIVA 抗体测试。

[0087] *PhoN*-DIVA 抗体测试的特异性通过使用来自沙门氏菌属-感染的鸡 (Inf) 的血清和来自用减毒活肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) *phoN*-DIVA 疫苗株 CLAB_SE404 (Vac) 免疫接种的鸡的血清的免疫印迹分析批准。

[0088] 用沙门氏菌属 *PhoN*、*PhoN*_{FP101} 和 *PhoN*_{FP201} 的 2 种重组变体制备坐标图 A 的印迹。在杂交前,将纯化的样品在 10% **Schägger**-Jagow PAGE 上分离。*PhoN*_{FP101} 覆盖原 *PhoN* 的一级结构。*PhoN*_{FP201} 具有截短的 NH₂- 末端和 *PhoN* 活性中心之内的氨基酸置换产生失活的 *PhoN*。免疫印迹分析使用适当的碱性磷酸酶-缀合的抗血清显示 IgG- 特异性免疫应答。分子量标记物显示于泳道 M, 分别对应于 43、34 和 26kDa。

[0089] 显示于图 9A 的 *PhoN*-DIVA 抗体测试用来自用减毒活肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) *phoN*-DIVA 疫苗株 CLAB_SE404 (Vac) 免疫接种两次的鸡的血清和来自经强毒的肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) 株 SE 147N (Inf) 感染的幼稚的动物的血清进行。Inf- 组的抗体结合两种变体 *PhoN* 抗原。Vac- 组不产生 *PhoN*- 特异性抗体。

[0090] 在图 9B 中显示抵御肠炎沙门氏菌 (*S. Enteritidis*) 裂解产物的 IgG- 滴度,如在 ELISA 中使用两个动物组的血清,在不同的感染时间测定。在 DIVA-Vac 组中, IgG- 滴度在

(0) 之前和攻击感染后,在感染后第 7 及 28 天测定。在 Inf 组中,以相同的方式测定 IgG- 滴度。

[0091] 【图 10】用于制备融合蛋白 PhoN_{FP101} (左图) 和 PhoN_{FB201} (右图) 的表达质粒的图谱。

[0092] 【图 11】PhoN_{FP101} 的基因 (A) 和编码的融合蛋白 (B) 的序列。

[0093] 【图 12】PhoN_{FP201} 的基因 (A) 和编码的融合蛋白 (B) 的序列。

【实施例】

[0094] 【实施例 1】

[0095] 在各肠沙门氏菌肠亚种的血清型变种 (*Salmonella enterica enterica* serovar) 之内通过 BLAST 2. 2. 18 使用数据库 "nr" 经美国生物技术信息中心 (NCBI) 网络门户评定蛋白 PhoN 的相似性。将肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 株 CLAB_SE360 的蛋白 PhoN 的氨基酸序列用作查询序列 (SEQ ID NO :1)。CLAB_SE360 是疫苗株 Salmovac SE 的变体 (Springer et al., 2000, Berl. Münch. **Tierärztl. Wschr.** 113, 246-252)。通过色彩亮显各 PhoN 蛋白一级结构之内的非 - 相同的氨基酸。数据揭示各沙门氏菌属血清型变种之内的 PhoN 蛋白的一级结构具有 > 96% 的同源性。

[0096] 相反,非 - 沙门氏菌属细菌之内的 PhoN 蛋白的一级结构与肠沙门氏菌肠亚种的血清型变种 (*Salmonella enterica enterica* serovar) 的 PhoN 蛋白具有低的关系 (同源性 < 40%)。显示非 - 沙门氏菌属细菌的最相关的 PhoN 氨基酸序列。仅显示相同的氨基酸。指出变体 (-)、额外的 (+) 或缺失 (Δ) 氨基酸。在序列表中给予全序列 (SEQ ID NO :21 和 22)。

[0097] 结果总结于图 1。

[0098] 【实施例 2】

[0099] 各肠沙门氏菌肠亚种的血清型变种 (*Salmonella enterica enterica* serovar) 的包括基因 phoN 和与通过,如由 T. Shigaki and K. D. Hirschi (Anal. Biochem. 2001, 298 : 118-120) 所述或由 K. A. Datsenko 和 B. L. Wanner (PNAS 2000, 97 :6640-6645) 所述的遗传加工的 Δ phoN 沙门氏菌属突变体的制备关联的侧翼区的 phoN 基因组区的描述。

[0100] phoN 基因组区如下显示于图 2 :

[0101]

图 2A	肠炎沙门氏菌 (<i>S. Enteritidis</i>) 株。P125109 (摘录自 RefSeq NC011294.1)
	都柏林沙门氏菌 (<i>S. Dublin</i>) 株。CT_02021853 (摘录自 RefSeq NC011205.1)
	鸡沙门氏菌 (<i>S. Gallinarum</i>) 株。287/91 (摘录自 RefSeq NC011274.1)
图 2B	伤寒沙门氏菌 (鼠伤寒沙门氏菌) 株。LT2 (摘录自 RefSeq NC003197.1)
图 2C	霍乱沙门氏菌 (<i>S. Choleraesuis</i>) 株。SC-B67 (摘录自 RefSeq NC006905.1)

[0102] 【实施例 3】

[0103] 在本实施例中,通过遗传加工从原本源于减毒活肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 疫苗株 Salmovac SE 的变体的肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 株

的基因组去除基因 *phoN*。更详细的分析意外地显示 $\Delta phoN$ 肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 疫苗株变体的群中的差异。少数一些 $\Delta phoN$ 疫苗株变体具有祖先株和其他 $\Delta phoN$ 疫苗株变体的至少 30% 的能动性活性。此外,能动性降低的 $\Delta phoN$ 疫苗株变体具有降低的形成生物膜的能力,这也不同于祖先株和其他 $\Delta phoN$ 变体。

[0104] 除了指定的差异,研究的全部 $\Delta phoN$ 肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 变体是腺嘌呤和组氨酸的营养缺陷型,且表达复合物脂多糖 (LPS)。它们不含任何已知的强毒质粒。由此,全部 $\Delta phoN$ 肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 变体包括 Salmovac SE 的相关特征,其已经在德国获得批准用于疫苗接种产蛋鸡。

[0105] 单个变体、CLAB SE404 选自具有降低的能动性和生物膜能力的 $\Delta phoN$ 肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 变体群。CLAB SE404 的进一步分析显示,这些附加地鉴定的特征稳定超过 150 代。

[0106] 将株 CLAB SE404 根据布达佩斯条约,于 2008 年 11 月 10 日,以保藏号 DSM 21972 保藏在 DSMZ- 德意志微生物和细胞培养物保藏中心 (Inhoffenstraße 7B, D-38124 Braunschweig)。

[0107] 在往后分析中,将 CLAB SE404 的毒力和功效与能动性 $\Delta phoN$ 肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 疫苗株变体和原疫苗株相比。

[0108] 通过体外和体内实验评定沙门氏菌疫苗株的毒力。MDCK- 细胞的定量感染明显显示,CLAB SE404 相比祖先株和能动性 $\Delta phoN$ 肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 变体在 MDCK- 细胞中少毒力。

[0109] 一日龄的鸡经口接种 CLAB SE404 或能动性 $\Delta phoN$ 肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 组的单个变体。然后,通过细菌学手段测定免疫接种的动物的各组织中沙门氏菌的存在。数据揭示疫苗接种的 7 天后两个动物组的肝脏和脾脏中沙门氏菌的类似量。然后肝脏和脾脏中 CLAB SE404 的量降低,但在接受能动性 $\Delta phoN$ 肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 变体株的动物的器官中其仍高。在盲肠组织中得到类似结果。数据明显表明 CLAB SE404 相比能动性 $\Delta phoN$ 肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 变体少毒性。CLAB SE404 从免疫接种的鸡的组织 and 粪便的消失相比能动性 $\Delta phoN$ 肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 变体早得多。

[0110] 在由 CLAB SE404 或能动性 $\Delta phoN$ 肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 变体在 1 和 21 日龄经口免疫接种的鸡中测定 $\Delta phoN$ 肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 株的免疫原性。通过 ELISA 使用沙门氏菌属抗原评定两个动物组的体液和粘膜免疫应答。数据显示,两种疫苗株在经口免疫接种的鸡中引发最后疫苗接种的多于 50 天后 仍高的体液和粘膜免疫应答。由此,CLAB SE404 与能动性 $\Delta phoN$ 肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 变体具有类似免疫原性功效。

[0111] 最后显示,通过 CLAB SE404 或能动性 $\Delta phoN$ 肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 变体在 1 和 21 日龄经口免疫接种的鸡耐受强毒肠沙门氏菌肠亚种肠炎变种 (*Salmonella enterica enterica Enteritidis*) 分离物的攻击感染。由此,CLAB SE404 与能动性 $\Delta phoN$ 肠炎沙门氏菌 (*Salmonella Enteritidis*) 变体具有类似保护功效。

[0112] 总之,CLAB SE404 已鉴定为能使感染的动物和免疫接种的动物的进一步区分的用于具有低脱落和高功效的禽类的新减毒活沙门氏菌疫苗。

[0113] 【实施例 4】**[0114] 【用于 PhoN-DIVA 抗体测试的重组 PhoN 蛋白的制备】**

[0115] 基于重组 PhoN 优先制备 PhoN-DIVA 抗体测试。用纯化的重组 PhoN 的之前免疫印迹分析明显显示用减毒活沙门氏菌属 phoN-DIVA 疫苗株免疫接种的动物不产生结合全蛋白的抗体。意外的是,尽管蛋白 PhoN 的复杂性和体液免疫应答的广谱反应性,无交叉-反应性抗体存在于用 phoN-DIVA 沙门氏菌疫苗株免疫接种的动物血清中。

[0116] 可以高纯度制备用于 PhoN-DIVA 抗体测试的重组 PhoN。任何杂质可通过用 PhoN-DIVA 沙门氏菌疫苗免疫接种的家畜的广谱抗体检测,且由此导致 PhoN-DIVA 抗体测试中的假结果。

[0117] 纯的 PhoN 的制备可通过用允许高度严格纯化条件的额外的多肽片段延伸 PhoN 的一级结构来辅助。优先,将一系列组氨酸 (His- 标签) 导入 PhoN 的氨基末端或羧基末端。此外,可将另一蛋白结构域导入特异性地被内肽酶 (例如凝血酶) 识别的 His- 标签和 PhoN 结构之间,其允许去除 His- 标签。分析显示,所述包括 His- 标签和凝血酶-位点的 PhoN 的融合蛋白不干扰用减毒活沙门氏菌属 DIVA- 疫苗株免疫接种的动物血清,如之前分析所示。

[0118] PhoN 的融合蛋白可在大肠杆菌中通过常规表达载体,例如 pET15b 和通过应用如提供商,例如 Novagen 所示的标准纯化流程来制备。图 10 ~ 12 公开使用的表达质粒的图谱、例示制备的 PhoN 融合蛋白、PhoN_{FP101} 和 PhoN_{FP201} 的 DNA 和氨基酸序列。

[0119] 【PhoN-DIVA 抗体测试】

[0120] PhoN-DIVA 抗体测试在将鸡用减毒活沙门氏菌属 phoN-DIVA 疫苗株免疫接种时应用。在本实施例中,血清学 PhoN-DIVA 测试系统包括重组蛋白 PhoN,例如 PhoN_{FP101} 或 PhoN_{FP201},和另一沙门氏菌属特异性抗原。优先,沙门氏菌特异性抗原用例如由 Idexx 实验室 Inc. (Flockchek) 或由 Labor Diagnostik GmbH Leipzig (Flocktype Salmonella) 或由 Biochek 和其他公司提供的检测鸡中的沙门氏菌特异性抗体的商业测试试剂盒提供。此测试设置证明疫苗接种后是否呈现沙门氏菌特异性免疫应答。附加地,其证明无野生型沙门氏菌涉及,其通过在 PhoN-DIVA 抗体测试中与重组蛋白 PhoN 的阴性反应表明。

[0121] 一般而言,用于检测沙门氏菌特异性抗体的商业测试试剂盒制备为微孔板中的间接 ELISA。取决于供应商,沙门氏菌-特异性抗原混合剂已结合到微孔板的容器或必需之后使用等份的浓储物溶液偶联于其上。

[0122] 优先提供纯化的 PhoN,例如 PhoN_{FP201} 作为冷冻的浓储物溶液或作为含适当的防腐剂的冷冻干燥物。在本实施例中,用于检测 PhoN- 特异性抗体的 ELISA 根据如别处所述的标准流程,例如由 E. Harlow and D. Lane in *Antibodies. A Laboratory Manual* 所述的标准流程进行。

[0001] 打印 (原文为电子格式)

[0002] (此页不是国际申请文件的一部分,且不计为国际申请文件的一页)

[0003]

0-1	PCT/RO/134 表 关于保藏的微生物的说明 (PCT 实施细则第 13 条之二)	
0-1-1	制表程序	PCT Online Filing (3.5.000.204 MT/FOP 20020701/0.20.5.9 版)
0-2	国际申请号	
0-3	申请人或代理人的案卷号	44400PWO

[0004]

1	以下所作的说明涉及说明书下列位置中所指的微生物:	
1-1	页	18
1-2	行	7-9
1-3	保藏物标识	
1-3-1	保藏单位名称	DSMZ-德意志微生物和细胞培养物保藏中心
1-3-2	保藏单位地址	德国, Inhoffenstraße 7 B , D-38124 Braunschweig
1-3-3	保藏日期	2008 年 11 月 6 日
1-3-4	保藏编号	DSM 21972
1-5	本说明所适用的指定国	所有指定国

[0005] 本栏由受理局填写

[0006]

0-4	本页和国际申请一起收到: (是或否)	是
0-4-1	授权官员	Krista Delimon

[0007] 本栏由国际局填写

[0008]

0-5	国际局于以下日期收到本页: _年_月_日	
0-5-1	授权官员	

[0001]

序列表

<110> CREATOGEN Laboratories GmbH
 <120> 沙门氏菌标记疫苗
 <130> 44400PW0
 <160> 27
 <170> PatentIn version 3.3
 <210> 1
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> 肠沙门氏菌肠亚种肠炎血清型变种 (Salmonella enterica enterica serovar Enteritidis) CLAB_SE360

<400> 1

Met Lys Ser Arg Tyr Leu Val Phe Phe Leu Pro Leu Ile Val Ala Lys
 1 5 10 15

Tyr Thr Ser Ala Glu Thr Val Gln Pro Phe His Ser Pro Glu Glu Ser
 20 25 30

Val Asn Ser Gln Phe Tyr Leu Pro Pro Pro Pro Gly Asn Asp Asp Pro
 35 40 45

Ala Phe Arg Tyr Asp Lys Glu Ala Tyr Phe Lys Gly Tyr Ala Ile Lys
 50 55 60

Ser Ser Pro Arg Trp Lys Gln Ala Ala Glu Asp Ala Asp Val Ser Val
 65 70 75 80

Glu Asn Ile Ala Arg Ile Phe Ser Pro Val Val Gly Ala Lys Ile Asn
 85 90 95

Pro Lys Asp Thr Pro Glu Thr Trp Asn Met Leu Gln Asn Leu Leu Thr
 100 105 110

Met Gly Gly Tyr Tyr Ala Thr Ala Ser Ala Lys Lys Tyr Tyr Met Arg
 115 120 125

Thr Arg Pro Phe Val Leu Phe Asn His Ser Thr Cys Arg Pro Glu Asp
 130 135 140

Glu Asn Thr Leu Arg Lys Asp Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ala
 145 150 155 160

Tyr Gly Thr Leu Leu Ala Leu Val Leu Ser Glu Ala Arg Pro Glu Arg
 165 170 175

Ala Gln Glu Leu Ala Arg Arg Gly Trp Glu Phe Gly Gln Ser Arg Val
 180 185 190

Ile Cys Gly Ala His Trp Gln Ser Asp Val Asp Ala Gly Arg Tyr Val
 195 200 205

Gly Ala Val Glu Phe Ala Arg Leu Gln Thr Ile Pro Ala Phe Gln Lys
 210 215 220

Ser Leu Ala Lys Val Arg Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Asn Leu Leu

[0002]

<210> 3
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> 肠沙门氏菌肠亚种都柏林血清型变种 (*Salmonella enterica enterica* serovar Dublin) CT_02021853

<400> 3

Met Lys Ser Arg Tyr Leu Val Phe Phe Leu Pro Leu Ile Val Ala Lys
 1 5 10 15

Tyr Thr Ser Ala Glu Thr Val Gln Pro Phe His Ser Pro Glu Glu Ser
 20 25 30

Val Asn Ser Gln Phe Tyr Leu Pro Pro Pro Pro Gly Asn Asp Asp Pro
 35 40 45

Ala Phe Arg Tyr Asp Lys Glu Ala Tyr Phe Lys Gly Tyr Ala Ile Lys
 50 55 60

Gly Ser Pro Arg Trp Lys Gln Ala Ala Glu Asp Ala Asp Val Ser Val
 65 70 75 80

Glu Asn Ile Ala Arg Ile Phe Ser Pro Val Val Gly Ala Lys Ile Asn
 85 90 95

Pro Lys Asp Thr Pro Glu Thr Trp Asn Met Leu Gln Asn Leu Leu Thr
 100 105 110

Met Gly Gly Tyr Tyr Ala Thr Ala Ser Ala Lys Lys Tyr Tyr Met Arg
 115 120 125

Thr Arg Pro Phe Val Leu Phe Asn His Ser Thr Cys Arg Pro Glu Asp
 130 135 140

Glu Asn Thr Leu Arg Lys Asp Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ala
 145 150 155 160

Tyr Gly Thr Leu Leu Ala Leu Val Leu Ser Glu Ala Arg Pro Glu Arg
 165 170 175

Ala Gln Glu Leu Ala Arg Arg Gly Trp Glu Phe Gly Gln Ser Arg Val
 180 185 190

Ile Cys Gly Ala His Trp Gln Ser Asp Val Asp Ala Gly Arg Tyr Val
 195 200 205

Gly Ala Val Glu Phe Ala Arg Leu Gln Thr Ile Pro Ala Phe Gln Lys
 210 215 220

Ser Leu Ala Lys Val Arg Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Asn Leu Leu
 225 230 235 240

Ser Lys Glu Asp His Pro Glu Leu Asn Tyr
 245 250

<210> 4
 <211> 250
 <212> PRT

[0004]

<213> 肠沙门氏菌肠亚种鸡血清型变种 (*Salmonella enterica enterica* serovar Gallinarum) 287/91

<400> 4

Met Lys Ser Arg Tyr Leu Val Phe Phe Leu Pro Leu Ile Val Ala Lys
1 5 10 15

Tyr Thr Ser Ala Glu Thr Val Gln Pro Phe His Ser Pro Glu Glu Ser
20 25 30

Val Asn Ser Gln Phe Tyr Leu Pro Pro Pro Gly Asn Asp Asp Pro
35 40 45

Ala Phe Arg Tyr Asp Lys Glu Ala Tyr Phe Lys Gly Tyr Ala Ile Lys
50 55 60

Gly Ser Pro Arg Trp Lys Gln Ala Ala Glu Asp Ala Asp Val Ser Val
65 70 75 80

Glu Asn Ile Ala Arg Ile Phe Ser Pro Val Val Gly Ala Lys Ile Asn
85 90 95

Pro Lys Asp Thr Pro Glu Thr Trp Asn Met Leu Gln Asn Leu Leu Thr
100 105 110

Met Gly Gly Tyr Tyr Ala Ile Ala Ser Ala Lys Lys Tyr Tyr Met Arg
115 120 125

Thr Arg Pro Phe Val Leu Phe Asn His Ser Thr Cys Arg Pro Glu Asp
130 135 140

Glu Asn Thr Leu Arg Lys Asp Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ala
145 150 155 160

Tyr Gly Thr Leu Leu Ala Leu Val Leu Ser Glu Ala Arg Pro Glu Arg
165 170 175

Ala Gln Glu Leu Ala Arg Arg Gly Trp Glu Phe Gly Gln Ser Arg Val
180 185 190

Ile Cys Gly Ala His Trp Gln Ser Asp Val Asp Ala Gly Arg Tyr Val
195 200 205

Gly Ala Val Glu Phe Ala Arg Arg Gln Thr Ile Pro Ala Phe Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ala Lys Val Arg Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Asn Leu Leu
225 230 235 240

Ser Lys Glu Asp His Pro Glu Leu Asn Tyr
245 250

<210> 5

<211> 250

<212> PRT

<213> 肠沙门氏菌肠亚种伤寒血清型变种 (*Salmonella enterica enterica* serovar Typhimurium) LT2

<400> 5

Met Lys Ser Arg Tyr Leu Val Phe Phe Leu Pro Leu Ile Val Ala Lys

[0005]

Val Asn Ser Gln Phe Tyr Leu Pro Pro Pro Pro Gly Asn Asp Asp Pro
 35 40 45

Ala Phe Arg Tyr Asp Lys Glu Ala Tyr Phe Lys Gly Tyr Ala Ile Lys
 50 55 60

Gly Ser Pro Arg Trp Lys Gln Ala Ala Glu Asp Ala Asp Val Ser Val
 65 70 75 80

Glu Asn Ile Ala Arg Ile Phe Ser Pro Val Val Gly Ala Lys Ile Asn
 85 90 95

Pro Lys Asp Thr Pro Glu Thr Trp Asn Met Leu Gln Asn Leu Leu Thr
 100 105 110

Met Gly Gly Tyr Tyr Ala Thr Ala Ser Ala Lys Lys Tyr Tyr Met Arg
 115 120 125

Thr Arg Pro Phe Val Leu Phe Asn His Ser Thr Cys Arg Pro Glu Asp
 130 135 140

Glu Asn Thr Leu Arg Lys Asp Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ala
 145 150 155 160

Tyr Gly Thr Leu Leu Ala Leu Val Leu Ser Glu Ala Arg Pro Glu Arg
 165 170 175

Ala Gln Glu Leu Ala Arg Arg Gly Trp Glu Phe Gly Gln Ser Arg Val
 180 185 190

Ile Cys Gly Ala His Trp Gln Ser Asp Val Asp Ala Gly Arg Tyr Val
 195 200 205

Gly Ala Val Glu Phe Ala Arg Leu Gln Thr Ile Pro Ala Phe Gln Lys
 210 215 220

Ser Leu Ala Lys Val Arg Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Asn Leu Leu
 225 230 235 240

Ser Lys Glu Asp His Pro Glu Leu Asn Tyr
 245 250

<210> 7
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> 肠沙门氏菌肠亚种新港血清型变种 (Salmonella enterica enterica serovar Newport) SL254

<400> 7

Met Lys Ser Arg Tyr Leu Leu Phe Phe Leu Pro Leu Ile Val Ala Lys
 1 5 10 15

Tyr Thr Ser Ala Glu Thr Val Gln Pro Phe His Ser Pro Glu Glu Ser
 20 25 30

Val Asn Ser Gln Phe Tyr Leu Pro Pro Pro Pro Gly Asn Asp Asp Pro
 35 40 45

[0007]

Ala Phe Arg Tyr Asp Lys Glu Ala Tyr Phe Lys Gly Tyr Ala Ile Lys
50 55 60

Gly Ser Pro Arg Trp Lys Gln Ala Ala Glu Asp Ala Asp Val Ser Val
65 70 75 80

Glu Asn Ile Ala Arg Ile Phe Ser Pro Val Val Gly Ala Lys Ile Asn
85 90 95

Pro Lys Asp Thr Pro Glu Thr Trp Asn Met Leu Gln Asn Leu Leu Lys
100 105 110

Met Gly Gly Tyr Tyr Ala Thr Ala Ser Ala Lys Lys Tyr Tyr Met Arg
115 120 125

Thr Arg Pro Phe Val Leu Phe Asn His Ser Thr Cys Arg Pro Glu Asp
130 135 140

Glu Asn Thr Leu Arg Lys Asp Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ala
145 150 155 160

Tyr Gly Thr Leu Leu Ala Leu Val Leu Ser Glu Ala Arg Pro Glu Arg
165 170 175

Ala Gln Glu Leu Ala Arg Arg Gly Trp Glu Phe Gly Gln Ser Arg Val
180 185 190

Ile Cys Gly Ala His Trp Gln Ser Asp Val Asp Ala Gly Arg Tyr Val
195 200 205

Gly Ala Val Glu Phe Ala Arg Leu Gln Thr Ile Pro Ala Phe Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ala Lys Val Arg Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Asn Leu Leu
225 230 235 240

Ser Lys Glu Asp His Pro Glu Leu Asn Tyr
245 250

<210> 8
<211> 250
<212> PRT
<213> 肠沙门氏菌肠亚种霍乱血清型变种 (*Salmonella enterica enterica* serovar Choleraesuis) SC-B67

<400> 8

Met Lys Ser Arg Tyr Leu Leu Phe Phe Leu Pro Leu Ile Val Ala Lys
1 5 10 15

Tyr Thr Ser Ala Ala Thr Val Gln Pro Phe His Ser Pro Glu Glu Ser
20 25 30

Val Asn Ser Gln Phe Tyr Leu Pro Pro Pro Pro Gly Asn Asp Asp Pro
35 40 45

Ala Phe Leu Tyr Asp Lys Glu Ala Tyr Phe Lys Gly Tyr Ala Ile Lys
50 55 60

[0008]

Gly Ser Pro Arg Trp Lys Gln Ala Ala Glu Asp Ala Asp Val Ser Val
 65 70 75 80
 Glu Asn Ile Ala Arg Ile Phe Ser Pro Val Val Gly Ala Lys Ile Asn
 85 90 95
 Pro Lys Asp Thr Pro Glu Thr Trp Asn Met Leu Lys Asn Leu Leu Thr
 100 105 110
 Met Gly Gly Tyr Tyr Ala Thr Ala Ser Ala Lys Lys Tyr Tyr Met Arg
 115 120 125
 Thr Arg Pro Phe Val Leu Phe Asn His Ser Thr Cys Arg Pro Glu Asp
 130 135 140
 Glu Asn Thr Leu Arg Lys Asp Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ala
 145 150 155 160
 Tyr Gly Thr Leu Leu Ala Leu Val Leu Ser Glu Ala Arg Pro Glu Arg
 165 170 175
 Ala Gln Glu Leu Ala Arg Arg Gly Trp Glu Phe Gly Gln Ser Arg Val
 180 185 190
 Ile Cys Gly Ala His Trp Gln Ser Asp Val Asp Ala Gly Arg Tyr Val
 195 200 205
 Gly Ala Val Glu Phe Ala Arg Leu Gln Thr Ile Pro Ala Phe Gln Lys
 210 215 220
 Ser Leu Ala Lys Val Arg Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Asn Leu Leu
 225 230 235 240
 Ser Lys Glu Asp His Pro Lys Leu Asn Tyr
 245 250
 <210> 9
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> 肠沙门氏菌肠亚种阿哥拉血清型变种 (Salmonella enterica enterica serovar Agona) SL483
 <400> 9
 Met Lys Ser Arg Tyr Leu Val Phe Phe Leu Pro Leu Ile Val Ala Lys
 1 5 10 15
 Tyr Thr Ser Ala Glu Thr Val Gln Pro Phe His Ser Pro Glu Glu Ser
 20 25 30
 Val Asn Ser Gln Phe Tyr Leu Pro Pro Pro Pro Gly Asn Asp Asp Pro
 35 40 45
 Ala Phe Arg Tyr Asp Lys Glu Ala Tyr Phe Lys Gly Tyr Ala Ile Lys
 50 55 60
 Gly Ser Pro Arg Trp Lys Gln Ala Ala Glu Asp Ala Asp Val Ser Val
 65 70 75 80
 Glu Asn Ile Ala Arg Ile Phe Ser Pro Val Val Gly Ala Lys Ile Asn

[0009]

85	90	95
Pro Lys Asp Thr 100	Pro Glu Thr Trp Asn Met Leu Lys Asn 105	Leu Leu Thr 110
Met Gly Gly Tyr Tyr Ala Thr 115	Ala Ser Ala Lys Lys Tyr Tyr Met Arg 120	
Thr Arg Pro Phe Val Leu Phe Asn His Ser Thr Cys Arg Pro Glu Asp 130		135 140
Glu Asn Thr Leu Arg Lys Asp Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ala 145		150 155 160
Tyr Gly Thr Leu Leu Ala Leu Val Leu Ser Gln Ala Arg Pro Glu Arg 165		170 175
Ala Gln Glu Leu Ala Arg Arg Gly Trp Glu Phe Gly Gln Ser Arg Val 180		185 190
Ile Cys Gly Ala His Trp Gln Ser Asp Val Asp Ala Gly Arg Tyr Val 195		200 205
Gly Ala Val Glu Phe Ala Arg Leu Gln Thr Ile Pro Ala Phe Gln Lys 210		215 220
Ser Leu Ala Lys Val Arg Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Asn Leu Leu 225		230 235 240
Ser Lys Glu Glu Arg Pro Glu Leu Asn Tyr 245		250
<210> 10		
<211> 250		
<212> PRT		
<213> 肠沙门氏菌肠亚种哈达尔血清型变种 (Salmonella enterica enterica serovar Hadar) RI_05P066		
<400> 10		
Met Lys Ser Arg Tyr Leu Val Phe Phe Leu Pro Leu Ile Val Ala Lys 1		5 10 15
Tyr Thr Ser Ala Glu Thr Val Gln Pro Phe His Ser Pro Glu Glu Ser 20		25 30
Val Asn Ser Gln Phe Tyr Leu Pro Pro Pro Pro Gly Asn Asp Asp Pro 35		40 45
Ala Phe Arg Tyr Asp Lys Glu Ala Tyr Phe Lys Gly Tyr Ala Ile Lys 50		55 60
Gly Ser Pro Arg Trp Lys Gln Ala Ala Glu Asp Ala Asp Ile Ser Val 65		70 75 80
Glu Asn Ile Ala Arg Ile Phe Ser Pro Val Val Gly Ala Lys Ile Asn 85		90 95
Pro Lys Asp Thr Pro Glu Thr Trp Asn Met Leu Gln Asn Leu Leu Lys 100		105 110

[0010]

Met Gly Gly Tyr Tyr Ala Thr Ala Ser Ala Lys Lys Tyr Tyr Met Arg
 115 120 125

Thr Arg Pro Phe Val Leu Phe Asn His Ser Thr Cys Arg Pro Glu Asp
 130 135 140

Glu Asn Thr Leu Arg Lys Asn Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ala
 145 150 155 160

Tyr Gly Thr Leu Leu Ala Leu Val Leu Ser Glu Ala Arg Pro Glu Arg
 165 170 175

Ala Gln Glu Leu Ala Arg Arg Gly Trp Glu Phe Gly Gln Ser Arg Val
 180 185 190

Ile Cys Gly Ala His Trp Gln Ser Asp Val Asp Ala Gly Arg Tyr Val
 195 200 205

Gly Ala Val Glu Phe Ala Arg Leu Gln Thr Ile Pro Ala Phe Gln Lys
 210 215 220

Ser Leu Ala Lys Val Arg Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Asn Leu Leu
 225 230 235 240

Ser Lys Glu Asp His Pro Glu Leu Asn Tyr
 245 250

<210> 11

<211> 250

<212> PRT

<213> 肠沙门氏菌肠亚种海德堡血清型变种 (Salmonella enterica enterica serovar Heidelberg) SL486

<400> 11

Met Lys Ser Arg Tyr Leu Val Phe Phe Leu Pro Leu Ile Val Ala Lys
 1 5 10 15

Tyr Thr Ser Ala Glu Thr Val Gln Pro Phe His Ser Pro Glu Glu Ser
 20 25 30

Val Asn Ser Gln Phe Tyr Leu Pro Pro Pro Pro Gly Asn Asp Asp Pro
 35 40 45

Ala Phe Arg Tyr Asp Lys Glu Ala Tyr Phe Lys Gly Tyr Ala Ile Lys
 50 55 60

Gly Ser Pro Arg Trp Lys Gln Ala Ala Glu Asp Ala Asp Val Ser Val
 65 70 75 80

Glu Asn Ile Ala Arg Ile Phe Ser Pro Val Val Gly Ala Lys Ile Asn
 85 90 95

Pro Lys Asp Thr Pro Glu Thr Trp Asn Met Leu Lys Asn Leu Leu Thr
 100 105 110

Met Gly Gly Tyr Tyr Ala Thr Ala Ser Ala Lys Lys Tyr Tyr Met Arg
 115 120 125

[0011]

Thr Arg Pro Phe Val Leu Phe Asn His Thr Thr Cys Arg Pro Glu Asp
 130 135 140
 Glu Asn Thr Leu Arg Lys Asn Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ala
 145 150 155 160
 Tyr Gly Thr Leu Leu Ala Leu Val Leu Ser Glu Ala Arg Pro Glu Arg
 165 170 175
 Ala Gln Glu Leu Ala Arg Arg Gly Trp Glu Phe Gly Gln Ser Arg Val
 180 185 190
 Ile Cys Gly Ala His Trp Gln Ser Asp Val Asp Ala Gly Arg Tyr Val
 195 200 205
 Gly Ala Val Glu Phe Ala Arg Leu Gln Thr Ile Pro Ala Phe Gln Lys
 210 215 220
 Ser Leu Ala Lys Val Arg Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Asn Leu Leu
 225 230 235 240
 Ser Lys Glu Asp His Pro Lys Leu Asn Tyr
 245 250
 <210> 12
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> 肠沙门氏菌肠亚种肯塔基血清型变种 (Salmonella enterica enterica serovar Kentucky) CDC 191
 <400> 12
 Met Lys Ser Arg Tyr Leu Val Phe Phe Leu Pro Leu Ile Val Ala Lys
 1 5 10 15
 Tyr Thr Ser Ala Glu Thr Val Gln Pro Phe His Ser Pro Glu Glu Ser
 20 25 30
 Val Asn Ser Gln Phe Tyr Leu Pro Pro Pro Pro Gly Asn Asp Asp Pro
 35 40 45
 Ala Phe Arg Tyr Asp Lys Glu Ala Tyr Phe Lys Gly Tyr Ala Ile Lys
 50 55 60
 Gly Ser Pro Arg Trp Lys Gln Ala Ala Glu Asp Ala Asp Val Ser Val
 65 70 75 80
 Glu Asn Ile Ala Arg Ile Phe Ser Pro Val Val Gly Ala Lys Ile Asn
 85 90 95
 Pro Lys Asp Thr Pro Glu Thr Trp Asn Met Leu Lys Asn Leu Leu Thr
 100 105 110
 Met Gly Gly Tyr Tyr Ala Thr Ala Ser Ala Lys Lys Tyr Tyr Met Arg
 115 120 125
 Thr Arg Pro Phe Val Leu Phe Asn His Ser Thr Cys Arg Pro Glu Asp
 130 135 140

[0012]

Glu Asn Thr Leu Arg Lys Asp Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ala
 145 150 155 160
 Tyr Gly Thr Leu Leu Ala Leu Val Leu Ser Gln Ala Arg Pro Glu Arg
 165 170 175
 Ala Gln Glu Leu Ala Arg Arg Gly Trp Glu Phe Gly Gln Ser Arg Val
 180 185 190
 Ile Cys Gly Ala His Trp Gln Ser Asp Val Asp Ala Gly Arg Tyr Val
 195 200 205
 Gly Ala Val Glu Phe Ala Arg Leu Gln Thr Ile Pro Ala Phe Gln Lys
 210 215 220
 Ser Leu Ala Lys Val Arg Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Asn Leu Leu
 225 230 235 240
 Ser Lys Ala Asp His Pro Glu Leu Asn Tyr
 245 250
 <210> 13
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> 肠沙门氏菌肠炎亚种圣保罗血清型变种 (Salmonella enterica enterica serovar Saintpaul) SARA23
 <400> 13
 Met Lys Ser Arg Tyr Leu Val Phe Phe Leu Pro Leu Ile Val Ala Lys
 1 5 10 15
 Tyr Thr Ser Ala Ala Thr Val Gln Pro Phe His Ser Pro Glu Glu Ser
 20 25 30
 Val Asn Ser Gln Phe Tyr Leu Pro Pro Pro Pro Gly Asn Asp Asp Pro
 35 40 45
 Ala Phe Arg Tyr Asp Lys Glu Ala Tyr Phe Lys Gly Tyr Ala Ile Lys
 50 55 60
 Gly Ser Pro Arg Trp Lys Gln Ala Ala Glu Asp Ala Asp Ile Ser Val
 65 70 75 80
 Glu Asn Ile Ala Arg Ile Phe Ser Pro Val Val Gly Ala Lys Ile Asn
 85 90 95
 Pro Lys Asp Thr Pro Glu Thr Trp Asn Met Leu Gln Asn Leu Leu Lys
 100 105 110
 Met Gly Gly Tyr Tyr Ala Thr Ala Ser Ala Lys Lys Tyr Tyr Met Arg
 115 120 125
 Thr Arg Pro Phe Val Leu Phe Asn His Ser Thr Cys Arg Pro Glu Asp
 130 135 140
 Glu Asn Thr Leu Arg Lys Asp Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ala
 145 150 155 160
 Tyr Gly Thr Leu Leu Ala Leu Val Leu Ser Glu Ala Arg Pro Glu Arg

[0013]

Ile Cys Gly Ala His Trp Gln Ser Asp Val Asp Ala Gly Arg Tyr Val
195 200 205

Gly Ala Val Glu Phe Ala Arg Leu Gln Thr Ile Pro Ala Phe Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ala Lys Val Arg Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Asn Leu Leu
225 230 235 240

Ser Lys Glu Asp His Pro Lys Leu Asn Tyr
245 250

<210> 15

<211> 250

<212> PRT

<213> 肠沙门氏菌肠亚种韦尔泰夫利丁血清型变种 (*Salmonella enterica enterica* serovar Weltevreden) HI
N05-537

<400> 15

Met Lys Ser Arg Tyr Leu Leu Phe Phe Leu Pro Leu Ile Val Ala Lys
1 5 10 15

Tyr Thr Ser Ala Ala Thr Val Gln Pro Phe His Ser Pro Glu Glu Ser
20 25 30

Val Asn Ser Gln Phe Tyr Leu Pro Pro Pro Gly Asn Asp Asp Pro
35 40 45

Ala Phe Leu Tyr Asp Lys Glu Ala Tyr Phe Lys Gly Tyr Ala Ile Lys
50 55 60

Gly Ser Pro Arg Trp Lys Gln Ala Ala Glu Asp Ala Asp Val Ser Val
65 70 75 80

Glu Asn Ile Ala Arg Ile Phe Ser Pro Val Val Gly Ala Lys Ile Asn
85 90 95

Pro Lys Asp Thr Pro Glu Thr Trp Asn Met Leu Lys Asn Leu Leu Thr
100 105 110

Met Gly Gly Tyr Tyr Ala Thr Ala Ser Ala Lys Lys Tyr Tyr Met Arg
115 120 125

Thr Arg Pro Phe Val Leu Phe Asn His Ser Thr Cys Arg Pro Glu Asp
130 135 140

Glu Asn Thr Leu Arg Lys Asp Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ala
145 150 155 160

Tyr Gly Thr Leu Leu Ala Leu Val Leu Ser Glu Ala Arg Pro Glu Arg
165 170 175

Ala Gln Glu Leu Ala Arg Arg Gly Trp Glu Phe Gly Gln Ser Arg Val
180 185 190

Ile Cys Gly Ala His Trp Gln Ser Asp Val Asp Ala Gly Arg Tyr Val
195 200 205

[0015]

Gly Ala Val Glu Phe Ala Arg Leu Gln Thr Ile Pro Ala Phe Gln Lys
 210 215 220
 Ser Leu Ala Lys Val Arg Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Asn Leu Leu
 225 230 235 240
 Ser Lys Glu Asp His Pro Glu Leu Asn Tyr
 245 250
 <210> 16
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> 肠沙门氏菌肠炎亚种爪哇血清型变种 (*Salmonella enterica enterica* serovar Javiana) GA_MM04042433
 <400> 16
 Met Lys Ser Arg Tyr Leu Leu Phe Phe Leu Pro Leu Ile Val Ala Lys
 1 5 10 15
 Tyr Thr Ser Ala Ala Thr Val Gln Leu Phe His Ser Pro Glu Glu Ser
 20 25 30
 Val Asn Ser Gln Phe Tyr Leu Pro Pro Pro Gly Asn Asp Asp Pro
 35 40 45
 Ala Phe Arg Tyr Asp Lys Glu Ala Tyr Phe Lys Gly Tyr Ala Ile Lys
 50 55 60
 Gly Ser Pro Arg Trp Lys Gln Ala Ala Glu Asp Ala Asp Val Ser Val
 65 70 75 80
 Glu Asn Ile Ala Arg Ile Phe Ser Pro Val Val Gly Ala Lys Ile Asn
 85 90 95
 Pro Lys Asp Thr Pro Glu Thr Trp Asn Met Leu Gln Asn Leu Leu Lys
 100 105 110
 Met Gly Gly Tyr Tyr Ala Thr Ala Ser Ala Lys Lys Tyr Tyr Met Arg
 115 120 125
 Thr Arg Pro Phe Val Leu Phe Asn His Ser Thr Cys Arg Pro Glu Asp
 130 135 140
 Glu Asn Thr Leu Arg Lys Asp Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ala
 145 150 155 160
 Tyr Gly Thr Leu Leu Ala Leu Val Leu Ser Gln Ala Arg Pro Glu Arg
 165 170 175
 Ala Gln Glu Leu Ala Arg Arg Gly Trp Glu Phe Gly Gln Ser Arg Val
 180 185 190
 Ile Cys Gly Ala His Trp Gln Ser Asp Val Asp Ala Gly Arg Tyr Val
 195 200 205
 Gly Ala Val Glu Phe Ala Arg Leu Gln Thr Ile Pro Ala Phe Gln Lys
 210 215 220

[0016]

Ser Leu Ala Lys Val Arg Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Asn Leu Leu
 225 230 235 240

Ser Lys Glu Asp His Pro Lys Leu Asn Tyr
 245 250

<210> 17
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> 肠沙门氏菌肠亚种施瓦岑格隆德血清型变种 (*Salmonella enterica enterica* serovar Schwarzengrund)
 SL480

<400> 17

Met Lys Ser Arg Tyr Leu Leu Phe Phe Leu Pro Leu Ile Val Ala Lys
 1 5 10 15

Tyr Thr Ser Ala Glu Thr Val Gln Pro Phe His Ser Pro Glu Glu Ser
 20 25 30

Val Asn Ser Gln Phe Tyr Leu Pro Pro Pro Gly Asn Asp Asp Pro
 35 40 45

Ala Phe Arg Tyr Asp Lys Glu Ala Tyr Phe Lys Gly Tyr Ala Ile Lys
 50 55 60

Gly Ser Pro Arg Trp Lys Gln Ala Ala Glu Asp Ala Asp Val Ser Val
 65 70 75 80

Glu Asn Ile Ala Arg Ile Phe Ser Pro Val Val Gly Ala Lys Ile Asn
 85 90 95

Pro Lys Asp Thr Pro Glu Thr Trp Asn Met Leu Gln Asn Leu Leu Lys
 100 105 110

Met Gly Gly Tyr Tyr Ala Thr Ala Ser Ala Lys Lys Tyr Tyr Met Arg
 115 120 125

Thr Arg Pro Phe Val Leu Phe Asn His Ser Thr Cys Arg Pro Glu Asp
 130 135 140

Glu Asp Thr Leu Arg Lys Asp Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ala
 145 150 155 160

Tyr Gly Thr Leu Leu Ala Leu Val Leu Ser Gln Ala Arg Pro Glu Arg
 165 170 175

Ala Gln Glu Leu Ala Arg Arg Gly Trp Glu Phe Gly Gln Ser Arg Val
 180 185 190

Ile Cys Gly Ala His Trp Gln Ser Asp Val Asp Ala Gly Arg Tyr Val
 195 200 205

Gly Ala Val Glu Phe Ala Arg Leu Gln Thr Ile Pro Ala Phe Gln Lys
 210 215 220

Ser Leu Ala Lys Val Arg Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Asn Leu Leu
 225 230 235 240

[0017]

Ser Lys Glu Asp His Pro Lys Leu Asn Tyr
245 250

<210> 18

<211> 250

<212> PRT

<213> 肠沙门氏菌肠亚种乙型副伤寒血清型变种 (Salmonella enterica enterica serovar Paratyphi B) SPB7

<400> 18

Met Lys Ser Arg Tyr Leu Leu Phe Phe Leu Pro Leu Ile Val Ala Lys
1 5 10 15

Tyr Thr Leu Ala Ala Thr Val Gln Leu Phe His Ser Pro Glu Glu Ser
20 25 30

Val Asn Ser Gln Phe Tyr Leu Pro Pro Pro Pro Gly Asn Asp Asp Pro
35 40 45

Ala Phe Arg Tyr Asp Lys Glu Ala Tyr Phe Lys Gly Tyr Ala Ile Lys
50 55 60

Gly Ser Pro Arg Trp Lys Gln Ala Ala Glu Asp Ala Asp Val Ser Val
65 70 75 80

Glu Asn Ile Ala Arg Ile Phe Ser Pro Val Val Gly Ala Lys Ile Asn
85 90 95

Pro Lys Asp Thr Pro Glu Thr Trp Asn Met Leu Gln Asn Leu Leu Lys
100 105 110

Met Gly Gly Tyr Tyr Ala Thr Ala Ser Ala Lys Lys Tyr Tyr Met Arg
115 120 125

Thr Arg Pro Phe Val Leu Phe Asn His Ser Thr Cys Arg Pro Glu Asp
130 135 140

Glu Asn Thr Leu Arg Lys Asp Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ala
145 150 155 160

Tyr Gly Thr Leu Leu Ala Leu Val Leu Ser Gln Ala Arg Pro Glu Arg
165 170 175

Ala Gln Glu Leu Ala Arg Arg Gly Trp Glu Phe Gly Gln Ser Arg Val
180 185 190

Ile Cys Gly Ala His Trp Gln Ser Asp Val Asp Ala Gly Arg Tyr Val
195 200 205

Gly Ala Val Glu Phe Ala Arg Leu Gln Thr Ile Pro Ala Phe Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ala Lys Val Arg Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Asn Leu Leu
225 230 235 240

Ser Lys Glu Asp His Pro Lys Leu Asn Tyr
245 250

[0018]

<210> 19
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> 肠沙门氏菌肠亚种副伤寒血清型变种 (*Salmonella enterica enterica* serovar Paratyphi) ATCC 9150

<400> 19

Met Lys Ser Arg Tyr Leu Leu Phe Phe Leu Pro Leu Ile Val Ala Lys
 1 5 10 15

Tyr Thr Ser Ala Ala Thr Val Gln Leu Phe His Ser Pro Glu Glu Ser
 20 25 30

Val Asn Ser Gln Phe Tyr Leu Pro Pro Pro Pro Gly Asn Asp Asp Pro
 35 40 45

Ala Phe Arg Tyr Asp Lys Glu Ala Tyr Phe Lys Gly Tyr Ala Ile Lys
 50 55 60

Gly Ser Pro Gln Trp Lys Gln Ala Ala Glu Asp Ala Asp Val Ser Val
 65 70 75 80

Glu Asn Ile Ala Arg Ile Phe Ser Pro Val Val Gly Ala Lys Ile Asn
 85 90 95

Pro Lys Asp Thr Pro Glu Thr Trp Asn Met Leu Gln Asn Leu Leu Lys
 100 105 110

Met Gly Ser Tyr Tyr Ala Thr Ala Ser Ala Lys Lys Tyr Tyr Met Arg
 115 120 125

Thr Arg Pro Phe Val Leu Phe Asn His Ser Thr Cys Arg Pro Glu Asp
 130 135 140

Glu Asn Thr Leu Arg Lys Asp Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ala
 145 150 155 160

Tyr Gly Thr Leu Leu Ala Leu Val Leu Ser Gln Ala Arg Pro Glu Arg
 165 170 175

Ala Gln Glu Leu Ala Arg Arg Gly Trp Glu Phe Gly Gln Ser Arg Val
 180 185 190

Ile Cys Gly Ala His Trp Gln Ser Asp Val Asp Ala Gly Arg Tyr Val
 195 200 205

Gly Ala Val Glu Phe Ala Arg Leu Gln Thr Ile Pro Ala Phe Gln Lys
 210 215 220

Ser Leu Ala Lys Val Arg Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Asn Leu Leu
 225 230 235 240

Ser Lys Glu Glu Arg Pro Glu Leu Asn Tyr
 245 250

<210> 20
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> 肠沙门氏菌肠亚种伤寒血清型变种 (*Salmonella enterica enterica* serovar Typhi) CT18

[0019]

<400> 20
 Met Lys Ser Arg Tyr Leu Leu Phe Phe Leu Pro Leu Ile Val Ala Lys
 1 5 10 15
 Tyr Thr Ser Ala Ala Thr Met Gln Pro Phe His Ser Pro Glu Glu Ser
 20 25 30
 Val Asn Ser Gln Phe Tyr Leu Pro Pro Pro Pro Gly Asn Asp Asp Pro
 35 40 45
 Ala Phe Arg Tyr Asp Lys Glu Ala Tyr Phe Lys Gly Tyr Ala Ile Lys
 50 55 60
 Gly Ser Pro Arg Trp Lys Gln Ala Ala Glu Asp Ala Asp Ile Ser Val
 65 70 75 80
 Glu Asn Ile Ala Arg Ile Phe Ser Pro Val Val Gly Ala Lys Ile Asn
 85 90 95
 Pro Lys Asp Thr Pro Glu Thr Trp Asn Met Leu Gln Asn Leu Leu Lys
 100 105 110
 Met Gly Gly Tyr Tyr Ala Thr Ala Ser Ala Lys Lys Tyr Tyr Met Arg
 115 120 125
 Thr Arg Pro Phe Val Leu Phe Asn His Ser Thr Cys Arg Pro Glu Asp
 130 135 140
 Glu Asn Thr Leu Arg Lys Asp Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ala
 145 150 155 160
 Tyr Ser Thr Leu Leu Ala Leu Val Leu Ser Gln Ala Arg Pro Glu Arg
 165 170 175
 Ala Gln Glu Leu Ala Arg Arg Gly Trp Glu Phe Gly Gln Ser Arg Val
 180 185 190
 Ile Cys Gly Ala His Trp Gln Ser Asp Val Asp Ala Gly Arg Tyr Val
 195 200 205
 Gly Ala Val Glu Phe Ala Arg Leu Gln Thr Ile Pro Ala Phe Gln Lys
 210 215 220
 Ser Leu Ala Lys Val Arg Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Asn Leu Leu
 225 230 235 240
 Ser Lys Glu Glu Arg Pro Glu Leu Asn Tyr
 245 250
 <210> 21
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> 蟑螂埃希氏菌 (Escherichia blattae) JCM1650
 <400> 21
 Met Lys Lys Arg Val Leu Ala Val Cys Phe Ala Ala Leu Phe Ser Ser
 1 5 10 15

[0020]

Gln Ala Leu Ala Leu Val Ala Thr Gly Asn Asp Thr Thr Thr Lys Pro
20 25 30

Asp Leu Tyr Tyr Leu Lys Asn Ser Glu Ala Ile Asn Ser Leu Ala Leu
35 40 45

Leu Pro Pro Pro Pro Ala Val Gly Ser Ile Ala Phe Leu Asn Asp Gln
50 55 60

Ala Met Tyr Glu Gln Gly Arg Leu Leu Arg Asn Thr Glu Arg Gly Lys
65 70 75 80

Leu Ala Ala Glu Asp Ala Asn Leu Ser Ser Gly Gly Val Ala Asn Ala
85 90 95

Phe Ser Gly Ala Phe Gly Ser Pro Ile Thr Glu Lys Asp Ala Pro Ala
100 105 110

Leu His Lys Leu Leu Thr Asn Met Ile Glu Asp Ala Gly Asp Leu Ala
115 120 125

Thr Arg Ser Ala Lys Asp His Tyr Met Arg Ile Arg Pro Phe Ala Phe
130 135 140

Tyr Gly Val Ser Thr Cys Asn Thr Thr Glu Gln Asp Lys Leu Ser Lys
145 150 155 160

Asn Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ser Ile Gly Trp Ala Thr Ala
165 170 175

Leu Val Leu Ala Glu Ile Asn Pro Gln Arg Gln Asn Glu Ile Leu Lys
180 185 190

Arg Gly Tyr Glu Leu Gly Gln Ser Arg Val Ile Cys Gly Tyr His Trp
195 200 205

Gln Ser Asp Val Asp Ala Ala Arg Val Val Gly Ser Ala Val Val Ala
210 215 220

Thr Leu His Thr Asn Pro Ala Phe Gln Gln Gln Leu Gln Lys Ala Lys
225 230 235 240

Ala Glu Phe Ala Gln His Gln Lys Lys
245

<210> 22
<211> 249
<212> PRT
<213> 痢疾志贺菌 (Shigella dysenteriae) Sd197

<400> 22

Met Lys Arg Gln Leu Phe Thr Leu Ser Ile Val Gly Val Phe Ser Leu
1 5 10 15

Asn Thr Phe Ala Ser Phe Pro Pro Gly Asn Asp Val Thr Thr Lys Pro
20 25 30

[0021]

Asp Leu Tyr Tyr Leu Thr Asn Asp Asn Ala Ile Asp Ser Leu Ala Leu
 35 40 45

Leu Pro Pro Pro Pro Gln Ile Gly Ser Ile Ala Phe Leu Asn Asp Gln
 50 55 60

Ala Met Tyr Glu Lys Gly Leu Leu Leu Arg Asn Thr Glu Arg Gly Lys
 65 70 75 80

Leu Ala Ala Glu Asp Ala Asn Leu Ser Ser Gly Gly Val Ala Asn Val
 85 90 95

Phe Ser Ala Ala Phe Gly Ser Pro Ile Thr Ala Lys Asp Ser Pro Glu
 100 105 110

Leu His Lys Leu Leu Thr Asn Met Ile Glu Asp Ala Gly Asp Leu Ala
 115 120 125

Thr Arg Ser Ala Lys Glu Tyr Tyr Met Arg Ile Arg Pro Phe Ala Phe
 130 135 140

Tyr Gly Val Ser Thr Cys Asn Thr Lys Glu Gln Asp Thr Leu Ser Arg
 145 150 155 160

Asn Gly Ser Tyr Pro Ser Gly His Thr Ser Ile Gly Trp Ala Thr Ala
 165 170 175

Leu Val Leu Ser Glu Ile Asn Pro Ala Arg Gln Asp Thr Ile Leu Lys
 180 185 190

Arg Gly Tyr Glu Leu Gly Asp Ser Arg Val Ile Cys Gly Tyr His Trp
 195 200 205

Gln Ser Asp Val Asp Ala Ala Arg Ile Val Gly Ser Ala Ile Val Ala
 210 215 220

Thr Leu His Ser Asn Pro Val Phe Gln Ala Gln Leu Gln Lys Ala Lys
 225 230 235 240

Asp Glu Phe Ala Asn Asn Gln Lys Lys
 245

<210> 23
 <211> 2750
 <212> DNA
 <213> 肠沙门氏菌肠亚种肠炎血清型变种 (Salmonella enterica enterica serovar Enteritidis)

<400> 23
 cgaaacctg aacctgcgta tcaaacccgc cgagcgcgat cttattgatc gagcggcga 60
 agccagaggg aaaaaccgca ctgactttgt gctggaagct gcccgctctg ccgccgagga 120
 agcgtgatc gaacaacgca tcattatgac cgatccagag gcttatcagg agtttctcgt 180
 tegtttggat caaacacctt cacctaagtc cgcaactcgt aaaaccatgc agaccctgc 240
 gccgtgggag caggaaaaat gatctcacc cctgagccgc ttcattgccg acatattctt 300
 actccgtttt gctgcggtgt ggattetata gataactgce tgaacacagc ggcgatgaaa 360
 aatcagacca ctggcgcgtc ccgtaccttt gtgtgtttgt gcagcgattc gaacgtactg 420

[0022]

gctattact cgcctggcgtc cagcgcggtc acgacgaata cctcccccg tgcctttcgt	480
cgcfaatatgc ctgaccgat tccggttgtg gtattggggc gctctggcggg ggataaatcg	540
cttcatgggc agggcgtcgc tcgggcgctg gtacgcgacg cagggetgcg ggttattcag	600
gtggcggaga ctatcggcat tcgtgggatg ctggttcacg ccctgtcggg tgaagcgcgg	660
gaatthttatc agcgggtggg gtttgtaccg tcgccgatgg atccgatgat gttgatggg	720
acgttggggg atttgggtga gagtgtttaa actccagaac gcatccctta gcttctgatg	780
gccggaattc gctgtggata gtcagtgagc cagaccggtt ttaccgcttc agccggacaa	840
cgacgtcatg acggtctgga cggactgcaa acgggggaag gggcgttga attcatcgca	900
atcggggaaa ccaaaggcat tctccacgcc cggccgctcc tacgcagttg cacttccctt	960
catttctgtg ggccagtttg cgggaagact ttcaccttca gtaattaagt tcggggtgat	1020
cttctttact caataaatta ttttctcgtc tcagctcttc accgactttt gccagtgact	1080
tcgaaaatgc cgggallgtl tgcagctctg caaacctlac tgcctccaca taacgaccag	1140
catcaacatc gctttgccag tgagcaccgc atatacctct gctttgcccg aactcccatc	1200
ctcgtctggc gagctctcgc gcgcgttccg gctctggcctc ggataaactc aatgccagaa	1260
gtgtaccata agcagtatgc ccggaagggt aagagccatc ttttcgaaa gtattctcat	1320
cttcaggacg gcaggtggaa tgattaaata agacaaaggg acgagtgcgc atataatatt	1380
tttttgcga agcagtagcg tagtagccgc ccattgtcag aagattctgt aacatattcc	1440
aggttctcgg cgtatctttg ggattaattt tagcaccac tactggcagc aatattctgg	1500
ctatattttc cagccttaca tctgcatcct cagcagcttg ttccatcgc ggggaactct	1560
ttatcgcata gcccttaaaa taagcctctc tatcatagcg gaaagccgga tcatcattac	1620
ctggcgggtg tggtaaagtag aactgactgt tcaactgattc ttcaggagaa tgaagggtt	1680
gcaactgttc tgctgatgta tatttagcta cgatcagtgg tagaaaaat actaaataac	1740
gacttttcat aaagactcac tccggatcag gcaataataa acagatgtaa tctataatg	1800
atttattgca atggttattc aacatacagg taaaaaagca ggacgctgca ctggattat	1860
tgctgtcca taccgactg actgtagcgg acaacagAAC aataccggtc ctcccgcta	1920
acagcatttt gtttaaattt tctccccggg tgttttttat ctgcgtgctc gactgacacg	1980
cattaggtta aaatctttcc gtaataacaa actatgaata agtattttta agtatgtgct	2040
ctgttaccce ggtaactacc atcagtcatg atgtgctgag tattaattta tgattatgaa	2100
caagagtcgg aaacagtatt taagaataaa gaagccgaca aagaaaaat gccaaaactg	2160
gcgaagggat tallgtlltc agtgalgaaa aagttcatgg cggagalatl ggactcactl	2220
gtcgggggta gcgaaccgtc agatgaagtg ataggcggtta ttactggtaa taatctccct	2280
gtagctaagt aagcttttga ccctagccca aaggtagcgc gctgatcgac gaagcgtgg	2340
gcgttgcgcc agagaaaatc tggccttctc gttatagcta gtcagaccag agatgggggc	2400
tacggatttc cattccaga aaagcaaaaa cccagccata ggctggattt tctgaataag	2460
tggtgccccg actcggaaatc gaaccaagga cacggggatt ttcaatcccc tgetctaccg	2520
actgagetat ccgggcaacg gggcgcatta aaccgtaaag gggcgcggte gteaaccgct	2580
ttacacgaaa aaagtataa aagcgcctg actgcctgct tttcaggcaa aatgcataaa	2640
atcagtaccg gtcaggtgag cgcgccaccg tgacggcact gtcaaaaac cagaatatct	2700

[0023]

```

tccgccaacc getgagcgggt atctacatca gcctgactgc ggttgaccag          2750

<210> 24
<211> 2750
<212> DNA
<213> 肠沙门氏菌肠炎种都柏林血清型变种 (Salmonella enterica enterica serovar Dublin)

<400> 24
cgaaaacctg aacctgcgta tcaaaccegc egagecggat cttattgate gagcgcgaa    60
agccagaggg aaaaaccgca ctgactttgt gctggaagcc gcccgctctg ccgccgagga    120
agcgcctgac gaacaacgca tcattatgac cgateccagag gcctatcagg aatttctggc    180
tcgtttggat caaacacctt cacctaattc cgcactcgtt aaaacctgc agaccctctc    240
gccgtgggag caggaaaaat gatctcctcc cctgagccgc ttcattgccg acatattctt    300
actccgtttt gctgcgggtg ggattctatg gataactggc tgaacacgag gccgatgaaa    360
aatcagacca ctggctgcgc ccgtaccttt gtgtgtttgt gcagcgattc gagcgtactg    420
gcctattact cgtcggcgtc cagcgcggtc acgacgaata ccgccccggg tcgctttcgt    480
cgcaaatatg ctgacctgat tccgattgtg gtattggggc gtctggcggg ggataaatcg    540
cttcatgggc agggcgcttg tggggcgtg gtaccgcagc caggcctgag ggttattcaa    600
gtggcggaga ctatcgcat tctgtggatg ctggttcacg cctgtctgga tgaagcggcg    660
gaattttatc agcgggtggg gtttgtaccg tcgccgatgg atccgatgat gttgatggtg    720
acgttggggg atttgggtga gactgtttaa actccagaac gcaccctta gcttctgatg    780
gccggaattc gctgtggata gtcagtgcgc cagaccggtt ttaccgcttc agccggacaa    840
cgacgtcatg acggtctgga cggactgcaa acgggggaag ggggcgttga attcatcga    900
alcggggaaa ccaaaggcat tcaccacgcc cggccgctcc tacgcagttg cacttccctt    960
catttctgtg ggccagtttg cgggaagact ttcacctca gtaattaagt tcggggtgat   1020
cttcttactc caataaatta tttttgtcgt tcagctctcc accgaacttt gccagtgact   1080
tctgaaatgc cgggattgtt tgcagtcttg caaactctac tctctccaca taacgaccag   1140
catcaacatc gctttgccag tgagcaccgc atatactctt gctttgcccg aactcccatc   1200
ctcgtctggc gagctcctgc gcgcgttccg gtctggcctc ggataaactc aatgccagaa   1260
gtgtaccata agcagtatgc ccggaagggt aagagccatc ttttcgaaa gtatttctat   1320
cttcaggacg gcagggtgaa tgattaataa agacaaaggc acgagtgcgc atataatatt   1380
tttttgccga agcagtageg tagtagccgc ccattgtcag aagattctgt aacatattcc   1440
aggtttctgg cgtatctttg ggattaattt tagcaccacc tactggcagc aatattcttg   1500
ctatattttc cacgcttaca tctgcatcct cagcagcttg tttccatcgc ggggaacctc   1560
ttatgcata  gcccttaaaa taagctcctt tatcatageg gaaagccgga tcatcattac   1620
ctggcgggtg tggtaaagtag aactgactgt tcaactgatt ttcaggagaa tgaagggtt   1680
gcactgtttc tgctgatgta tatttagcta cgatecagtg tagaaaaat actaaataac   1740
gacttttcat aaagactcac tccgatcagc gcaataataa acagatgtaa tctataatg   1800
atattattga atggttattc aacatacagg taaaaaagca ggacgctgca ctggtattat   1860
tgtctgtcca taccggactg actgtagcgg acaacagaac aataccggtc ctccggcta   1920
acagcatttt gtttaaatth tctccccggt tgttttttat ctgcgtgcct gactgacacg   1980
cattagttta aaatctttcc gtaataacaa actatgaata agtattttta agtatgtgct   2040

```

[0024]

ctgttacccc ggtaactacc atcagtcacg atgtgetgag tattaattta tgattatgaa 2100
 caagagtcgg aaacagtatt taagaataaa gaagccgaca aagaaaaat gccaaaactg 2160
 gcgaagggat tattgttttc agtgatgaaa aagttcatgg cggagatatt ggactcactt 2220
 gtcggggtta gcgaaccgtc agatgaagtg ataggcgta ttactggtaa taatctccct 2280
 gtagctaagt aagcttttga ccctagccca aaggtgagcg gctgatcgac gaagcgtctg 2340
 gcgttgccgc agagaaaatc tggccttctc gttatagcta gtcagaccag agatgggggc 2400
 tacggatttc cattcccaga aaagcaaaaa cccagccata ggctggggtt tctgaataag 2460
 tggtgcccgg actcggaaac gaaccaagga cacggggatt ttcaatcccc tgctctaccg 2520
 actgagctat cggggcaacg gggcgcatta aaccgtaaag gggcgcggtc gtcaacggct 2580
 ttacacgaaa aaagtataa aagcgcgctg actgcctgct tttcaggcaa aatgcataaa 2640
 atcagtaccc gtcaggtgag cgcgccacc tgacggcact gtgcaaacg cagaatatct 2700
 tccccaacc gctgagcggg atctacatca gcctgactgc ggttgaccag 2750

<210> 25

<211> 2750

<212> DNA

<213> 肠沙门氏菌肠亚种鸡血清型变种 (*Salmonella enterica enterica* serovar Gallinarum)

<400> 25

cgaaacctg aacctgcgta tcaaaccgcg cgagcgcgat cttattgacg gagcggcgaa 60
 agccagaggg aaaaaccgca ctgactttgt gctggaagct gccctgctg cgcgcgagga 120
 agcctgacg gaacaacgca tcattatgce gatccagag gcttatcagg agtttctcgt 180
 tcgtttggat caaacacctt cacctaattgc cgcactgcgt aaaacctgc agaccctgc 240
 gccgtgggag caggaaaaat gatctccacc cctgagccgc ttcctgccc acatattctt 300
 actccgtttt gctgcggtgt ggattctata gataactggc tgaacagcgg ggcatgaaa 360
 aatcagacca ctggcgcgtc ccgtacctt gtgtgtgtg gcagcgattc gaacgtactg 420
 gcctattact cgctggcgtc cagcgcggtc acgacgaata cctccccgg tcgctttcgt 480
 cgcaaatatgc ctgaccgat tccggttgtg gtattgggce gcttgccggt ggataaatcg 540
 cttcatgggc agggcgtcgc tcgggcgctg gtacgcgacg caggcctgcg ggttattcag 600
 gtggcggaga ctatcgccat tcgtgggatg ctgggtcag cctgtcggga tgaagcgcgg 660
 gaattttatc agcgggtggg gtttgtaccg tcgccgatgg atccgatgat gttgatggtg 720
 acgttggggg atttgggtga gagtgtttaa actccagaac gcacccctta gcttctgatg 780
 gccggaattc gctgtggata gtcagtgagc cagaccggtt ttaccgcttc agccggacaa 840
 cgacgtcatg acggtctgga cggactgcaa acgggggaag gggcggtga atcatgcga 900
 atcggggaaa ccaaagcat tctccacgcc cggcgcctcc tacgcagttg cacttcctt 960
 catttctgtg ggccagttg cgggaagact ttcacctca gtaattaagt tcggggtgat 1020
 cttctttact caataaatta tttttgctg tcagctctc acggactttt gccagtact 1080
 tctgaaatgc cgggattgtt tgccgtctt caaactctac tgctcccaca taacgaccag 1140
 catcaacatc gctttgccag tgagcaccgc atataactct gctttgcccg aactccatc 1200
 ctgctctgce gagctctgc gcgcgttccg gctctgctc ggataaact aatgccagaa 1260
 gtgtaccata agcagtatgc ccggaagggt aagagccatc ttttcgcaa gtattctcat 1320

[0025]

cttcaggacg gcaggtggaa tgattaata agacaaaggg acgagtgcgc atataatatt 1380
 tttttgccga agcaatageg tagtagcege ccattgtcag aagattctgt aacatatcc 1440
 aggtttctgg cgtatctttg ggattaatit tagcaccac tactggcgag aatattctgg 1500
 ctatattttc cacgcttaca tctgcatcct cagcagcttg ttccatcgc ggggaacct 1560
 ttatcgata gcccttaaaa taagctcct tatcatagec gaaagecga tcatcattac 1620
 ctggcggtgg tggtaagtag aactgactgt tcaactgattc ttcaggagaa tgaagggtt 1680
 gcactgtttc tgctgatgta tatttagcta cgatcagtgg tagaaaaat actaaataac 1740
 gacttttcat aaagactcac tccgatcag gcaataata acagatgtaa tctataatg 1800
 atttattgca atggttattc aatatacagg taaaaagca ggacgctgca ctggtattat 1860
 tgtctgtcca taccgactg actgtagegg acaacagaa aataccgta ctccggcta 1920
 acagcatttt gtttaaatit tctcccggg tgtttttat ctgctgect gactgacacg 1980
 cattaggtta aaatctttc gtaataaca actatgaata agtatttta agtatgtct 2040
 ctgttaccac ggtaactacc atcagtcag atgtgctgag tattaattta tgattatgaa 2100
 caagagtcgg aaacagtatt taagaataa gaagccgaca aagaaaaat gccaaaactg 2160
 gcgaagggat tattgtttc agtgatgaaa aagttcatgg cggagatatt ggactcactt 2220
 gtcgggggta gcgaaccgtc agatgaagt atagcggtta ttactggtta taatctcct 2280
 gtagetaagt aagcttttga ccttagccca aagtgagcg gctgatcagc gaagcgtgg 2340
 gcgttgccc agagaaaatc tggecttctc gttatagcta gtcagaccag agatgggggc 2400
 tacggatttc cattcccaga aaagcaaaaa cccagccata ggctgggttt tctgaataag 2460
 tgggtcccgg actcggaaatc gaaccaagga cacggggatt tcaatcccc tgetctaccg 2520
 actgagctat ccgggcaacg gggcgatta aaccgtaaag gggcgggctc gtaacggct 2580
 ttacacgaaa aaagtataa aagcgcctg actgcctgct tttcaggcaa aatgataaa 2640
 atcagtacc gtcaggtgag cgcgccacc tgacggcact gtcaaaacg cagaatatct 2700
 tccccaacc gctgagcggg atctacatca gctgactgc ggttgaccag 2750

<210> 26

<211> 2608

<212> DNA

<213> 肠沙门氏菌肠亚种伤寒血清型变种 (Salmonella enterica enterica serovar Typhimurium)

<400> 26

cgaaacctg aacctgcgta tcaaaccgc egagcgcgat cttatcgatc gagcggcgaa 60
 agccagaggg aaaaaccgca cagactttgt gctggaagct gccgcgctg ccgagagga 120
 agegettatc gaacaacgca teattatgce gatccagag gcttatcagg agttctcgt 180
 tegtgtgat caaacactt cacctaatge cgcactgctg aaaaccatgc agaccctgc 240
 gccgtgggag caggaaaaat gatctccacc cctgagcgc ttcattgccg acatattctt 300
 actccgtttt gctgcggtgt ggattctata gataactgga tggaacagcg ggcgatgaaa 360
 aatcagacca ctggcgcgct ccgtacctt gtgtgtgtg gcagcattc gaacgtactg 420
 gcctattact cgctggcgtc cagcgcgctc acgacgaata cctccccgg tcgcttctg 480
 cgcaatatgc ctgaccgat tccggtgtg gtattggggc gtctggcggg ggataaatcg 540
 ctctatgggc agggcgtcgc tgggcgctg gtacgcgac caggcctgcg ggtattcag 600
 gtggcggaga ctatcggcat tegtgggatg ctggttcacg ccctgtcggg tgaagcgcgg 660

[0026]

gaattttacc	agcgggtggg	gtttgtaccg	tcgccgatgg	atccgatgat	gttgatggtg	720
acgttggggg	atttgggtga	gagtgtttaa	actccagaac	geatccctta	gcttctgatg	780
gccggaattc	gctgtggata	gtcagtgagc	cagaccggtt	ttaccgcttc	agccggacaa	840
cgacgtcatg	acggtctgga	cgactgcaa	acgggggaag	ggggcgttga	attcatgcga	900
atcggggaaa	ccaaaggcat	tctccacgcc	cgccgccecc	tacgcagttg	cacttccttt	960
catttgctgt	ggccagtttg	cggaagact	ttcaccttca	gtaattaagt	ttgggtgat	1020
cttctttact	caataaatta	ttttgtcgt	tcagctctc	acggactttt	gccagtgact	1080
tctgaaaagc	cggtattgtt	tgcagcttg	caaactctac	tgtcccaca	taacggccag	1140
catcaacatc	gctttgccag	tgagcacgc	atatactct	gctttgccg	aactccatc	1200
cgctctggc	gagctctgc	gcgcgttccg	gtctggcctc	ggataatact	aatgccagaa	1260
gtgtaccata	agcagtatgc	ccggaagggt	aagagccatt	ttttcga	gtattctcat	1320
cttcaggacg	gcaggtgaa	tgattaata	agacaaagg	gcgggtacgc	atataatatt	1380
tttttccga	agcagtagcg	tagtagccgc	ccattgtcag	aagattcttt	aacatattcc	1440
aggtttctgg	cgtatctttg	gggttaattt	tagcaccac	tactggcgag	aatattctgg	1500
ctatatttcc	cacgcttaca	tctgcatcct	cagcagcttg	tttccatgc	ggggaaccct	1560
ttatcgcata	gcccttaaaa	taagcctcct	tatcatagcg	gtaagccgga	tcatcattac	1620
ctggcgggtg	tggtaagtag	aactgactgt	tactgattc	ttcaggagaa	tgaagggtt	1680
gcactgtttc	tgtgatgta	tatttagcta	cgatcagtg	tagaaaaat	actaaataac	1740
gacttttcat	aaagactcac	tccgatcag	gcaataata	acagatgtaa	tcctataatg	1800
atttattgca	atggttattc	aacatacagg	taaaaaagca	ggacgtgcc	ctggcattat	1860
cgctgtcca	taccggactg	actgcagcgg	acaacagaac	aataccggta	cttccggcta	1920
acagcatttt	gtttaacttt	tgtccccgat	tattttttat	ctactgcct	gactgacacg	1980
cattaggtta	aaatctttcc	gtaataacac	agtatgaata	attattttaa	agtatgtgct	2040
ctgttacc	gataactacc	atcagtcag	atgtgctgag	tattaattta	tgattatgaa	2100
caagagtcgg	aaacagtatt	taagaataaa	gaaaccgaaa	aagaaaaaat	gctaaaattg	2160
gcgaagggat	tattgttate	agtgatgaaa	aagttcatgg	cggagatatt	ggattcactt	2220
gtcgggtta	gcgaaccgtc	agatggagtg	atacgcgta	ttactggtaa	taatctcct	2280
gtagctaagt	aagctttcct	gacagcgtg	ataaaagttc	cgccgataa	aaaggcttgt	2340
acctggcatt	ataagactcg	cgctctgcag	aaacaggca	gggaaggcct	cgccggtttt	2400
aatcaggtat	atctgttaaa	tcacatcctt	caactggagc	agcctttggt	ttaaccttcc	2460
tctcatcggg	ccggaatgct	tcgctgcgt	tgatgtagca	gaaaccggag	aatcacgcc	2520
atccgatttc	ttgcaaatat	caggcgcaaa	aaaacagact	tgcgctaaca	agtcgttct	2580
ttaagagcct	ttcttttaac	aacaagta				2608

<210> 27

<211> 2750

<212> DNA

<213> 肠沙门氏菌肠亚种霍乱血清型变种 (*Salmonella enterica enterica* serovar Choleraesuis)

<400> 27

attcagctgc gttttagtg tagatgtag atggtcttgc ggatatccg cggataactg 60

[0027]

aagagcgtat tgaggttttc ccagtgccga cgccagcttt tgcctgattg cggatatttc	120
gggaagacgc tgtttategc atccgggaag cccttcagac cgtccacaca ggeaatcagg	180
atgtcctgaa ggccccgctt tttcagctcc gtcagcacgc ttagccagaa ctttgtcct	240
tcatttccgg acagccacat gccggcaacg ctttctgacc ttcggattg atccccagcg	300
caggaaaaac tgctttgttt atcacactgc cattctgatg aactttgaca acatacagtc	360
catataaaca aaggatatac gcgtatccat ttgtcggttt tgccactcaa tgacctgctc	420
ttttacggcg tcggtgactt tataatatcag cgtgggcgac acatcggagt cgtacatttc	480
tttgaagggt gcaacgattt cgcggatagt catgcctttg gcgcagaggg ataaaaatcg	540
gctgtccatc tgcgtaatgc gcgtctggtg cttcttaate agctgtgggt cgaaggattt	600
ttcacggtea cgcggcgtgt tcagttcgat ctgcctgtta ttgcataaca ccgtttttga	660
cgagtagcca ttgcgggtgt ttgagcctgt tttgggcgca tttttctcat acccgggggtg	720
gtcagccagc tccgcatlga gcgcgtlctc gacgglagc ttcgtcaaca tgcgggaaaa	780
agcatggaga tcggtttcgg ttttaaggcc ttcagccact tcagccgcaa gggctttaag	840
tttctttteg tcataattg cctgtctctg ttgttggagt gaacatatca aaaacagcca	900
cctacacaat ttttaattaca gtetaacgcc cggtcacccc taagcagttg caattccttt	960
catttgtgtg gccagtttg cgggaagact ttcacctca gtaattaagt ttgggatgat	1020
cttctttact caataaatta tttttgtcgt tcagctcctc acggactttt gccagtgact	1080
ctgaaaagc cgggattggt tgcagctctg caaactctac tgcctccaca taacggccag	1140
catcaacatc gctttgcag tgagcaccgc atatactct gctttgcccg aactcccatc	1200
ctcgtctggc gagctcctgc gcgcgttccg gtctggcctc ggataatact aatgccagaa	1260
gtgtaccata agcagtatgc ccggaagggt aagagccatc ttttcgcaaa gtattctcat	1320
cttcaggacg gcaggtagaa tgattaaata agacaaaggg acgagtacgc atataatatt	1380
tttttccga agcagtcgag tagtagccgc ccattgtcag aagattcttt aacatattcc	1440
aggtttctgg cgtatctttg gggtaattt tagcacccac tactggcgag aatattctgg	1500
ctatattttc cacgcttaca tctgcatcct cagcagcttg tttccatcgt ggggaacct	1560
ttatcgcata gcccttaaaa taagcctcct tatcatagag gaaagccgga tcatcattac	1620
ctggcggtgg tggtaagtag aactgactgt tcaactgattc ttcaggagaa tgaagggtt	1680
gcactgttgc tgcctgatgta tatttagcta cgatecagtg tagaaaaaat agtaaataac	1740
gacttttcat aaagactcgc tccgatcag acaataataa acagatgtaa tccataatg	1800
atllallgca atggllaltc aacalacagg laaaaaagca ggacgtlca ctggtallat	1860
tgtctgtcca taccgactg actgcagcgg acaacagAAC aataccggtc ctccggcta	1920
acagcatttt gtttaatttt tctcccgggt tattttttat ctgcctgcct gactgacacg	1980
cattaggtta aaatgtttcc gtaatagcaa actatgaata agtattttta agtatgtgct	2040
ctgttaccce ggtaactacc atcagtcatg atgtgctgag tattaattta tgattatgaa	2100
caagagtcgg aaacagtatt taagaataaa gaagccgaca aagaaaaaat gccaaaactg	2160
gcgaaggat tattgttttc agtgatgaaa aagttcatgg tggagatatt ggactcactt	2220
gtcggggtta gcaaacctc agatgaagt ataggcgta ttactggtaa taatctccct	2280
gtagctaagt aagcttttga ccctggccca aaggggaaaa gctgacgcc gaagcgtgg	2340

[0028]

gcgttgcgcc agagaaaatc tggccttctc gttatagcta gtcagaccag agatgggggc	2400
taeggatttc cattcccaga aaagcaaaaa cccagccata ggetgggttt tctgaataag	2460
tgggtcccgg actcggaate gaaccaagga cacggggatt tteaatcccc tgctetaccg	2520
actgagctat cgggcaacg gggcgatta aaccgtaaag gggcgggctc gtcaacgget	2580
ttacacgaaa aaagtgataa aagcgcctg actgcctgct ttcaggcaa aatgcataaa	2640
atcagtaccg gtcaggtgag cgcgccaccg tgacggcact gtgcaaacg cagaatatct	2700
tccgccaacc getgagcggc atctacatca gcctgactgc ggttgaccag	2750

各种肠沙门氏菌肠亚种的血清型变种之间的Phon的相似性

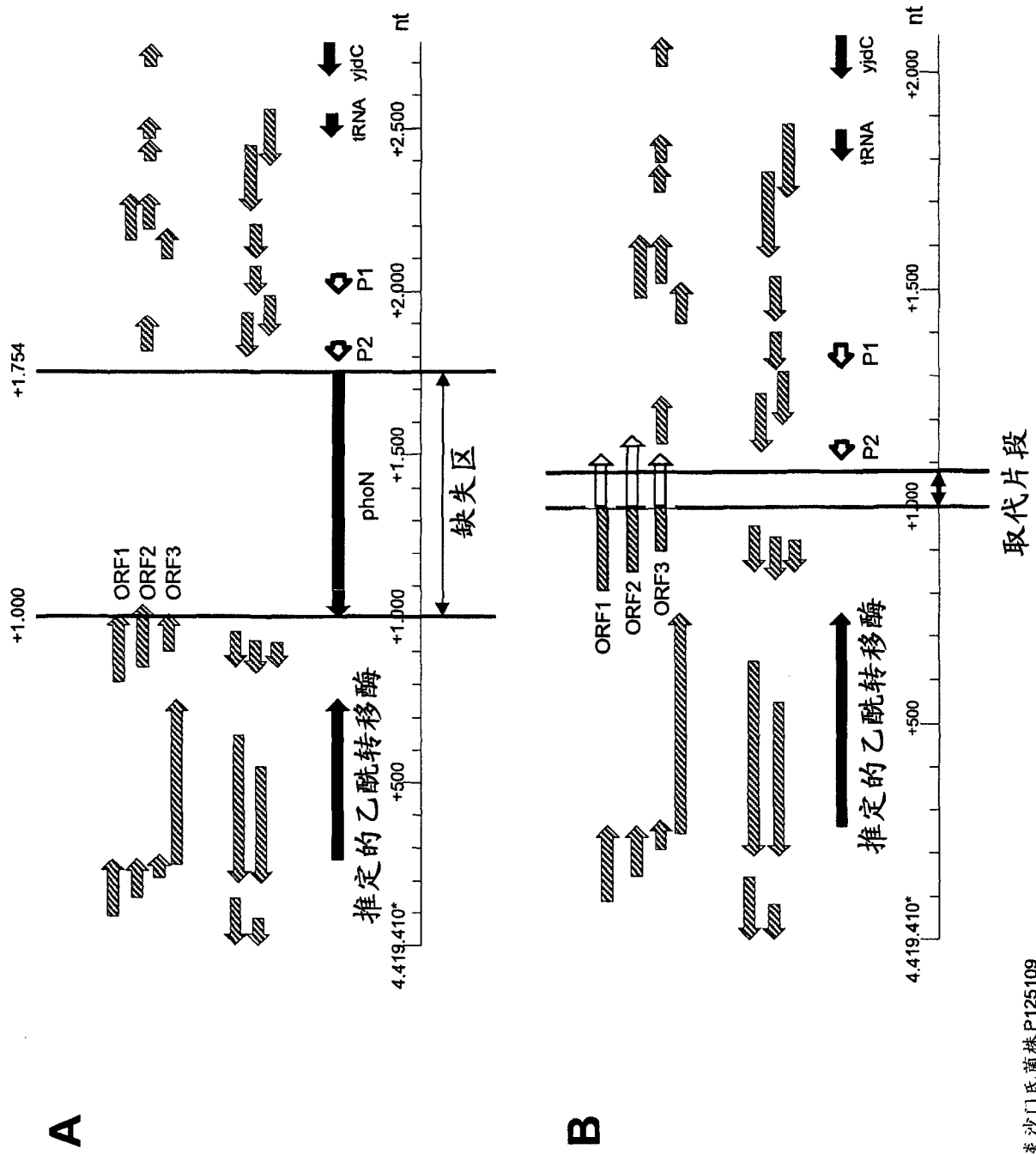
血清型变种

肠系变种 CLAB_SE360	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	150
肠系变种 PI2510	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 CT 0201853	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 287/91	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 L73	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 SL217	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 SL254	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 SC-367	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 SL483	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 RI_05P066	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 SL486	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 CDC 191	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 SAR423	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 SL491	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 HI_N05-537	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 CI_MM04042433	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 SL480	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 SPB7	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 ATCC 9150	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
肠系变种 CT18	MKSRYLFFFLIVAKYTSAEITVOFFHSPESVNSQFLPPFGNDDPAFRYDKEAVFGVAIKSFRKQAEADADYSVENIARIFSPVVGAKINPKDPTETWMLQNLTMGGYATASAKKXCMRTRFVLFVFNHSTCRPEDENTLURK	
非沙门氏菌	MKRCR-I-----A-T-P-----E-NS-----LPPPP-----AF--D--Y--G-----R-K-AAEDA-S-----L-N-----L-N-----AT-SAK--YMR-RPF-----L-K	
埃希氏菌属	MK-----T-A-T-P-----S-----LPPPP-----AF--D--Y--G-----R-K-AAEDA-S-----L-N-----L-N-----AT-SAK--YMR-RPF-----L-K	
痢疾志贺菌 Sg197	MK-----T-A-T-P-----S-----LPPPP-----AF--D--Y--G-----R-K-AAEDA-S-----L-N-----L-N-----AT-SAK--YMR-RPF-----L-K	

血清型变种

肠系变种 CLAB_SE360	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	250
肠系变种 PI2510	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 CT 0201853	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 287/91	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 L73	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 SL217	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 SL254	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 SC-367	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 SL483	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 RI_05P066	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 SL486	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 CDC 191	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 SAR423	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 SL491	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 HI_N05-537	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 CI_MM04042433	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 SL480	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 SPB7	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 ATCC 9150	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
肠系变种 CT18	DGSSYPSGHTAVGTLALVLSSEARPERAQLARRGWFQGSRVICGAHWQSDVDAAGRYVGVAFARLQTTIPAFQKSLAKVREHLNDKNNLLSKEDHPELNY	
非沙门氏菌	NGSYPGSGHT-----ALVLS-----P-R-E-----RG-E-GGSRVICG-HWQSDVDA-R-VG-----A-L-T-PAFO-----L-K-----P-AADAAAAA-----AA	
埃希氏菌属	NGSYPGSGHT-----ALVLS-----P-R-E-----RG-E-GGSRVICG-HWQSDVDA-R-VG-----A-L-T-PAFO-----L-K-----P-AADAAAAA-----AA	
痢疾志贺菌 Sg197	NGSYPGSGHT-----ALVLS-----P-R-E-----RG-E-GGSRVICG-HWQSDVDA-R-VG-----A-L-T-PAFO-----L-K-----P-AADAAAAA-----AA	

图 1



* 肠炎沙门氏菌株P125109
NCBI参照序列NC_011294.1

图 3

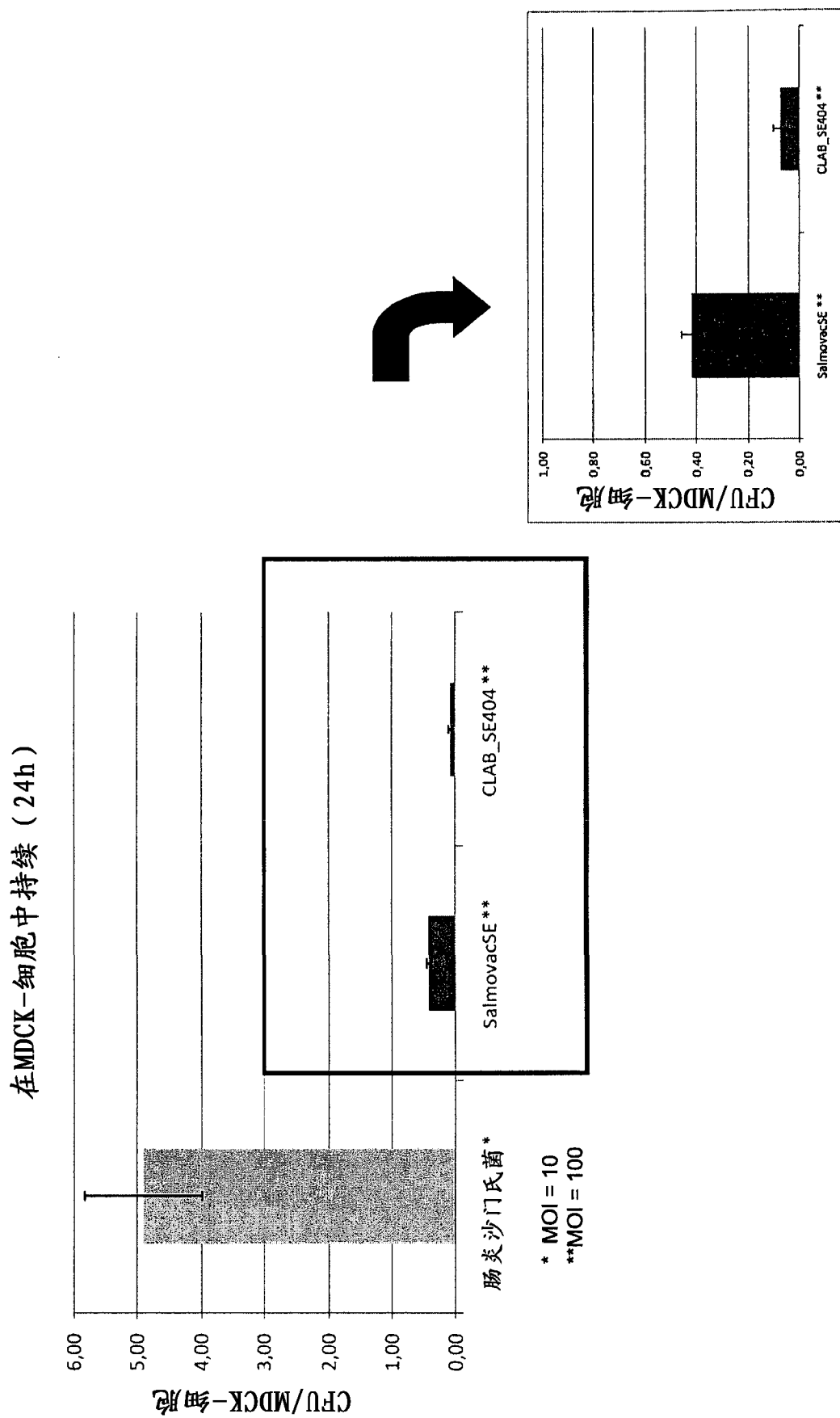
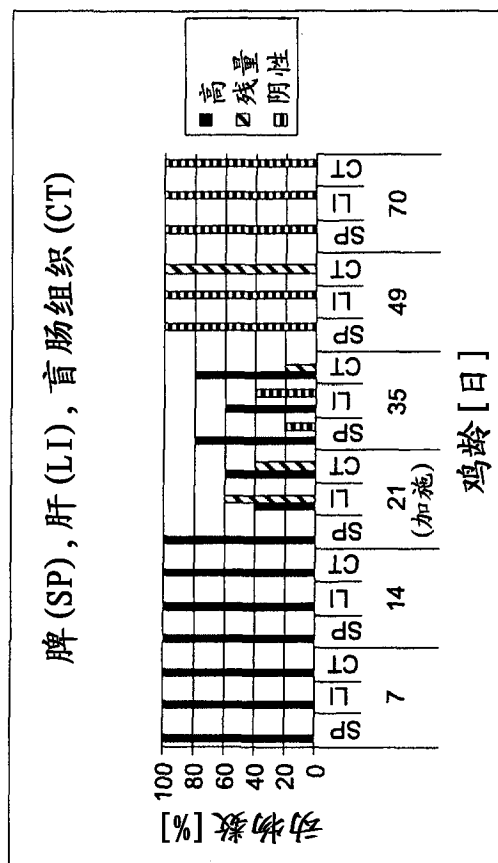


图 5

CLAB SE441



CLAB SE404

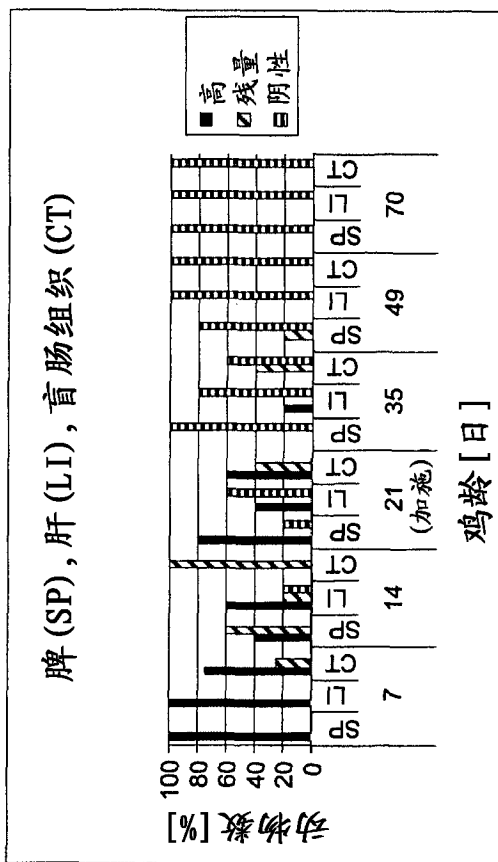
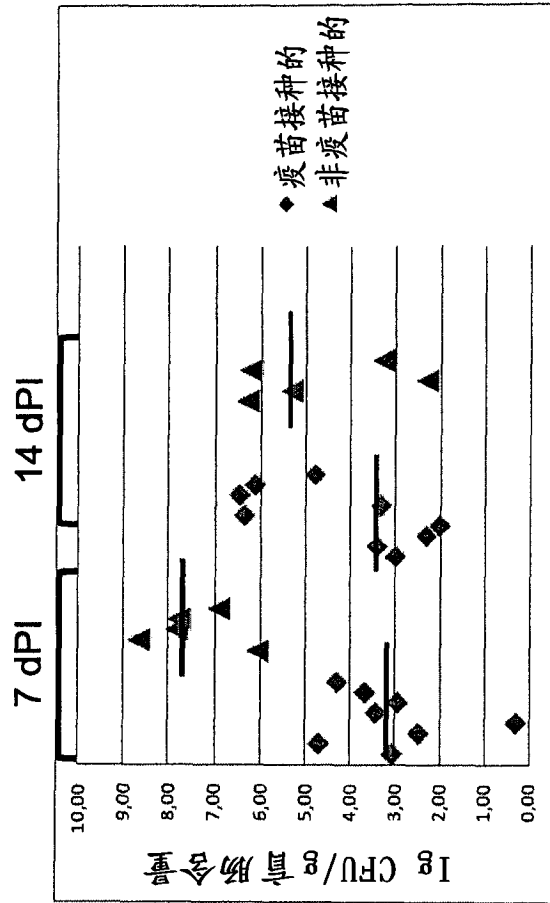


图 6

A

感染后天数		脱落	脾	肝
疫苗接种的	3	1/17		
	5	2/17		
	7	0/17	0/8	0/8
	10	1/9		
	14	2/9	1/9	0/9
非疫苗接种的	3	10/10		
	5	10/10		
	7/8	10/10	5/5	3/5
	10	5/5		
	14/15	5/5	4/5	0/5



B

图 7

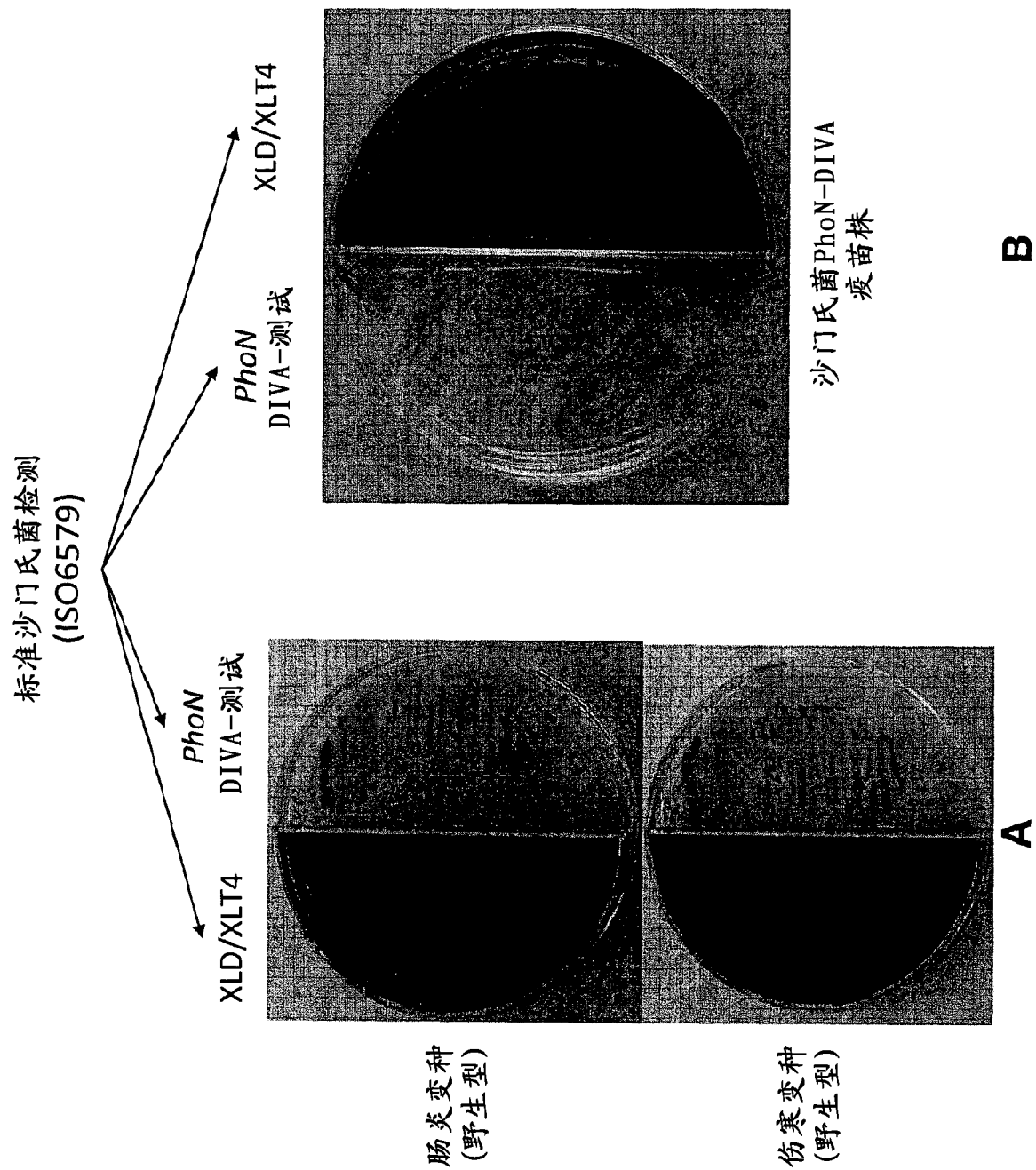


图 8

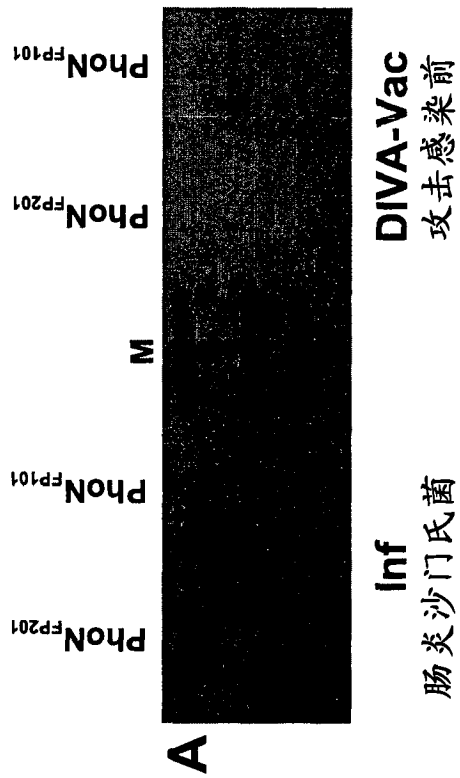
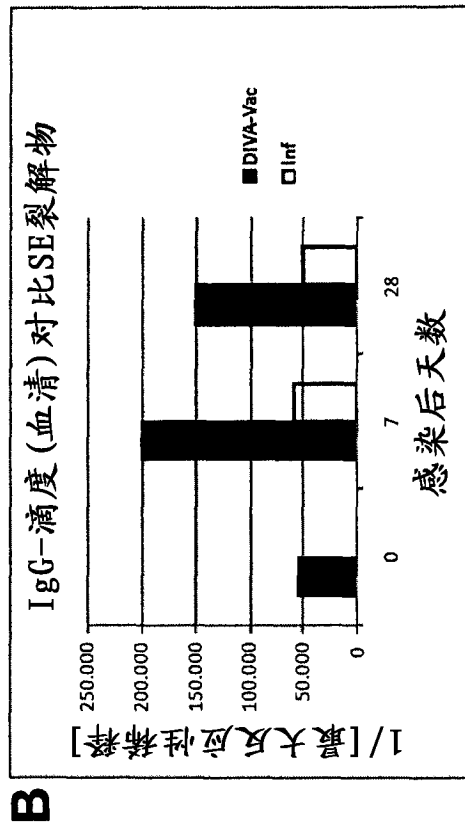


图 6

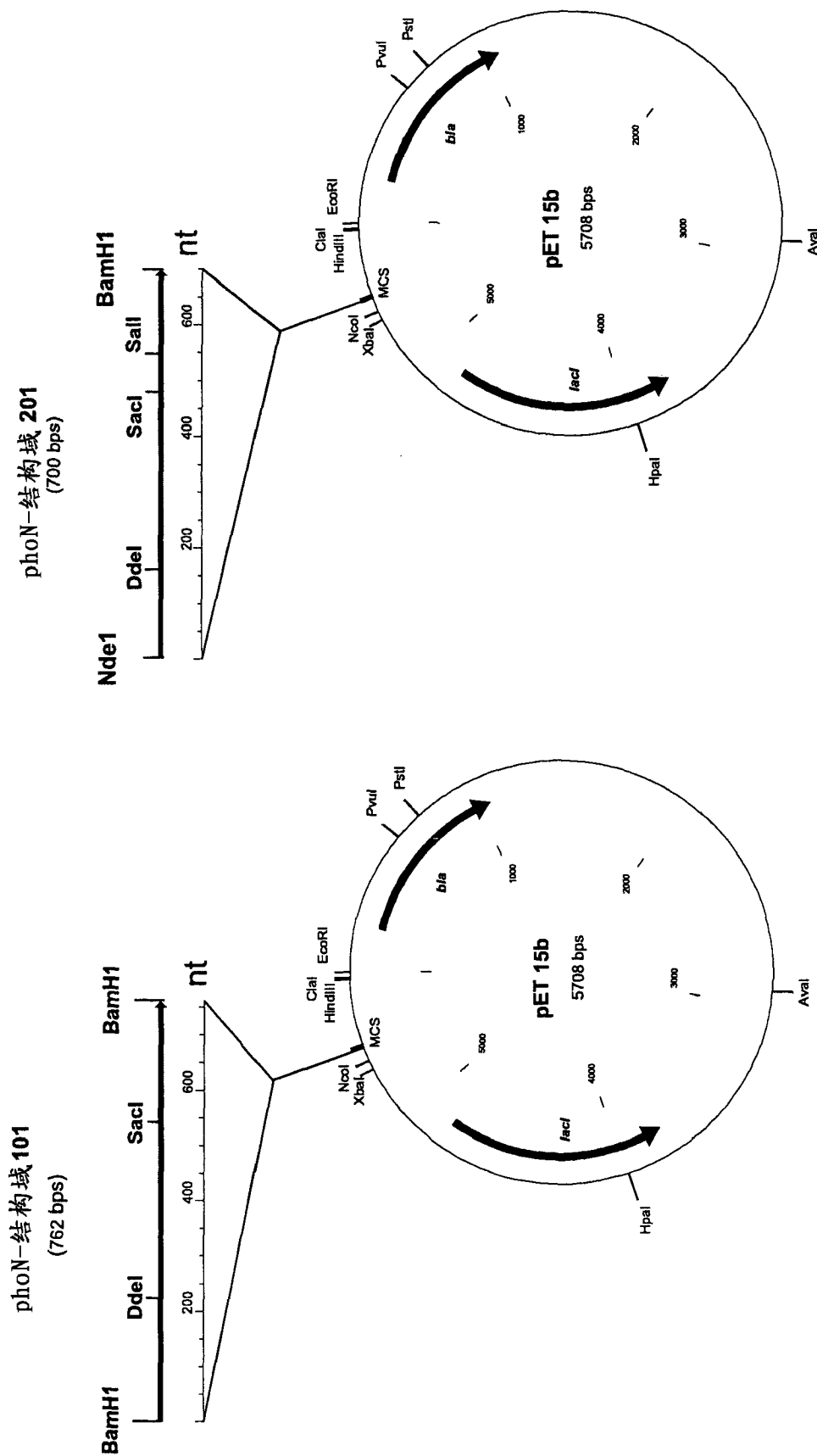


图 10

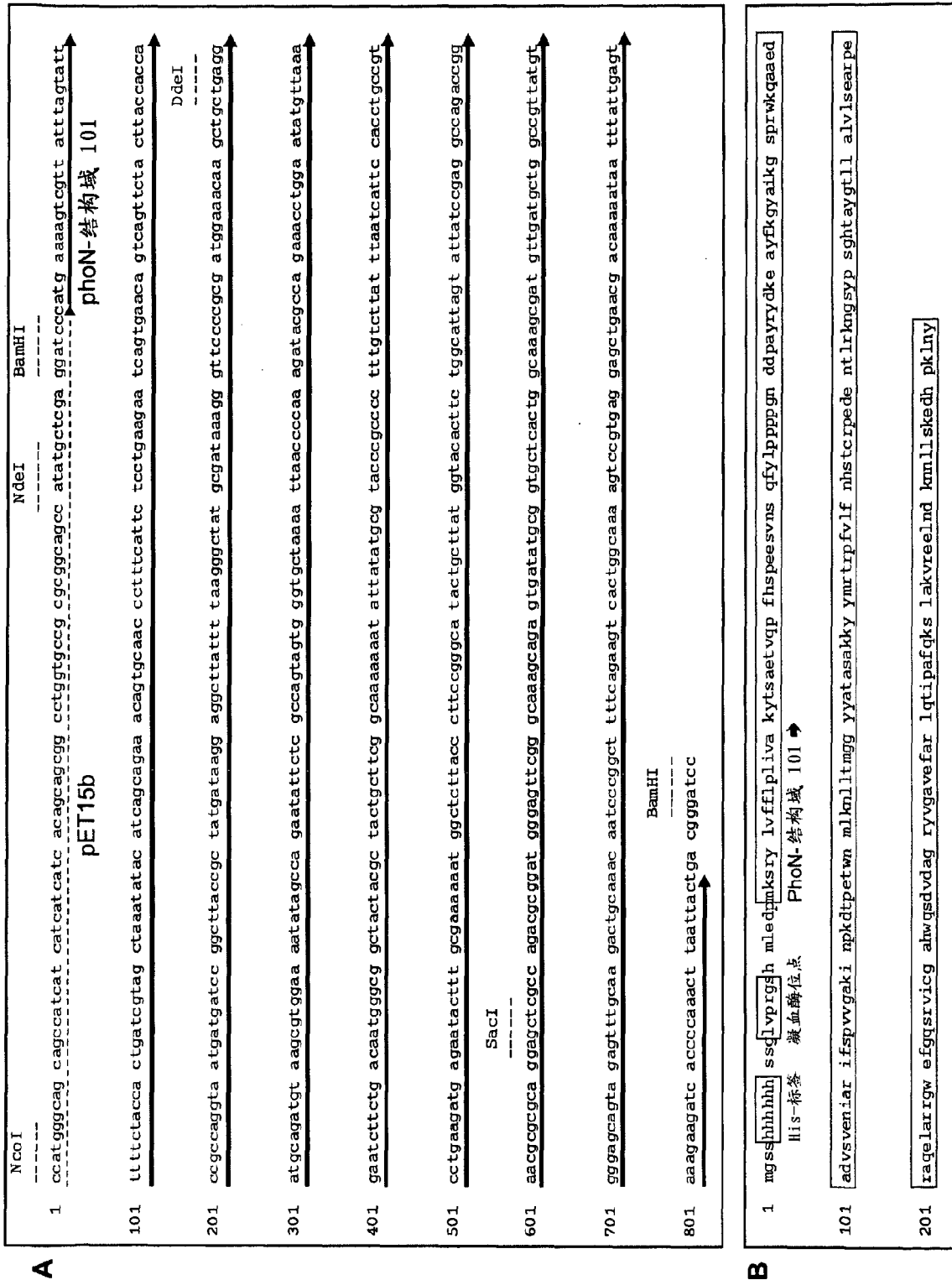


图 11

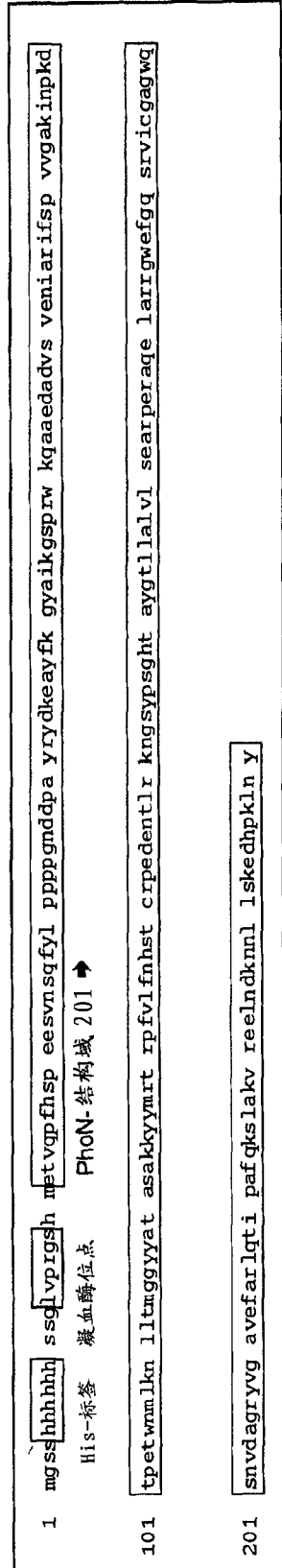
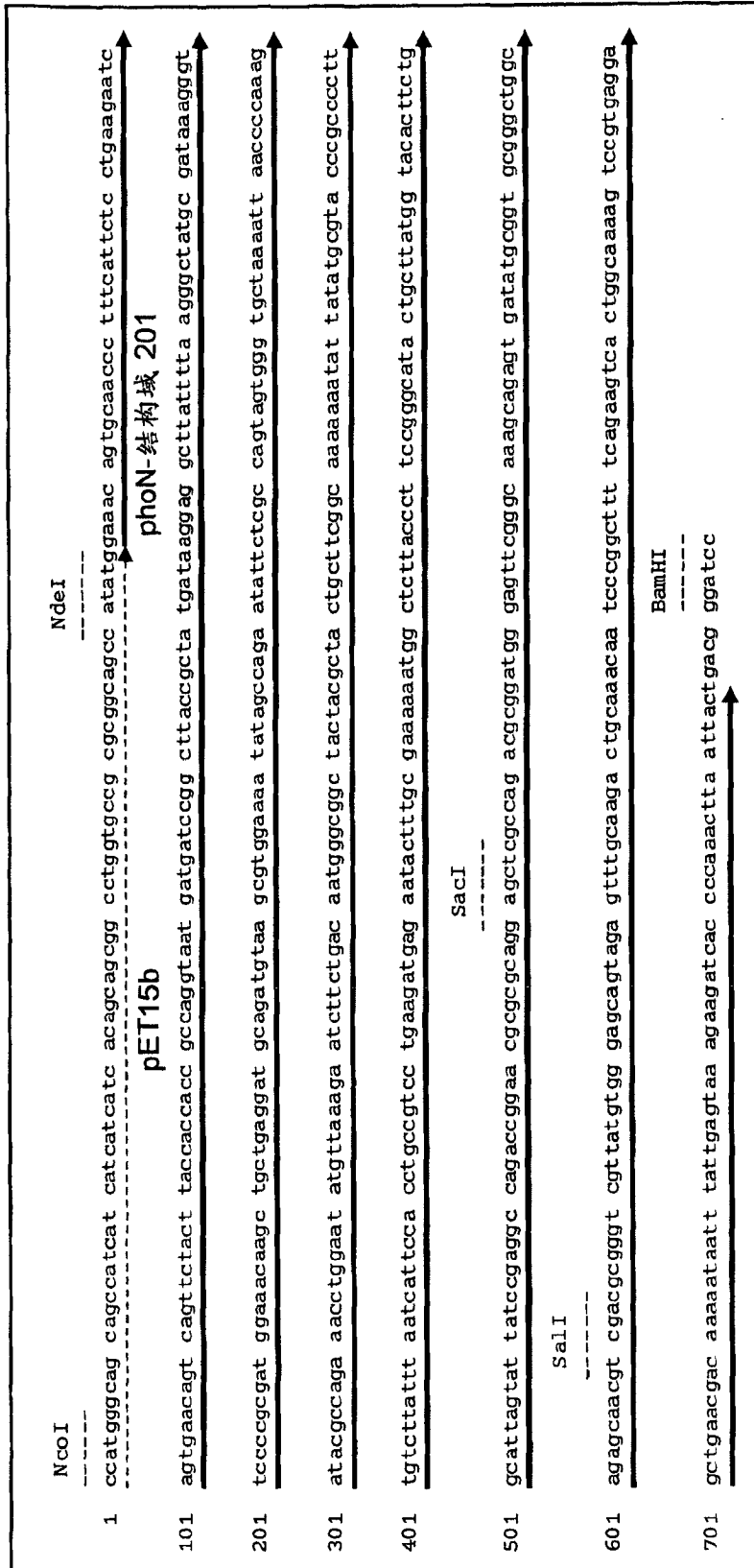


图 12