(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 101703770 A
(43)申请公布日 2010.05.12

(21)申请号 200910212389.5

(22)申请日 2003.03.06

(30)优先权数据
60/362,547 2002.03.08 US
10/377,718 2003.03.04 US

(62)分案原申请数据
03808000.1 2003.03.06

(71)申请人 施怀哲股份有限公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 郭村勇

(74)专利代理机构 北京科龙寰宇知识产权代理有限责任公司 11139
代理人 孙皓晨

(51)Int.Cl.
A61K 39/295(2006.01)
A61K 39/17(2006.01)
A61K 39/12(2006.01)
A61K 48/00(2006.01)
A61P 31/14(2006.01)
C12N 15/40(2006.01)
C12N 15/45(2006.01)
C12N 15/63(2006.01)
C12N 15/866(2006.01)
C12N 15/869(2006.01)
C12N 15/863(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 28 页

(54)发明名称

多价性蛋内 DNA 疫苗

(57)摘要

本发明提供一种用在禽类蛋内以获得胚胎免疫性的多价性 DNA 疫苗。该多价性 DNA 疫苗包含一个含有二个或二个以上 DNA 分子的 DNA 构建物，每个 DNA 分子代表一种禽类病毒基因或其片段。该多价性 DNA 疫苗能表达出二个或二个以上病毒抗原且在禽类体内诱导出抗禽类病毒疾病的保护性免疫反应。

CN 101703770 A

1. 一种用于蛋内注射的多价性 DNA 疫苗，包括：

一个含有二个 DNA 分子的 DNA 构建物，其中，每个所述 DNA 分子能表达出一个会在禽类内造成禽类病毒疾病的禽类病毒的抗原蛋白；

所述禽类病毒的抗原蛋白能在所述禽类诱导出抗所述禽类病毒疾病的保护性免疫反应；

所述 DNA 分子选自传染性华氏囊病病毒及新城鸡瘟病毒所构成的群组之中的一个基因或其片段。

2. 根据权利要求 1 的多价性 DNA 疫苗，其中，所述载体为一个质粒或一个病毒载体。

3. 根据权利要求 2 的多价性 DNA 疫苗，其中，所述质粒为选自 pcDNA3、pVAX1、pSectag、pTracer、pDisplay、pUC 系统质粒与 pGEM 系统质粒所构成的群组中的一种。

4. 根据权利要求 2 的多价性 DNA 疫苗，其中，所述质粒包括一个启动子，所述启动子选自 CMV 启动子、SV40 启动子、RSV 启动子和 β - 肌动蛋白启动子所构成的群组。

5. 根据权利要求 2 的多价性 DNA 疫苗，其中，所述病毒载体为选自杆状病毒、疱疹病毒和痘病毒所构成的群组中的一种。

6. 根据权利要求 1 的多价性 DNA 疫苗，其中，所述 DNA 分子为具有 SEQ ID NO :2 的 DNA 序列的传染性华氏囊病病毒 (IBDV) VP2 基因的全序列或其片段。

7. 根据权利要求 1 的多价性 DNA 疫苗，其中，所述 DNA 分子为具有 SEQ ID NO :3 中自第 6321 至 8319 碱基对的 DNA 序列的新城鸡瘟病毒 (NDV) HN 基因的全序列或其片段。

8. 根据权利要求 1 的多价性 DNA 疫苗，其中，所述禽类为选自鸡、火鸡、鸭和鹅所构成的群组。

9. 一种制备权利要求 1 所述多价性 DNA 疫苗的方法，包括：

将二个 DNA 分子黏接到一个质粒或病毒载体以形成一个 DNA 构建物，该一个 DNA 构建物即为所述多价性 DNA 疫苗；

其中，所述 DNA 分子包括选自传染性华氏囊病病毒及新城鸡瘟病毒所构成的群组之中的基因或其片段。

多价性蛋内 DNA 疫苗

[0001] 本申请是申请号为“03808000.1”、申请日为 2003 年 3 月 6 日、发明名称为“多重性和多价性蛋内 DNA 疫苗”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请案主张 2002 年 3 月 8 日提出的美国临时申请案 60/362,547 的优先权，在这里以引用方式并于本文。

技术领域

[0004] 本发明是有关一种在禽卵内取得胚胎免疫性的多重性 DNA 疫苗及 / 或多价性 DNA 疫苗。该多重性 DNA 疫苗包含二个或二个以上的 DNA 构建物，每个构建物含有一个编码禽类病毒蛋白或其片段的 DNA 分子，该蛋白或其片段能在禽类体内诱导出抗禽类病毒疾病的保护性免疫反应。该多价性 DNA 疫苗包含一个 DNA 构建物，该构建物含有二个或二个以上的 DNA 分子，各 DNA 分子为一个禽类病毒基因或其片段。该多价性 DNA 疫苗能表达出二个或二个以上的病毒抗原且能在禽类体内诱导出抗禽类病毒疾病的保护性免疫反应。该多重性 DNA 疫苗和该多价性 DNA 疫苗两者优选在禽卵受精约 18 天后注射到禽卵的羊膜内。

背景技术

[0005] Sharma 等人已经全面地说明含病毒疫苗的蛋内疫苗接种 (in ovo vaccination)(美国专利第 4,458,630 号)。尤其是，其讲授到可以将活的马立克病病毒 (Marek’sdisease virus) 注射到卵的羊膜的内，其后胚胎受到感染并且疫苗病毒复制到一高病毒效价 (titer)，从而在受处理的胚胎内诱导出保护性抗体的形成。(参阅，Sharma(1985)，Avian Diseases 29,1155,1167-68)。

[0006] 在全世界的家禽产业中众所周知，某些病毒疾病，例如马立克病病毒 (MDV)、传染性华氏囊病病毒 (IBDV)、新城鸡瘟病毒 (Newcastle disease virus)(NDV)、传染性支气管炎病毒 (IBV)、传染性喉气管炎病毒 (ILTV)、禽脑脊髓炎病毒 (AEV)、鸡贫血病毒 (CAV)、鸡痘病毒 (FPV)、禽流感病毒 (AIV)、理奥病毒 (reovirus)、禽白血病病毒 (ALV)、网状内皮组织增生病毒 (REV)、禽腺病毒和出血性肠炎病毒 (HEV)，可能造成重大疫情爆发且导致养禽商业明显经济损失。其中，MDV、IBDV、NDV 和 IBV 由于其毒性本质而显得特别重要。

[0007] 马立克病 (MD) 为一种会在鸡中自然发生的恶性淋巴增生失调疾病。该疾病是由一种疱疹病毒 - 马立克病病毒 (MDV) 所引起的。MD 普遍存在于全世界的禽类生产国家中，在密集生产系统下饲养的鸡不可避免地会遭受来自马立克病所造成的损失。MD 病征广泛地出现于受到感染的鸡的神经、生殖器官、内部器官、眼睛和皮肤，造成运动障碍 (由于神经受到感染时因麻痹所致)，内部器官的功能性障碍 (因肿瘤所致)，与慢性营养不足 (若内部器官有受到病毒侵袭时)。MD 会感染约 6 周龄以上的鸡，最常发生于 12 周至 24 周龄鸡中。

[0008] 至目前为止，尚未有治疗 MD 的方法。该疾病的控制主要基于管理方法，例如将正在生长的鸡与感染源隔离，使用在遗传上具有抗性的品系，以及接种疫苗。不过，管理程序

通常不具成本效益，且针对具有增加遗传上控制抵抗力的禽系的选择而言，其进展亦令人失望。现今，MD 的控制几乎完全根基于疫苗接种。

[0009] 传染性华氏囊病病毒 (IBDV) 会造成幼鸡的高度接触感染免疫抑制性疾病，进而造成全世界禽业的明显损失 (参阅 Kibenge(1988), J.Gen.Virol.,69 :1757-1775)。感染了病毒性传染性华氏囊病病毒系的敏感性鸡，可能会产生被称为传染性华氏囊病 (IBD) 的高度接触感染免疫抑制性状况。对华氏囊 (the bursa of Fabricius) 的淋巴滤泡和脾所造成的伤害，可能会加重其它病原体所造成的感染，并且减低鸡对疫苗的反应能力 (参阅 Cosgrove(1962), Avian Dis.,6 :385-3894)。

[0010] IBDV 为双 RNA 病毒科 (Birnaviridae) 的一员，其基因组由两个片段的双链 RNA 所构成 (参阅 Dobos et al.(1979), J.Virol.,32 :593-605)。较小的片段 B(约 2800bp) 编码 VP1，即 dsRNA 聚合酶。较大的基因片段 A(约 3000bp) 在单一开放读码区 (ORF) 内编码为一个 110kDa 多肽前体，经处理成为成熟的 VP2、VP3 和 VP4(参阅 Azad et al.(1985), Virology,143 :35-44)。从与该多肽的 ORF 部分重叠的一个小 ORF，片段 A 也可编码出 VP5，一具有未知功能的 17kDa 蛋白质 (参阅 Kibenge et al(1991), J.Gen.Virol.71 :569-577)。

[0011] 虽然 VP2 和 VP3 都是病毒粒子的主要结构蛋白，不过 VP2 才是主要的保护性免疫原且会引起宿主诱导出中和抗体 (参阅 Becht et al.(1988), J.Gen.Virol.,69 :631-640 ; Fahey et al.(1988), J.Gen.Virol.,70 :1473-1481)。VP3 被认为是一种组特异性抗原 (group-specific antigen)，是因为其可被来源于血清型 1 和 2 中直接抗 VP3 的单克隆抗体 (Mabs) 所识别 (参阅 Becht et al(1988), J.Gen.Virol.,69 :631-640)。VP4 为一种由病毒编码的蛋白酶且参与蛋白质前体的处理 (参阅 Jagadish et al.(1988), J.Virol.,62 : 1084-1087)。

[0012] 在过去，幼鸡 IBDV 感染的控制是由使用无毒性品系进行活疫苗接种，或主要通过将活的或经杀死的 IBDV 疫苗饲养母鸡后所诱导出的母体抗体转移而达成。不幸的是，最近数年内，在美国从经疫苗接种过的鸡群中已分离出毒性 IBDV 变异株 (参阅，例如，Snyder et al.(1988), Avian Dis.,32 :535-539 ; Van der Marel et al.(1990), Dtsch.Tierarztl. Wschr.,97 :81-83)，此事实严重地破坏了对 IBDV 使用活疫苗接种的效用性。

[0013] 开发对 IBDV 的重组疫苗已有成效，并已将 IBDV 的基因组克隆出来 (参阅 Azad etal(1985)"Virology",143 :35-44)。IBDV 的 VP2 基因也克隆出且在酵母菌内 (参阅 Macreadie et al.(1990), Vaccine,8 :549-552)，以及重组禽痘病毒内表达出 (参阅 Bayliss et al(1991), Arch.Virol.,120 :193-205)。当鸡使用从酵母菌表达的 VP2 抗原予以免疫处理时，抗血清可提供鸡对抗传染性华氏囊病病毒感染的被动保护。在用于主动免疫研究时，以禽痘病毒为载体的 (fowlpox virus-vectored)VP2 抗原可提供对抗死亡的保护，但是不能提供对抗华氏囊伤害的保护。

[0014] 新城鸡瘟病毒 (NDV) 为一种有鞘膜的病毒，其包含一线形、单链、未分段、负义 (negative sense) 的 RNA 基因组。具有特色地，包含负义基因组的带有鞘膜的单链 RNA 的病毒族被分类为具有未分段的基因组 (例如，副黏病毒科 (Paramyxoviridae) 和弹状病毒科 (Rhabdoviridae)) 或具有分段的基因组 (例如，正黏病毒科 (Orthomyxoviridae)、布尼亚病毒科 (Bunyaviridae) 和砂粒病毒科 (Arenaviridae))。新城鸡瘟病毒，与副流感病毒、仙台病毒 (Sendai virus)、猿猴病毒 5(simian virus5)、和腮腺炎病毒 (mumps virus) 都

属于副黏病毒科。

[0015] NDV 的构造成分包括一源于细胞膜的双层脂质的病毒鞘膜。从鞘膜突出的糖蛋白，血球凝集素 - 神经胺酸酶 (HN)，可使病毒同时具有血球凝集和神经胺酸酶两种活性。而融合糖蛋白 (F) 也会与病毒鞘膜产生相互作用，它首先以无活性的前体形式产生，然后经转译后处理，被切断产生两条由双硫键联结的多肽链。活化的 F 蛋白经由帮助病毒鞘膜与宿主细胞膜的融合使新城鸡瘟病毒穿透到宿主细胞内。基质蛋白 (M) 则与病毒组装有关，且与病毒鞘膜和核壳体蛋白 (nucelocapsid proteins) 两者相互作用。

[0016] NDV 核壳体的主要蛋白亚单位为核壳体蛋白 (NP)，其赋予核壳螺旋对称性。与核壳体结合的为 P 和 L 蛋白。磷酸化的磷蛋白 (P) 被认为在转录作用中具有调节的作用，并可能与甲基化、磷酸化和聚腺苷酸化作用有关。编码 RNA 依赖的 RNA 聚合酶的 L 基因系与 P 蛋白一起为合成病毒 RNA 所需。占有病毒基因组的编码容量几乎一半的 L 蛋白是各种病毒蛋白中最大的，且在转录和复制上均扮有重要角色。

[0017] 所有负链 RNA 病毒，包括 NDV，其复制皆因不含有复制 RNA 所需的细胞机构而变得复杂。此外，负链基因组不能直接转译成为蛋白质，而必须先转录到正链 (mRNA) 拷贝的中。所以，在进入宿主细胞内的后，病毒不能马上合成 RNA 依赖的 RNA 聚合酶。L、P 和 NP 蛋白必须在感染时一起与基因组进入细胞的内。NDV 的负链基因组 (vRNAs) 和反基因组 (antigenome) 两者均由核壳体蛋白所封装 (encapsidated)；唯一未被封装的 RNA 种类为病毒 mRNAs。细胞质为 NDV 的病毒 RNA 复制的场所，也是其转录的场所。各病毒成分的组装在宿主细胞膜进行，且成熟病毒通过出芽而释放出来。

[0018] 在美国专利 5,427,791 中，Ahmad 等人述及针对 NDV 的胚胎疫苗接种，其中需要通过使用乙基甲基磺酸酯 (EMS) 将病毒修饰。然而，EMS 为一种突变剂，使得经由使用 EMS 制备成的疫苗也被怀疑具有突变剂的作用，对于正常疫苗的施用并不适宜。不过，在没有使用 EMS 的改变的下，新城鸡瘟病毒疫苗就不能用于卵内疫苗接种，因为在使用未修饰的病毒注射到卵内的后，几乎所有的胚胎都会死掉。

[0019] 传染性支气管炎病毒 (IBV)，为冠状病毒科 (Coronaviridae) 的原型，是为传染性支气管炎 (IB) 的病原。该病毒具有一有正极性的单链 RNA 基因组，长度约 20kb，且其尺寸常约 80-100nm，为有突出 20 纳米刺突 (spike) 的圆形。传染性支气管炎病毒为所有年龄鸡的急性高度接触传染性疾病的肇因剂，会感染呼吸、生殖和肾等系统。

[0020] IBV 含有三个结构蛋白：刺突糖蛋白 (S)、膜糖蛋白和核壳体蛋白。该刺突糖蛋白因其存在于病毒脂质膜突出的刺突或泪滴状表面突起而得此名称。该刺突蛋白被认为与病毒的致免疫性有关，部分是因为其类似于其它冠状病毒的刺突蛋白，且另一部分则由于体外 (in vitro) 中和实验 (参阅，例如，D.Cavanagh et al.(1984)，AvianPathology，13，573-583)。该病毒含有两种刺突糖蛋白，为 S1(90kDa) 和 S2(84kDa)。糖多肽链 S1 和 S2 的多肽成分经酶法移除寡醣的后估计具有约 125kDa 的合并分子量。刺突糖蛋白显然是通过 S2 多肽链接着到病毒鞘膜的。

[0021] IBV 已广泛分布于已经发展出密集养鸡工业的国家中。生长到 4 周年龄的幼鸡最容易受到传染性支气管炎病毒所感染，其感染会导致高度发病率及因二次细菌感染所致死亡率。感染也会导致蛋产量下降，或完全不能下蛋，加上产生具有薄壳、畸形、粗糙和软壳的低级蛋，而对经济造成严重的影响。

[0022] 给予蛋中（卵内）正发育的小鸡活的疫苗，已被证明为一种免疫婴儿鸡使在其孵出前抗某些疾病的快速（40,000 颗蛋每小时），有效（100％蛋接受疫苗），且省劳力（100,000 美金每年每孵化场）的方法。

[0023] 第一个用于鸡孵化蛋的具卵内疫苗接种机器是由 Raleigh，N.C. 的 Embrex，Inc. 于 80 年代晚期发展出来的。（参阅，美国专利第 5,056,464 号和 5,699,751 号）。此种卵内机器目前用于约 80％的美国肉鸡孵化场中，主要是用来施打 MD 疫苗。该机器用于鸡抗 MD 的疫苗接种中被证明为安全有效的机器，也逐渐被用来施打 IBD 和 ND 疫苗。

[0024] 下面文段内所呈现的本发明中，要介绍的是一种以 DNA 为媒介的免疫作用（总称为"DNA 疫苗"）。有两类型的 DNA 疫苗，亦即，一种多重性 DNA 疫苗和一种多价性 DNA 疫苗。本发明的多重性 DNA 疫苗含有两种或更多种 DNA 构建物的组合，各构建物含有为一病毒基因或其片段的单一 DNA 分子。本发明的多价性 DNA 疫苗包含在一个 DNA 构建物中联结在一起的二个或更多个病毒基因或其片段。制备该多重性 DNA 疫苗或该多价性 DNA 疫苗任一中所使用的病毒基因或其片段可编码出病毒的肽链，该肽链为宿主体液和细胞免疫系统的抗原且可诱导该体液和细胞免疫系统。该 DNA 疫苗首选用针施打到卵内。蛋内 DNA 疫苗注射会导致令人惊讶地强烈的免疫反应，其中不仅包括抗体诱导和有细胞介质分泌的 T- 细胞活化，而且包括细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL) 的产生。

发明内容

[0025] 本发明提供一种用于蛋内注射的多重性 DNA 疫苗。该多重性 DNA 疫苗包含二个或二个以上 DNA 构建物，各 DNA 构建物可表达出会在禽类内造成禽类病毒疾病的禽类病毒的抗原蛋白。该禽类病毒的抗原蛋白能诱导出抗禽类病毒疾病的保护性免疫反应。该多重性 DNA 疫苗优选地是注射到禽蛋内，特别是禽卵的羊水内。该卵优选地是经受精约 18 天。优选的禽类包括鸡、火鸡、鸭和鹅。

[0026] 该 DNA 构建物包含一个 DNA 分子和一个载体 (vector)。该载体可为一质粒 (plasmid) 或一病毒载体，优选载体为质粒，质粒的例子包括，但是不限于，pcDNA3、pVAX1、pSectag、pTracer、pDisplay、pUC 系统质粒（例如 pUC7、pUC8、pUC18）、与 pGEM 系统质粒。或者，也可以使用含有一个启动子 (promoter) 例如 CMV 启动子、SV40 启动子、RSV 启动子、和 β- 肌动蛋白启动子等的任何质粒来制备 DNA 构建物。最适合的质粒为 pcDNA3。优选病毒载体为选自杆状病毒、疱疹病毒、和痘病毒所构成的群组中的一种。

[0027] 禽类病毒的例子包括，但不限于，马立克病病毒 (MDV)、传染性华氏囊病病毒 (IBDV)、新城鸡瘟病毒 (NDV)、传染性支气管炎病毒 (IBV)、传染性喉气管炎病毒 (ILTV)、禽类脑脊髓炎病毒 (AEV)、禽类白血病病毒 (ALV)、禽痘病毒 (FPV)、禽类副黏病毒 (APV)、鸭肝炎病毒 (DHV)、和出血性肠炎病毒 (HEV)。

[0028] 特别适合用来诱导保护性免疫反应以对抗上面所述禽类病毒疾病的 DNA 分子包括，但不限于，具有 SEQ ID NO :1 的 DNA 序列的马立克病病毒 (MDV) gB 基因的全序列或其片段；具有 SEQ ID NO :2 的 DNA 序列的传染性华氏囊病病毒 (IBDV) VP2 基因的全序列或其片段；具有 SEQ ID NO :3 的 DNA 序列的新城鸡瘟病毒 (NDV) HN 基因（自第 6321 至第 8319 碱基对）的全序列或其片段（亦即 SEQ ID NO :3 为新城鸡瘟病毒的整个基因组）；具有 SEQ ID NO :4 的 DNA 序列的传染性支气管炎病毒 (IBV) S1 基因的全序列或其片段；具有 SEQ ID NO :

5 的 DNA 序列的传染性喉气管炎病毒 (ILTV) 的糖蛋白 G 基因的全序列或其片段 ;禽类脑脊髓炎病毒 (AEV) 的 VP1、VP0、或 VP3 基因的全序列或其片段 (VP1 基因具有 SEQ ID NO :6 的 DNA 序列 ;VP0 基因具有 SEQ ID NO :7 的 DNA 序列 ;且 VP3 基因具有 SEQ ID NO :8 的 DNA 序列) ;具有 SEQ ID NO :9 的 DNA 序列的禽类副流感病毒 (APV) 的副糖蛋白 G 基因的全序列或其片段 ;具有 SEQ ID NO :10 的 DNA 序列的出血性肠炎病毒 (HEV) 的 A 型五角体基 (penton base) 基因的全序列或其片段 ;与具有 SEQ ID NO :11 的 DNA 序列的禽痘病毒 (FPV) 的鞘膜抗原基因的全序列或其片段。

[0029] 一个优选的 DNA 疫苗例子包含两个 DNA 构建物,每个含有一个能够表达来自马立克病病毒 (MDV)、传染性华氏囊病病毒 (IBDV)、新城鸡瘟病毒 (NDV)、或传染性支气管炎病毒 (IBV) 的基因或其片段的 DNA 分子。

[0030] 多重性 DNA 疫苗的另一优选例子含有 3 或 3 个以上的 DNA 构建物,每个含有一个能够表达来自马立克病病毒 (MDV)、传染性华氏囊病病毒 (IBDV)、新城鸡瘟病毒 (NDV)、或传染性支气管炎病毒 (IBV) 的基因或其片段的 DNA 分子。

[0031] 本发明也提供一种给禽卵接种的方法与一种制备该多重性 DNA 疫苗的方法。该给禽卵接种的方法包括向禽蛋内注射上述多重性 DNA 疫苗。该制备该多重性 DNA 疫苗的方法包括将一个 DNA 分子黏接 (ligating) 到质粒或病毒载体以形成 DNA 构建物 ;然后将该二个或更多个该 DNA 构建物混合以形成多重性 DNA 疫苗。将 DNA 分子插入于载体内的步骤可以用常规方法来达成,亦即,基因和适合的载体都用相同的限制酶予以酶切以藉此产生互补的 DNA 末端,使用如 T4DNA 黏接酶 (ligase) 的酶黏接 DNA 分子。对于 pcDNA3,优选的限制酶为 BamH1 和 EcoR1。

[0032] 在另一具体实例中,提供了一种蛋内注射用的多价性 DNA 疫苗。该多价性 DNA 疫苗包含一个 DNA 构建物,各构建物含有用一个载体联结的二个或二个以上的 DNA 分子。每个 DNA 分子可表达出一种禽类病毒的抗原蛋白,该抗原蛋白能在禽类体内诱导出抗该禽类病毒疾病的保护性免疫反应。该多价性 DNA 疫苗优选注射到禽蛋内。该多价性 DNA 疫苗的每一个 DNA 分子为来自马立克病病毒 (MDV)、传染性华氏囊病病毒 (IBDV)、新城鸡瘟病毒 (NDV)、传染性支气管炎病毒 (IBV)、传染性喉气管炎病毒 (ILTV)、禽类脑脊髓炎病毒 (AEV)、禽类白血病病毒 (ALV)、禽痘病毒 (FPV)、禽类副流感病毒 (APV)、鸭肝炎病毒 (DHV)、和出血性肠炎病毒 (HEV) 的一个基因或其片段。

具体实施方式

[0033] 传统禽类疫苗包括经化学灭活的病毒疫苗或经修饰的活病毒疫苗。灭活疫苗需要额外的免疫化处理,如此不仅制造起来昂贵且执行起来繁琐。再者,某些传染性病毒颗粒可能在灭活程序中存活,并可能在施打到动物后引发疾病。

[0034] 整体而言,经减毒的活病毒疫苗比经灭活疫苗较适当,因为其可诱发通常同时基于体液和细胞反应的免疫反应。这种疫苗通常是以在组织培养中的毒性病毒株连续传代为基础。然而,减毒程序会诱导病毒基因组的突变,产生有关毒性和免疫性质互相异质的一族群病毒粒子。此外,众所周知,传统经减毒的活病毒疫苗可能回复毒性,而导致在所接种的动物上爆发疾病并可能将病原散布到其它动物上。

[0035] 因此,以重组 DNA 技术为基础的疫苗对产业界来说是具有其优点的。所得 DNA 疫

苗只含有且只表达出所必需的和相关的免疫原物质，此免疫原物质能够诱发抗病原的保护性免疫反应，且不会显现出上述活疫苗或经灭活的疫苗的缺点。

[0036] 为了制备多重性DNA疫苗及/或多价性重组DNA疫苗的目的，基因的DNA序列（也可以与“DNA分子”互换地使用）不需要含有编码该多肽链的DNA的全部长度。在大部分情况中，编码一个抗原决定部位区的基因片段应该就足够供免疫反应所用。抗原决定部位区的DNA序列可以通过将其它病毒株的对应部份予以定序且互相比较而找出。主要的抗原决定子(antigenic determinant)可能为显示出最大异质性(heterology)者。此外，这些抗原决定部位区也可能位于蛋白质的构象结构之内。一个或更多个该编码抗原决定子的基因片段可以通过化学合成或重组DNA技术予以制备。如果需要，这些基因片段可以键联在一起或联结到其它DNA分子。

[0037] 同时，病毒基因也不需要在DNA内。事实上，某些常见的禽类病毒疾病是由双链或单链RNA病毒所引起的。例如，马立克病病毒(MDV)为一种双链RNA病毒，而传染性华氏囊病病毒(IBDV)、新城鸡瘟病毒(NDV)和传染性支气管炎病毒(IBV)都是单链RNA病毒。不过，RNA病毒序列可以使用反转录聚合酶链式反应(RT-PCR)技术反转录到DNA内，接着以常用的重组DNA技术将之加到载体内。

[0038] 此外，因为遗传密码的简并性，可能会有许多RNA和DNA序列编码着一个特定的氨基酸序列。因此，可表达出具有抗体结合特性的多肽链的所有RNA和DNA序列都为本发明所涵盖。

[0039] 要构建重组DNA疫苗时，不论单价或多价，均可将病毒基因的DNA序列黏接到于自然界中不相关或联结的其它DNA分子。任意地，可将一个病毒基因的DNA序列黏接另一个DNA分子中，即载体，该载体含有其编码融合蛋白质序列例如β-半乳糖苷酶的DNA，产生所谓的重组核酸分子或DNA构建物，其可用来转殖到适当的宿主。此种载体优选是衍生自，如质粒或存在于噬菌体、黏接质粒或病毒中的核酸序列。

[0040] 可以用来克隆根据本发明的核酸序列的特定载体都是本领域所知的，且包括质粒或病毒载体。质粒的例子包括，但不限于，pBR322、pcDNA3、pVAX1、pSectag、pTracer、pDisplay、pUC系统质粒（例如pUC7、pUC8、pUC18）、pGEM系统质粒、Bluescript质粒或有包括CMV启动子、SV40启动子、RSV启动子、和β-肌动蛋白启动子等的任何其它质粒。优选质粒为pcDNA3。病毒载体的例子包括，但不限于，噬菌体（例如，λ和M13-衍生的噬菌体）、SV40、腺病毒、多瘤病毒(polyoma)、杆状病毒、疱疹病毒(HVT)或痘病毒（例如禽痘病毒）。

[0041] 构建重组核酸分子所用的方法都是本领域所知悉的技术。例如，当基因和适合的克隆载体都用相同的限制酶酶切以产生互补的DNA末端后，核酸序列在一克隆载体中的插入可以很容易地通过如T4DNA连接酶的酶连接得到。

[0042] 或者，通过消化单链DNA或使用恰当的DNA聚合酶来填充隐性末端来修饰限制酶切部位以产生钝端(blunt end)可能也是需要的。随后，可以使用如T4DNA黏接酶的酶进行钝端黏接。如果需要，可以通过将黏接臂黏接到DNA末端上来产生任何限制酶切部位。这类黏接臂可包括编码限制酶切部位序列的特定寡核苷酸序列。经限制酶酶切过的载体和核酸序列也可通过均聚物加尾(homopolymeric tailing)来进行修饰。

[0043] 本发明提供两种DNA疫苗。第一种多重性DNA疫苗，其包含二个或二个以上的单

价 DNA 疫苗，各含有一条 DNA 序列，该 DNA 序列编码着至少一种多肽链，该多肽链能提供保护作用以对抗一种禽类病毒疾病例如马立克病病毒 (MDV)、传染性华氏囊病病毒 (IBDV)、新城鸡瘟病毒 (NDV)、传染性支气管炎病毒 (IBV)、传染性喉气管炎病毒 (ILTV)、禽脑脊髓炎病毒 (AEV)、禽痘病毒 (FPV)、禽流感病毒 (AIV)、禽白血病病毒 (ALV)、鸭肝炎病毒 B 基因和出血性肠炎病毒 (HEV)，并插入到商业上可用的质粒中。

[0044] 第二种为多价性重组 DNA 疫苗，其包含来自不同病毒的二种或二种以上的基因或基因片段。这些基因或基因片段通过一个有用的载体所携载，该载体可为质粒或病毒载体。该多价性重组 DNA 疫苗编码着二个或二个以上的抗原多肽链，该抗原多肽链可提供保护作用以对抗至少两种病毒疾病包括，但不限于，马立克病、传染性华氏囊病、新城鸡瘟病或传染性支气管炎之保护。该病毒基因或基因片段可被有效地连接到载体的读码区内以使其可在宿主体内表达出来。由该载体所携带的不同结构 DNA 序列可用终止序列和起始序列分隔使得该蛋白质可以分开表达，或成为一个单一读码区的一部分，因而可用本领域中已知的方法以融合蛋白质的形式产生。

[0045] 优选的 DNA 序列包括，但不限于，具有 SEQ ID NO :1 的 DNA 序列的马立克病病毒 (MDV) gB 基因的全序列或其片段 ；具有 SEQ ID NO :2 的 DNA 序列的传染性华氏囊病病毒 (IBDV) VP2 基因的全序列或其片段 ；具有 SEQ ID NO :3 中自第 6321 至 8319 碱基对的 DNA 序列的新城鸡瘟病毒 (NDV) HN 基因的全序列或其片段 ；具有 SEQ ID NO :4 的 DNA 序列的传染性支气管炎病毒 (IBV) S1 基因的全序列或其片段。

[0046] 编码马立克病病毒的 gB 多肽链的 DNA 序列具有 SEQ ID NO :1 的核酸序列。该 DNA 序列包含线型 DNA 的 3650 个碱基对。

[0047] 编码传染性华氏囊病病毒的 VP2 多肽链的 DNA 序列具有 SEQ ID NO :2 的核酸序列。该 DNA 序列包含线型 DNA 分子的 3004 碱基对，可由传染性华氏囊病病毒的 RNA 模板反转录而来。

[0048] 整个新城鸡瘟病毒基因组的 DNA 序列包含 15186 碱基对的 DNA，其中 (1) 第 56 至 1792 碱基对编码 NP 多肽链，为一核壳体蛋白 ；(2) 第 1804-3244 碱基对编码 P 多肽链，为一磷蛋白 ；(3) 第 3256-4487 碱基对编码 M 多肽链，为一基质蛋白 ；(4) 第 4498-6279 碱基对编码 F 多肽链，为一融合蛋白质 ；(5) 第 6321-8319 碱基对编码 HN 多肽链，为血球凝集素神经胺酸酶 ；(6) 第 8370-15073 碱基对编码 L 多肽链，为一大的聚合酶蛋白质。新城鸡瘟病毒基因组具有 SEQ ID NO :3 的 DNA 序列。

[0049] S1 多肽链的 DNA 序列含有如 SEQ ID NO :4 所示 1611 个碱基对线型 DNA 序列，是从传染性支气管炎病毒的 RNA 模板反转录而得。

[0050] 下面的实验设计为示范说明，而不用来限制本发明的范围。其中可做出合理的变化，例如合理技术操作所发生者，不违离本发明的范围。

[0051] I. 材料与方法

[0052] (A) 病毒与疫苗

[0053] 禽类传染性支气管炎病毒 (IBV)、传染性华氏囊病 (IBD) 和新城鸡瘟病 (ND) 疫苗都购自 Intervet Inc.。

[0054] (B) 病毒 RNA 分离与反转录聚合酶链式反应 (RT-PCR)

[0055] 将 200 微升回收的减毒疫苗 (Intervet Inc.) 溶解于冰冷的 GTC 缓冲液 (4M 异硫

氰酸胍，25mM 柠檬酸钠，pH 7.0，0.5% Sarkosyl，0.1M 氢硫基乙醇）和醋酸钠（pH4）中。加入等体积的苯酚－氯仿（1 ： 1）震荡后静置于冰上 15 分钟。离心后收集水层且使用等体积的异丙醇沉淀出 RNA。在 4℃下以 12,000rpm 离心 20 分钟将沉淀的 RNA 分离出，然后悬浮在经焦碳酸二乙酯（DEPC）处理过的去离子水中且贮存在 -70℃。

[0056] (C) 寡核苷酸

[0057] 反转录聚合酶连锁反应所用的寡核苷酸引物（primer）都是购自 Promega，且都是分别针对禽类传染性支气管炎病毒（Beaudette CK 株）、新城鸡瘟病毒（Lasota 株）和禽类传染性华氏囊病病毒的基因组来设计。PCR 所用各引物的序列为：

[0058] IBS1F’5’ CGGGATCCGCCGCCGCCATGTTGGTAACACCTCTT 3’;(SEQ ID NO:12)

[0059] IBS1R’5’ CGGAATTCTTAACGTCTAAAACGACGTGT 3’;(SEQ ID NO:13)

[0060] NDF F’5’ CGGGATCCGCCGCCGCCATGGGCTCCAGACCTTCTACC 3’;(SEQ ID NO:14)

[0061] NDF R’5’ CCGCTCGAGTTACATTTTTGTAGTGGCTCTCATT 3’;(SEQ ID NO:15)

[0062] NDHN F’5’ CGGGATCCGCCGCCGCCATGGACCGCGCCGTTAGGCAAG 3’;(SEQ ID NO:16)

[0063] NDHN R’5’ GCTCTAGATTACTCAACTAGCCAGACCTG 3’;(SEQ ID NO:17)

[0064] IBDVP2F’5’ CGGGATCCGCCGCCGCCATGACAAACCTGCAAGAT 3’;(SEQ ID NO:18)

[0065] IBDVP2R’5’ CGGAATTCTTACCTTATGGCCCGGATTAT 3’;(SEQ ID NO:19)

[0066] (D) 反转录聚合酶连锁反应（RT-PCR）

[0067] 传染性支气管炎病毒、新城鸡瘟病和传染性华氏囊病病毒的 RNA 反转录是在 42℃于 2.5 倍 Taq 缓冲液（200mM NaCl，15mM Tris-HCl，pH 7.4，15mM $MgCl_2$，15mM β－氢硫基乙醇，和各 0.25mM 的 dATP、dCTP、dGTP，和 dTTP）中进行 30 分钟。除了 Taq 缓冲液之外，反应混合物（40 微升）也含有病毒 RNA，2.4U 的禽类骨髓母细胞瘤病毒（AMV）反转录酶（Promega），16U 的 RNasin（Promega），和 0.01nmol 的反向引物（IBDVP2R、NDF F、NDHN F 或 IBS1R）。反应混合物的最后体积为 40 微升。反转录之后，在反转录混合物中加入下列药剂：0.02nmol 的各核苷三磷酸（dATP、dCTP、dGTP、dTTP），0.01nmol 的前向引物（IBDVP2F、NDF R、NDHN R 或 IBS1F）和 1.5U 的 Taq DNA 聚合酶（Strategene）。然后加水到终体积 100 微升。反应在 ThermalCycler（PerkinElmer-Cetus）内进行 32 个循环。每一 PCR 循环包括在 94℃下变性（denaturat ion）1 分钟，在 57℃下退火（annealing）1 分钟，与在 72℃下延长（elongation）2 分钟。

[0068] (E) DNA 构建物的制备

[0069] 使用分别来源于传染性华氏囊病毒疫苗、传染性支气管炎病毒疫苗和新城鸡瘟病毒疫苗的 VP2、S1、NDF 和 NDHN 等基因放置于市售质粒 pcDNA3（Invitrogen，U.S.A.）的下游处，构成质粒 pCMV-VP2、pCMV-S1、pCMV-NDF 和 pCMV-NDHN。使用限制酶 BamH1、EcoR1、XbaI 和 XhoI 将所有的基因插入到 pcDNA3 载体之内（引物序列中带下划线的字母）。在 pcDNA3 载体内的所有基因的序列都经过两方向测序予以验证。

[0070] (F) DNA 和 DNA 传递的制备

[0071] 经亲和层析法（Qiagen. Inc.）纯化的质粒 DNA 的定量用波长为 260 和 280nm 的分光光度计测量。将各 100 微克分量的 DNA 悬浮在 100 微升 PBS 中（0.14M 氯化钠，10mM 磷酸钠，pH 7.4）。对于 DNA 传递，使用含有 20 号 1 又 1/2 时针头的 1cc 注射筒。对于蛋内注射组，是从每一个蛋的大头端用针头穿透气室将 0.1 毫升的 DNA 疫苗（100 微克）注射到胚胎

内（取自鸡窝盘中 18 天的已受精且正发育的卵）。然后将该卵转移到孵化场，且放在该处直到在约 21 天时孵化为止。对于 IM（肌肉内）组，所有疫苗（1/5 剂量的活疫苗）注射到孵化后 10 天鸡的胸肉内。

[0072] II. 实验设计

[0073] 将无特定病原 (SPF) 受精蛋 (n = 60) 随机分成 12 组。所有组的所有蛋（一组 5 颗蛋）都分别给予 100 微升的试剂。A 组的每一颗蛋注射 100 微克 pCMV-NDF+100 微克 pCMV-NDHN 混合物，B 组的每一颗蛋注射 100 微克 pCMV-S1，C 组的每一颗蛋注射 100 微克 pCMV-VP2，D 组的每一颗蛋注射 100 微克 pCMV-NDF+100 微克 pCMV-NDHN+100 微克 pCMV-S1(ND+IB)，E 组的每一颗蛋注射 100 微克 pCMV-NDF+100 微克 pCMV-NDHN+100 微克 pCMV-VP2(ND+IBD)，F 组的每一颗蛋注射 100 微克 pCMV-VP2+100 微克 pCMV-VP2 混合物 (IB+IBD)，G 组的每一颗蛋注射 100 微克 pCMV-NDF+100 微克 pCMV-NDHN+100 微克 pCMV-S1+100 微克 pCMV-VP2(ND+IB+IBD)，作为阳性对照组的 H 组的每一颗蛋注射 1 剂量的市售蛋内 IBD 疫苗 (Embrex，Inc)，I、J、K 和 L 组的每一颗蛋注射 100 微升的 PBS。在此实验中的所有鸡都是在孵化后 10 天鸡的胸肉内注射 100 微升的疫苗 (1/5 剂量的活疫苗)。A 和 I 组中的鸡注射 NDV 疫苗，B 和 J 组注射 IBV 疫苗，C 和 K 组注射 IBDV 疫苗，D 组注射 NDV+IB 疫苗混合物，E 组注射 NDV+IBD 疫苗混合物，F 组注射 IB+IBD 疫苗混合物，且 G 和 L 组注射 NDV、IB 和 IBD 疫苗混合物。

[0074] III. 血清检测

[0075] 在孵化后 10 天（同时注射低剂量活疫苗）、17 天、24 天和 31 天收集所有血清样品。抗体效价的检测使用购自 IDEXX Laboratories，Inc. 的 IB、IBD 和 NDV 抗体检测试剂盒用 ELISA 检测。所有样品都进行重复检测。在检定之前使用样品稀释剂将检验样品稀释 500 倍 (1 ： 500)。检测程序按照试剂盒手册进行。为了使检测正确，测量且记录在波长 650nm 的吸光值，A(650)。未知样中的相对抗体含量通过计算样品对阳性样 (S/P) 比例来确定。终点效价使用公式计算 ：Log_{10} 效价＝ 1.09(Log_{10}S/P)+3.36。

[0076] 结果

[0077] 如表 1 中所示，结果证实，对于抗 -IBD 抗体的检测，IBDV 重组抗原 VP2 可以被表达并能起到原发刺激作用。在一低剂量疫苗强化后效价迅速增加。在孵化 17 天之后（亦即，IM 注射后 7 天），C、E、F 和 G 等组的效价明显地高于 K 和 L 组的效价。最重要的，IBDV 抗原的表达不会受其它单价 DNA 疫苗（新城鸡瘟病毒和传染性支气管炎病毒）所干扰。对于 IB 和 NDV DNA 疫苗也有相同的结果。孵化后 17 天，B、D、F 和 G 等组的效价都高于 J 和 L 组的效价（表 2）且孵化后 17 天，A、D、E 和 G 等组的效价都高于 I 和 L 组的效价（表 3）。唯一未预料到的结果是抗 -NDV 效价不能用三价 DNA 疫苗高度诱导出来（表 3，G 组），不过抗 -IBD 和抗 -IB 则都可以（表 1 和 2，G 组）。

[0078] 表 1 用 IDEXX IBD 抗体检测试剂盒检测的血清样品

[0079] （抗体效价对应于平均效价 ±SD)

[0080]

	免疫化和样品采集时间表(天)			
动物组别	10 天 PH*	17 天 PH	24 天 PH	31 天 PH

[0081]

C(IBD)	---**	4535±1267	16623±3105	21254±3852
E(IBD+ND)	---	1685±655	17339±2185	19041±2967
F(IBD+IB)	---	8252±2205	10057±1295	17561±2006
G(IBD+IB+ND)	---	9111±1701	13127±1763	16694±2134
H(IBD 阳性)	6635±851	13025±2131	18015±1592	18853±2614
K(PBS/IBD)	---	---	1853±302	17002±2965
L(PBS/IBD+IB+ND)	---	---	6923±1168	18063±2531

[0082] *PH :孵化后

[0083] **--- :平均效价低于 396(被 IDEXX 试剂盒作为阴性)

[0084] 表 2 用 IDEXX IB 抗体检测试剂盒检测的血清样品

[0085] (抗体效价对应于平均效价 ±SD)

[0086]

免疫化和样品采集时间表(天)				
动物组别	10 天 PH*	17 天 PH	24 天 PH	31 天 PH
B(IB)	---**	441±117	2426±264	3214±877
D(IB+ND)	---	586±182	805±221	1988±501
F(IB+IBD)	---	509±89	685±186	1192±237
G(IBD+IB+ND)	---	499±81	688±78	2551±531
J(PBS/IB)	---	---	485±76	1662±441
L(PBS/IBD+IB+ND)	---	---	819±202	1332±488

[0087] *PH :孵化后

[0088] **--- :平均效价低于 396(被 IDEXX 试剂盒作为阴性)

[0089] 表 3 用 IDEXX ND 抗体检测试剂盒检测的血清样品

[0090] (抗体效价系对应于平均效价 ±SD)

[0091]

免疫化和样品采集时间表(天)				
动物组别	10 天 PH*	17 天 PH	24 天 PH	31 天 PH
A(ND)	---**	466±101	2394±456	8103±2198
D(ND + IB)	---	706±140	1778±378	6811±2206
E(ND+IBD)	---	517±104	3021±411	5991±1695
G(IBD+IB+ND)	---	---	---	783±201
I(PBS/ND)	---	---	1853±324	3912±304
L(PBS/IBD+IB+ND)	---	---	4027±662	5807±1996

[0092] *PH :孵化后

[0093] **--- :平均效价低于 396(被 IDEXX 试剂盒作为阴性)

[0094] 序列表

[0095] <110> 郭村勇

[0096] <120> 多重性和多价性蛋内 DNA 疫苗

[0097] <130>39734-186920

[0098] <160>19

[0099] <170>PatentIn version 3.2

[0100] <210>1

[0101] <211>3650

[0102] <212>DNA

[0103] <213> 马立克病病毒

[0104] <400>1

[0105] tcgagctcgc cggggatgtt tagtcacgat agacatcggt tcgcccagcc gtcgaataca 60

[0106] gcattatatt ttagtgttga aaatgtaggg ctgcttcctc acttaaagga ggaaatggct 120

[0107] cgattcatgt ttcatagcag tagaaaaaca gattggaccg tcagtaagtt tagagggttt 180

[0108] tatgacttta gcactataga taatgtaact gcggcccatc gcatggcttg gaaatatatc 240

[0109] aaagaactga tttttgcaac agctttattt tcttctgtat ttaaatgtgg cgaattgcac 300

[0110] atctgtcgtg ccgacagttt gcagatcaac agcaatggag actatgtatg gaaaaatgga 360

[0111] atatatataa catatgaaac cgaatatcca cttataatga ttctggggtc agaatcaagc 420

[0112] acttcagaaa cgcaaaatat gactgcaatt attgatacag atgtttttc gttgctttat 480

[0113] tctattttgc agtatatggc ccccgttacg gcagatcagg tgcgagtaga acagattacc 540

[0114] aacagccacg cccccatctg acccgtccaa tattcttgtg tccctgcatt ttatctcaca 600

[0115] caatttatga acagcatcat taagatcatc tcactatgca ctattttagg cggaattgca 660

[0116] ttttttcct tatagttatt ctatatggta cgaactcatc tccgagtacc caaaatgtga 720

[0117] catcaagaga agttgtttcg agcgtccagt tgtctgagga agagtctacg ttttatcttt 780

[0118] gtcccccacc agtgggttca accgtgatcc gtctagaacc gccgcgaaaa tgtcccgaac 840

[0119] ctagaaaagc caccgagtgg ggtgaaggaa tcgcgatatt atttaaagag aatatcagtc 900

[0120] catataaatt taaagtgacg ctttattata aaaatatcat tcagacgacg acatggacgg 960

[0121] ggacgacata tagacagatc actaatcgat atacagatag gacgcccgtt tccattgaag 1020

[0122] agatcacgga tctaatcgac ggcaaaggaa gatgctcatc taaagcaaga taccttagaa 1080

[0123] acaatgtata tgttgaagcg tttgacaggg atgcgggaga aaaacaagta cttctaaaac 1140

[0124] catcaaaatt caacacgccc gaatctaggg catggcacac gactaatgag acgtataccg 1200

[0125] tgtggggatc accatggata tatcgaacgg gaacctccgt caattgtata gtagaggaaa 1260

[0126] tggatgcccg ctctgtgttt ccgtattcat attttgcaat ggccaatggc gacatcgcga 1320

[0127] acatatctcc attttatggt ctatccccac cagaggctgc cgcagaaccc atgggatatc 1380

[0128] cccaggataa tttcaaacaa ctagatagct atttttcaat ggatttggac aagcgtcgaa 1440

[0129] aagcaagcct tccagtcaag cgtaactttc tcatcacatc acacttcaca gttgggtggg 1500

[0130] actgggctcc aaaaactact cgtgtatgtt caatgactaa gtggaaagag gtgactgaaa 1560

[0131] tgttgcgtgc aacagttaat gggagataca gatttatggc ccgtgaactt tcggcaacgt 1620

[0132] ttatcagtaa tacgactgag tttgatccaa atcgcatcat attaggacaa tgtattaaac 1680

[0133] gcgaggcaga agcagcaatc gagcagatat ttaggacaaa atataatgac agtcacgtca 1740

[0134] aggttggaca tgtacaatat ttcttggctc tcgggggatt tattgtagca tatcagcctg 1800

[0135] ttctatccaa atccctggct catatgtacc tcagagaatt gatgagagac aacaggaccg 1860

[0136] atgagatgct cgacctggta aacaataagc atgcaattta taagaaaaat gctacctcat 1920

[0137] tgtcacgatt gcggcgagat attcgaaatg caccaaatag aaaaataaca ttagacgaca 1980

[0138] ccacagctat taaatcgaca tcgtctgttc aattcgccat gctccaattt ctttatgatc 2040

[0139] atatacaaac ccatattaat gatatgttta gtaggattgc cacagcttgg tgcgaattgc 2100

[0140] agaatagaga acttgtttta tggcacgaag ggataaagat taatcctagc gctacagcga 2160

[0141] gtgcaacatt aggaaggaga gtggctgcaa agatgttggg ggatgtcgct gctgtatcga 2220

[0142] gctgcactgc tatagatgcg gaatccgtca ctttgcaaaa ttctatgcga gttatcacat 2280

[0143] ccactaatac atgttatagc cgaccattgg ttctattttc atatggagaa aaccaaggaa 2340

[0144] acatacaggg acaactcggt gaaaacaacg agttgcttcc aacgctagag gctgtagagc 2400

[0145] catgctcggc taatcatcgt agatattttc tgtttggatc cggttatgct ttatttgaaa 2460

[0146] actataattt tgttaagatg gtagacgctg ccgatataca gattgctagc acatttgtcg 2520

[0147] agcttaatct aaccctgcta gaagatcggg aaattttgcc tttatccgtt tacacaaaag 2580

[0148] aagagttgcg tgatgttggt gtattggatt atgcagaagt agctcgccgc aatcaactac 2640

[0149] atgaacttaa attttatgac ataaacaaag taatagaagt ggatacaaat tacgcgttta 2700

[0150] tgaacggttt ggccgaattg tttaacggta tgggtcaggt agggcaagct ataggcaaag 2760

[0151] ttgtagtagg ggctgccggt gcaatcgtat ctaccatatc tggtgtctct gctttcatgt 2820

[0152] caatcccttt ggggctttcg gcaatcggtt taatcattat agcaggactc gtggctgcat 2880

[0153] ttttagcata tcgttatgta aacaagctta aaagcaatcc aatgaaagcc ctttatccta 2940

[0154] tgacaacaga agtgcttaag gcacaggcaa cgcgtgagtt gcatggcgag gaatcagatg 3000

[0155] atttggaacg aacatctatt gatgaaagaa aattagaaga agctagagaa atgataaaat 3060

[0156] atatggcgtt agtctccgcg gaagaacgcc acgagaaaaa actgcggaga aagaggcgag 3120

[0157] gcactaccgc cgttctatcg gaccacctgg caaaaatgag gattaaaaat agtaacccta 3180

[0158] aatatgataa gttacctact acatattcag actcagaaga tgatgctgtg taagtgggca 3240

[0159] ctattatatt tgaactgaat aaaacgcata gagcatgata tggtttactc atttattgcg 3300

[0160] agatataaag catattcaat acgatatatt gcgaacgtga tgctaaaaac atagctccct 3360

[0161] gtattattga tgcgccatca tttgattaat aaatacatcg acgccggcat cactggtgcg 3420

[0162] gtgtatacca gctacggcgc tagcattcat ggtatcccgt gattgctcga tgctttcctt 3480

[0163] ctgaattccg tcggaacgct cctgagagat ggtcgcagtt attggtacat ttcgaccagc 3540

[0164] ctccggatct gaaactggca caggaatgca ccgtggaatt ggtagaagtt tttccttccg 3600

[0165] tggaaggcat agggcgttcg actcccatgg gccatgaaac tgtgggatgt 3650

[0166] <210>2

[0167] <211>3004

[0168] <212>DNA

[0169] <213>传染性华氏囊病病毒(IBDV)

[0170] <400>2

[0171] tgatgccaac aaccggaccg gcgtccattc cggacgacac cctggagaag cacactctca 60

[0172] ggtcagagac ctcgacctac aatttgactg tgggggacac agggtcaggg ctaattgtct 120

[0173] ttttccctgg attccctggc tcaattgtgg gtgctcacta cacactgcag agcaatggga 180

[0174] actacaagtt cgatcagatg ctcctgactg cccagaacct accggccagt tacaactact 240

[0175] gcaggctagt gagtcggagt ctcacagtga ggtcaagcac acttcctggt ggcgtttatg 300

[0176] cactaaacgg caccataaac gccgtgacct tccaaggaag cctgagtgaa ctgacagatg 360

[0177] ttagctacaa tgggttgatg tctgcaacag ccaacatcaa cgacaaaatt gggaacgtcc 420

[0178] tagtagggga aggggtcacc gtcctcagct tacccacatc atatgatctt gggtatgtga 480

[0179] ggcttggtga ccccattccc gcaatagggc ttgacccaaa aatggtagcc acatgtgaca 540

[0180] gcagtgacag gcccagagtc tacaccataa ctgcagccga tgattaccaa ttctcatcac 600

[0181] agtaccaacc aggtggggta acaatcacac tgttctcagc caacattgat gccatcacaa 660

[0182] gcctcagcgt tgggggagag ctcgtgtttc gaacaagcgt ccacggcctt gtactgggcg 720

[0183] ccaccatcta cctcataggc tttgatggga caacggtaat caccagggct gtggccgcaa 780

[0184] acactgggct gacgaccggc accgacaacc ttatgccatt caatcttgtg attccaacaa 840

[0185] acgagataac ccagccaatc acatccatca aactggagat agtgacctcc aaaagtggtg 900

[0186] gtcaggcagg ggatcagatg ttatggtcgg caagagggag cctagcagtg acgatccatg 960

[0187] gtggcaacta tccaggggcc ctccgtcccg tcacgctagt ggcctacgaa agagtggcaa 1020

[0188] caggatccgt cgttacggtc gctggggtga gcaacttcga gctgatccca aatcctgaac 1080

[0189] tagcaaagaa cctggttaca gaatacggcc gatttgaccc aggagccatg aactacacaa 1140

[0190] aattgatact gagtgagagg gaccgtcttg gcatcaagac cgtctggcca acaagggagt 1200

[0191] acactgactt tcgtgaatac ttcatggagg tggccgacct caactctccc ctgaagattg 1260

[0192] caggagcatt cggcttcaaa gacataatcc gggccataag gaggatagct gtgccggtgg 1320

[0193] tctccacatt gttcccacct gccgctcccc tagcccatgc aattggggaa ggtgtagact 1380

[0194] acctgctggg cgatgaggca caggctgctt caggaactgc tcgagccgcg tcaggaaaag 1440

[0195] caagagctgc ctcaggccgc ataaggcagc tgactctcgc cgccgacaag gggtacgagg 1500

[0196] tagtcgcgaa tctattccag gtgccccaga atcccgtagt cgacgggatt cttgcttcac 1560

[0197] ctggggtact ccgcggtgca cacaacctcg actgcgtgtt aagagagggt gccacgctat 1620

[0198] tccctgtggt tattacgaca gtggaagacg ccatgacacc caaagcattg aacagcaaaa 1680

[0199] tgtttgctgt cattgaaggc gtgcgagaag acctccaacc tccatctcaa agaggatcct 1740

[0200] tcatacgaac tctctctgga cacagagtct atggatatgc tccagatggg gtacttccac 1800

[0201] tggagactgg gagagactac accgttgtcc caatagatga tgtctgggac gacagcatta 1860

[0202] tgctgtccaa agatcccata cctcctattg tgggaaacag tggaaatcta gccatagctt 1920

[0203] acatggatgt gtttcgaccc aaagtcccaa tccatgtggc tatgacggga gccctcaatg 1980

[0204] cttgtggcga gattgagaaa gtaagcttta gaagcaccaa gctcgccact gcacaccgac 2040

[0205] ttggccttaa gttggctggt cccggagcat tcgatgtaaa caccgggccc aactgggcaa 2100

[0206] cgttcatcaa acgtttccct cacaatccac gcgactggga caggctcccc tacctcaacc 2160

[0207] taccatacct tccacccaat gcaggacgcc agtaccacct tgccatggct gcatcagagt 2220

[0208] tcaaagagac ccccgaactc gagagtgccg tcagagcaat ggaagcagca gccaacgtgg 2280

[0209] acccactatt ccaatctgca ctcagtgtgt tcatgtggct ggaagagaat gggattgtga 2340

[0210] ctgacatggc caacttcgca ctcagcgacc cgaacgccca tcggatgcga aattttcttg 2400

[0211] caaacgcacc acaagcaggc agcaagtcgc aaagggccaa gtacgggaca gcaggctacg 2460

[0212] gagtggaggc tcggggcccc acaccagagg aagcacagag ggaaaaagac acacggatct 2520

[0213] caaagaagat ggagaccatg ggcatctact ttgcaacacc agaatgggta gcactcaatg 2580

[0214] ggcaccgagg gccaagcccc ggccagctaa agtactggca gaacacacga gaaataccgg 2640

[0215] acccaaacga ggactatcta gactacgtgc atgcagagaa gagccggttg gcatcagaag 2700

[0216] aacaaatcct aagggcagct acgtcgatct acggggctcc aggacaggca gagccacccc 2760

[0217] aagctttcat agacgaagtt gccaaagtct atgaaatcaa ccatggacgt ggcccaaacc 2820

[0218] aagaacagat gaaagatctg ctcttgactg cgatggagat gaagcatcgc aatcccaggc 2880

[0219] gggctctacc aaagcccaag ccaaaaccca atgctccaac acagagaccc cctggtcggc 2940

[0220] tgggccgctg gatcaggacc gtctctgatg aggaccttga gtgaggctcc tggaagtctc 3000

[0221] ccga 3004

[0222] <210>3

[0223] <211>15186

[0224] <212>DNA

[0225] <213> 新城疫病毒 (NDV)

[0226] <400>3

[0227] accaaacaga gaatccgtga gttacgataa aaggcgaagg agcaattgaa gtcgcacggg 60

[0228] tagaaggtgt gaatctcgag tgcgagcccg aagcacaaac tcgagaaagc cttctgccaa 120

[0229] catgtcttcc gtatttgatg agtacgaaca gctcctcgcg gctcagactc gccccaatgg 180

[0230] agctcatgga gggggagaaa aagggagtac cttaaaagta gacgtcccgg tattcactct 240

[0231] taacagtgat gacccagaag atagatggag ctttgtggta ttctgcctcc ggattgctgt 300

[0232] tagcgaagat gccaacaaac cactcaggca aggtgctctc atatctcttt tatgctccca 360

[0233] ctcacaggta atgaggaacc atgttgccat tgcagggaaa cagaatgaag ccacattggc 420

[0234] cgtgcttgag attgatggct ttgccaacgg cacgccccag ttcaacaata ggagtggagt 480

[0235] gtctgaagag agagcacaga gatttgcgat gatagcagga tctctccctc gggcatgcag 540

[0236] caacggaacc ccgttcgtca cagccggggc agaagatgat gcaccagaag acatcaccga 600

[0237] taccctggag aggatcctct ctatccaggc tcaagtatgg gtcacagtag caaaagccat 660

[0238] gactgcgtat gagactgcag atgagtcgga aacaaggcga atcaataagt atatgcagca 720

[0239] aggcagggtc caaaagaaat acatcctcta ccccgtatgc aggagcacaa tccaactcac 780

[0240] gatcagacag tctcttgcag tccgcatctt tttggttagc gagctcaaga gaggccgcaa 840

[0241] cacggcaggt ggtacctcta cttattataa cctggtaggg gacgtagact catacatcag 900

[0242] gaataccggg cttactgcat tcttcttgac actcaagtac ggaatcaaca ccaagacatc 960

[0243] agcccttgca cttagtagcc tctcaggcga catccagaag atgaagcagc tcatgcgttt 1020

[0244] gtatcggatg aaaggagata atgcgccgta catgacatta cttggtgata gtgaccagat 1080

[0245] gagctttgcg cctgccgagt atgcacaact ttactccttt gccatgggta tggcatcagt 1140

[0246] cctagataaa ggtactggga aataccaatt tgccagggac tttatgagca catcattctg 1200

[0247] gagacttgga gtagagtacg ctcaggctca gggaagtagc attaacgagg atatggctgc 1260

[0248] cgagctaaag ctaaccccag cagcaatgaa gggcctggca gctgctgccc aacgggtctc 1320

[0249] cgacgatacc agcagcatat acatgcctac tcaacaagtc ggagtcctca ctgggcttag 1380

[0250] cgagggggggg tcccaagctc tacaaggcgg atcgaataga tcgcaagggc aaccagaagc 1440

[0251] cggggatggg gagacccaat tcctggatct gatgagagcg gtagcaaata gcatgaggga 1500

[0252] ggcgccaaac tctgcacagg gcactcccca atcggggcct cccccaactc ctgggccatc 1560

[0253] ccaagataac gacaccgact gggggtattg atggacaaaa cccagcctgc ttccacaaaa 1620

[0254] acatcccaat gccctcaccc gtagtcgacc cctcgatttg cggctctata tgaccacacc 1680

[0255] ctcaaacaaa catccccctc tttcctccct ccccctgctg tacaactccg cacgccctag 1740

[0256] ataccacagg cacaatgcgg ctcactaaca atcaaaacag agccgaggga attagaaaaa 1800

[0257] agtacgggta gaagagggat attcagagat cagggcaagt ctcccgagtc tctgctctct 1860

[0258] cctctacctg atagaccagg acaaacatgg ccacctttac agatgcagag atcgacgagc 1920

[0259] tatttgagac aagtggaact gtcattgaca acataattac agcccagggt aaaccagcag 1980

[0260] agactgttgg aaggagtgca atcccacaag gcaagaccaa ggtgctgagc gcagcatggg 2040

[0261] agaagcatgg gagcatccag ccaccggcca gtcaagacaa ccccgatcga caggacagat 2100

[0262] ctgacaaaca accatccaca cccgagcaaa cgaccccgca tgacagcccg ccggccacat 2160

[0263] ccgccgacca gccccccacc caggccacag acgaagccgt cgacacacag ttcaggaccg 2220

[0264] gagcaagcaa ctctctgctg ttgatgcttg acaagctcag caataaatcg tccaatgcta 2280

[0265] aaaagggccc atggtcgagc ccccaagagg ggaatcacca acgtccgact caacagcagg 2340

[0266] ggagtcaacc cagtcgcgga aacagtcagg aaagaccgca gaaccaagtc aaggccgccc 2400

[0267] ctggaaacca gggcacagac gtgaacacag catatcatgg acaatgggag gagtcacaac 2460

[0268] tatcagctgg tgcaacccct catgctctcc gatcaaggca gagccaagac aataccccttg 2520

[0269] tatctgcgga tcatgtccag ccacctgtag actttgtgca agcgatgatg tctatgatgg 2580

[0270] aggcgatatc acagagagta agtaaggttg actatcagct agatcttgtc ttgaaacaga 2640

[0271] catcctccat ccctatgatg cggtccgaaa tccaacagct gaaaacatct gttgcagtca 2700

[0272] tggaagccaa cttgggaatg atgaagattc tggatcccgg ttgtgccaac atttcatctc 2760

[0273] tgagtgatct acgggcagtt gcccgatctc acccggtttt agtttcaggc cctggagacc 2820

[0274] cctctcccta tgtgacacaa ggaggcgaaa tggcacttaa taaactttcg caaccagtgc 2880

[0275] cacatccatc tgaattgatt aaacccgcca ctgcatgcgg gcctgatata ggagtggaaa 2940

[0276] aggacactgt ccgtgcattg atcatgtcac gcccaatgca cccgagttct tcagccaagc 3000

[0277] tcctaagcaa gttagatgca gccgggtcga tcgaggaaat caggaaaatc aagcgccttg 3060

[0278] ctctaaatgg ctaattacta ctgccacacg tagcgggtcc ctgtccactc ggcatcacac 3120

[0279] ggaatctgca ccgagttccc ccccgcagac ccaaggtcca actctccaag cggcaatcct 3180

[0280] ctctcgcttc ctcagcccca ctgaatggtc gcgtaaccgt aattaatcta gctacattta 3240

[0281] agattaagaa aaaatacggg tagaattgga gtgccccaat tgtgccaaga tggactcatc 3300

[0282] taggacaatt gggctgtact ttgattctgc ccattcttct agcaacctgt tagcatttcc 3360

[0283] gatcgtccta caaggcacag gagatgggaa gaagcaaatc gccccgcaat ataggatcca 3420

[0284] gcgccttgac ttgtggactg atagtaagga ggactcagta ttcatcacca cctatggatt 3480

[0285] catctttcaa gttgggaatg aagaagccac tgtcggcatg atcgatgata aacccaagcg 3540

[0286] cgagttactt tccgctgcga tgctctgcct aggaagcgtc ccaaataccg gagaccttat 3600

[0287] tgagctggca agggcctgtc tcactatgat agtcacatgc aagaagagtg caactaatac 3660

[0288] tgagagaatg gttttctcag tagtgcaggc accccaagtg ctgcaaagct gtagggttgt 3720

[0289] ggcaaacaaa tactcatcag tgaatgcagt caagcacgtg aaagcgccag agaagattcc 3780

[0290] cgggagtgga accctagaat acaaggtgaa ctttgtctcc ttgactgtgg taccgaagaa 3840

[0291] ggatgtctac aagatcccag ctgcagtatt gaaggtttct ggctcgagtc tgtacaatct 3900

[0292] tgcgctcaat gtcactatta atgtggaggt agacccgagg agtcctttgg ttaaatcttt 3960

[0293] gtctaagtct gacagcggat actatgctaa cctcttcttg catattggac ttatgaccac 4020

[0294] cgtagatagg aaggggaaga aagtgacatt tgacaagctg gaaaagaaaa taaggagcct 4080

[0295] tgatctatct gtcgggctca gtgatgtgct cgggccttcc gtgttggtaa aagcaagagg 4140

[0296] tgcacggact aagcttttgg cacctttctt ctctagcagt gggacagcct gctatcccat 4200

[0297] agcaaatgct tctcctcagg tggccaagat actctggagt caaaccgcgt gcctgcggag 4260

[0298] cgttaaaatc attatccaag caggtaccca acgcgctgtc gcagtgaccg ccgaccacga 4320

[0299] ggttacctct actaagctgg agaaggggca cacccttgcc aaatacaatc cttttaagaa 4380

[0300] ataagctgcg tctctgagat tgcgctccgc ccactcaccc agatcatcat gacacaaaaa 4440

[0301] actaatctgt cttgattatt tacagttagt ttacctgtct atcaagttag aaaaaacacg 4500

[0302] ggtagaagat tctggatccc ggttggcgcc ctccaggtgc aagatgggct ccagaccttc 4560

[0303] taccaagaac ccagcaccta tgatgctgac tatccgggtt gcgctggtac tgagttgcat 4620

[0304] ctgtccggca aactccattg atggcaggcc tcttgcagct gcaggaattg tggttacagg 4680

[0305] agacaaagcc gtcaacatat acacctcatc ccagacagga tcaatcatag ttaagctcct 4740

[0306] cccgaatctg cccaaggata aggaggcatg tgcgaaagcc cccttggatg catacaacag 4800

[0307] gacattgacc actttgctca ccccccttgg tgactctatc cgtaggatac aagagtctgt 4860

[0308] gactacatct ggaggggggа gacaggggcg ccttataggc gccattattg gcggtgtggc 4920

[0309] tcttggggtt gcaactgccg cacaaataac agcggccgca gctctgatac aagccaaaca 4980

[0310] aaatgctgcc aacatcctcc gacttaaaga gagcattgcc gcaaccaatg aggctgtgca 5040

[0311] tgaggtcact gacggattat cgcaactagc agtggcagtt gggaagatgc agcagtttgt 5100

[0312] taatgaccaa tttaataaaa cagctcagga attagactgc atcaaaattg cacagcaagt 5160

[0313] tggtgtagag ctcaacctgt acctaaccga attgactaca gtattcggac cacaaatcac 5220

[0314] ttcacctgct ttaaacaagc tgactattca ggcactttac aatctagctg gtggaaatat 5280

[0315] ggattactta ttgactaagt taggtgtagg gaacaatcaa ctcagctcat taatcggtag 5340

[0316] cggcttaatc accggtaacc ctattctata cgactcacag actcaactct tgggtataca 5400

[0317] ggtaactcta ccttcagtcg ggaacctaaa taatatgcgt gccacctact tggaaacctt 5460

[0318] atccgtaagc acaaccaggg gatttgcctc ggcacttgtc cccaaagtgg tgacacaggt 5520

[0319] cggttctgtg atagaagaac ttgacacctc atactgtata gaaactgact tagatttata 5580

[0320] ttgtacaaga atagtaacgt tccctatgtc ccctggtatt tattcctgct tgagcggcaa 5640

[0321] tacgtcggcc tgtatgtact caaagaccga aggcgcactt actacaccat acatgactat 5700

[0322] caaaggttca gtcatcgcca actgcaagat gacaacatgt agatgtgtaa acccccccggg 5760

[0323] tatcatatcg caaaactatg gagaagccgt gtctctaata gataaacaat catgcaatgt 5820

[0324] tttatcctta ggcgggataa ctttaaggct cagtggggaa ttcgatgtaa cttatcagaa 5880

[0325] gaatatctca atacaagatt ctcaagtaat aataacaggc aatcttgata tctcaactga 5940

[0326] gcttgggaat gtcaacaact cgatcagtaa tgctttgaat aagttagagg aaagcaacag 6000

[0327] aaaactagac aaagtcaatg tcaaactgac tagcacatct gctctcatta cctatatcgt 6060

[0328] tttgactatc atatctcttg tttttggtat acttagcctg attctagcat gctacctaat 6120

[0329] gtacaagcaa aaggcgcaac aaaagacctt attatggctt gggaataata ctctagatca 6180

[0330] gatgagagcc actacaaaaa tgtgaacaca gatgaggaac gaaggtttcc ctaatagtaa 6240

[0331] tttgtgtgaa agttctggta gtctgtcagt tcagagagtt aagaaaaaac taccggttgt 6300

[0332] agatgaccaa aggacgatat acgggtagaa cggtaagaga ggccgcccct caattgcgag 6360

[0333] ccaggcttca caacctccgt tctaccgctt caccgacaac agtcctcaat catggaccgc 6420

[0334] gccgttagcc aagttgcgtt agagaatgat gaaagagagg caaaaaatac atggcgcttg 6480

[0335] atattccgga ttgcaatctt attcttaaca gtagtgacct tggctatatc tgtagcctcc 6540

[0336] cttttatata gcatgggggc tagcacacct agcgatcttg taggcatacc gactaggatt 6600

[0337] tccagggcag aagaaaagat tacatctaca cttggttcca atcaagatgt agtagatagg 6660

[0338] atatataagc aagtggccct tgagtctccg ttggcattgt taaatactga gaccacaatt 6720

[0339] atgaacgcaa taacatctct ctcttatcag attaatggag ctgcaaacaa cagtgggtgg 6780

[0340] ggggcaccta tccatgaccc agattatata ggggggatag gcaaagaact cattgtagat 6840

[0341] gatgctagtg atgtcacatc attctatccc tctgcatttc aagaacatct gaattttatc 6900

[0342] ccggcgccta ctacaggatc aggttgcact cgaataccct catttgacat gagtgctacc 6960

[0343] cattactgct acacccataa tgtaatattg tctggatgca gagatcactc acattcatat 7020

[0344] cagtatttag cacttggtgt gctccggaca tctgcaacag ggagggtatt cttttctact 7080

[0345] ctgcgttcca tcaacctgga cgacacccaa aatcggaagt cttgcagtgt gagtgcaact 7140

[0346] cccctgggtt gtgatatgct gtgctcgaaa gtcacggaga cagaggaaga agattataac 7200

[0347] tcagctgtcc ctacgcggat ggtacatggg aggttagggt tcgacggcca gtaccacgaa 7260

[0348] aaggacctag atgtcacaac attattcggg gactgggtgg ccaactaccc aggagtaggg 7320

[0349] ggtggatctt ttattgacag ccgcgtatgg ttctcagtct acggagggtt aaaacccaat 7380

[0350] tcacccagtg acactgtaca ggaagggaaa tatgtgatat acaagcgata caatgacaca 7440

[0351] tgcccagatg agcaagacta ccagattcga atggccaagt cttcgtataa gcctggacgg 7500

[0352] tttggtggga aacgcataca gcaggctatc ttatctatca aggtgtcaac atccttaggc 7560

[0353] gaagacccgg tactgactgt accgcccaac acagtcacac tcatgggggc cgaaggcaga 7620

[0354] attctcacag tagggacatc tcatttcttg tatcaacgag ggtcatcata cttctctccc 7680

[0355] gcgttattat atcctatgac agtcagcaac aaaacagcca ctcttcatag tccttataca 7740

[0356] ttcaatgcct tcactcggcc aggtagtatc ccttgccagg cttcagcaag atgccccaac 7800

[0357] tcgtgtgtta ctggagtcta tacagatcca tatcccctaa tcttctatag aaaccacacc 7860

[0358] ttgcgagggg tattcgggac aatgcttgat ggtgtacaag caagacttaa ccctgcgtct 7920

[0359] gcagtattcg atagcacatc ccgcagtcgc attactcgag tgagttcaag cagtaccaaa 7980

[0360] gcagcataca caacatcaac ttgttttaaa gtggtcaaga ctaataagac ctattgtctc 8040

[0361] agcattgctg aaatatctaa tactctcttc ggagaattca gaatcgtccc gttactagtt 8100

[0362] gagatcctca aagatgacgg ggttagagaa gccaggtctg gctagttgag tcaattataa 8160

[0363] aggagttgga aagatggcat tgtatcacct atcttctgcg acatcaagaa tcaaaccgaa 8220

[0364] tgccggcgcg tgctcgaatt ccatgttgcc agttgaccac aatcagccag tgctcatgcg 8280

[0365] atcagattaa gccttgtcat taatctcttg attaagaaaa aatgtaagtg gcaatgagat 8340

[0366] acaaggcaaa acagctcatg gtaaataata cgggtaggac atggcgagct ccggtcctga 8400

[0367] aagggcagag catcagatta tcctaccaga gccacacctg tcttcaccat tggtcaagca 8460

[0368] caaactactc tattactgga aattaactgg gctaccgctt cctgatgaat gtgacttcga 8520

[0369] ccacctcatt ctcagccgac aatggaaaaa aatacttgaa tcggcctctc ctgatactga 8580

[0370] gagaatgata aaactcggaa gggcagtaca ccaaactctt aaccacaatt ccagaataac 8640

[0371] cggagtgctc caccccaggt gtttagaaca actggctaat attgaggtcc cagattcaac 8700

[0372] caacaaattt cggaagattg agaagaagat ccaaattcac aacacgagat atggagaact 8760

[0373] gttcacaagg ctgtgtacgc atatagagaa gaaactgctg gggtcatctt ggtctaacaa 8820

[0374] tgtcccccgg tcagaggagt tcagcagcat tcgtacggat ccggcattct ggtttcactc 8880

[0375] aaaatggtcc acagccaagt ttgcatggct ccatataaaa cagatccaga ggcatctgat 8940

[0376] ggtggcagct aagacaaggt ctgcggccaa caaattggtg atgctaaccc ataaggtagg 9000

[0377] ccaagtcttt gtcactcctg aacttgtcgt tgtgacgcat acgaatgaga acaagttcac 9060

[0378] atgtcttacc caggaacttg tattgatgta tgcagatatg atggagggca gagatatggt 9120

[0379] caacataata tcaaccacgg cggtgcatct cagaagctta tcagagaaaa ttgatgacat 9180

[0380] tttgcggtta atagacgctc tggcaaaaga cttgggtaat caagtctacg atgttgtatc 9240

[0381] actaatggag ggatttgcat acggagctgt ccagctactc gagccgtcag gtacatttgc 9300

[0382] aggagatttc ttcgcattca acctgcagga gcttaaagac attctaattg gcctcctccc 9360

[0383] caatgatata gcagaatccg tgactcatgc aatcgctact gtattctctg gtttagaaca 9420

[0384] gaatcaagca gctgagatgt tgtgtctgtt gcgtctgtgg ggtcacccac tgcttgagtc 9480

[0385] ccgtattgca gcaaaggcag tcaggagcca aatgtgcgca ccgaaaatgg tagactttga 9540

[0386] tatgatcctt caggtactgt ctttcttcaa gggaacaatc atcaacgggt acagaaagaa 9600

[0387] gaatgcaggt gtgtggccgc gagtcaaagt ggatacaata tatgggaagg tcattgggca 9660

[0388] actacatgca gattcagcag agatttcaca cgatatcatg ttgagagagt ataagagttt 9720

[0389] atctgcactt gaatttgagc catgtataga atatgaccct gtcaccaacc tgagcatgtt 9780

[0390] cctaaaagac aaggcaatcg cacaccccaa cgataattgg cttgcctcgt ttaggcggaa 9840

[0391] ccttctctcc gaagaccaga agaaacatgt aaaagaagca acttcgacta atcgcctctt 9900

[0392] gatagagttt ttagagtcaa atgattttga tccatataaa gagatggaat atctgacgac 9960

[0393] ccttgagtac cttagagatg acaatgtggc agtatcatac tcgctcaagg agaaggaagt 10020

[0394] gaaagttaat ggacggatct tcgctaagct gacaaagaag ttaaggaact gtcaggtgat 10080

[0395] ggcggaaggg atcctagccg atcagattgc acctttcttt cagggaaatg gagtcattca 10140

[0396] ggatagcata tccttgacca agagtatgct agcgatgagt caactgtctt ttaacagcaa 10200

[0397] taagaaacgt atcactgact gtaaagaaag agtatcttca aaccgcaatc atgatccgaa 10260

[0398] aagcaagaac cgtcggagag ttgcaacctt cataacaact gacctgcaaa agtactgtct 10320

[0399] taattggaga tatcagacaa tcaaattgtt cgctcatgcc atcaatcagt tgatgggcct 10380

[0400] acctcacttc ttcgaatgga ttcacctaag actgatggac actacgatgt tcgtaggaga 10440

[0401] ccctttcaat cctccaagtg accctactga ctgtgacctc tcaagagtcc ctaatgatga 10500

[0402] catatatatt gtcagtgcca gaggggtat cgaaggatta tgccagaagc tatggacaat 10560

[0403] gatctcaatt gctgcaatcc aacttgctgc agctagatcg cattgtcgtg ttgcctgtat 10620

[0404] ggtacagggt gataatcaag taatagcagt aacgagagag gtaagatcag acgactctcc 10680

[0405] ggagatggtg ttgacacagt tgcatcaagc cagtgataat ttcttcaagg aattaattca 10740

[0406] tgtcaatcat ttgattggcc ataatttgaa ggatcgtgaa accatcaggt cagacacatt 10800

[0407] cttcatatac agcaaacgaa tcttcaaaga tggagcaatc ctcagtcaag tcctcaaaaa 10860

[0408] ttcatctaaa ttagtgctag tgtcaggtga tctcagtgaa aacaccgtaa tgtcctgtgc 10920

[0409] caacattgcc tctactgtag cacggctatg cgagaacggg cttcccaaag acttctgtta 10980

[0410] ctatttaaac tatataatga gttgtgtgca gacatacttt gactctgagt tctccatcac 11040

[0411] caacaattcg caccccgatc ttaatcagtc gtggattgag gacatctctt ttgtgcactc 11100

[0412] atatgttctg actcctgccc aattaggggg actgagtaac cttcaatact caaggctcta 11160

[0413] cactagaaat atcggtgacc cggggactac tgcttttgca gagatcaagc gactagaagc 11220

[0414] agtgggatta ctgagtccta acattatgac taatatctta actaggccgc ctgggaatgg 11280

[0415] agattgggcc agtctgtgca acgacccata ctctttcaat tttgagactg ttgcaagccc 11340

[0416] aaatattgtt cttaagaaac atacgcaaag agtcctattt gaaacttgtt caaatccctt 11400

[0417] attgtctgga gtgcacacag aggataatga ggcagaagag aaggcattgg ctgaattctt 11460

[0418] gcttaatcaa gaggtgattc atccccgcgt tgcgcatgcc atcatggagg caagctctgt 11520

[0419] aggtaggaga aagcaaattc aagggcttgt tgacacaaca aacaccgtaa ttaagattgc 11580

[0420] gcttactagg aggccattag gcatcaagag gctgatgcgg atagtcaatt attctagcat 11640

[0421] gcatgcaatg ctgtttagag acgatgtttt ttcctccagt agatccaacc acccccttagt 11700

[0422] ctcttctaat atgtgttctc tgacactggc agactatgca cggaatagaa gctggtcacc 11760

[0423] tttgacggga ggcaggaaaa tactgggtgt atctaatcct gatacgatag aactcgtaga 11820

[0424] gggtgagatt cttagtgtaa gcggagggtg tacaagatgt gacagcggag atgaacaatt 11880

[0425] tacttggttc catcttccaa gcaatataga attgaccgat gacaccagca agaatcctcc 11940

[0426] gatgagggta ccatatctcg ggtcaaagac acaggagagg agagctgcct cacttgcaaa 12000

[0427] aatagctcat atgtcgccac atgtaaaggc tgccctaagg gcatcatccg tgttgatctg 12060

[0428] ggcttatggg gataatgaag taaattggac tgctgctctt acgattgcaa aatctcggtg 12120

[0429] taatgtaaac ttagagtatc ttcggttact gtccccttta cccacggctg ggaatcttca 12180

[0430] acatagacta gatgatggta taactcagat gacattcacc cctgcatctc tctacaggtg 12240

[0431] tcaccttaca ttcacatatc caatgattct caaaggctgt tcactgaaga aggagtcaaa 12300

[0432] gaggggaatg tggtttacca acagagtcat gctcttgggt ttatctctaa tcgaatcgat 12360

[0433] ctttccaatg acaacaacca ggacatatga tgagatcaca ctgcacctac atagtaaatt 12420

[0434] tagttgctgt atcagagaag cacctgttgc ggttcctttc gagctacttg gggtggtacc 12480

[0435] ggaactgagg acagtgacct caaataagtt tatgtatgat cctagccctg tatcggaggg 12540

[0436] agactttgcg agacttgact tagctatctt caagagttat gagcttaatc tggagtcata 12600

[0437] tcccacgata gagctaatga acattctttc aatatccagc gggaagttga ttggccagtc 12660

[0438] tgtggtttct tatgatgaag atacctccat aaagaatgac gccataatag tgtatgacaa 12720

[0439] tacccgaaat tggatcagtg aagctcagaa ttcagatgtg gtccgcctat ttgaatatgc 12780

[0440] agcacttgaa gtgctcctcg actgttctta ccaactctat tacctgagag taagaggcct 12840

[0441] agacaatatt gtcttatata tgggtgattt atacaagaat atgccaggaa ttctactttc 12900

[0442] caacattgca gctacaatat ctcatcccgt cattcattca aggttacatg cagtgggcct 12960

[0443] ggtcaaccat gacggatcac accaacttgc agatacggat tttatcgaaa tgtctgcaaa 13020

[0444] actattagta tcttgcaccc gacgtgtgat ctccggctta tattcaggaa ataagtatga 13080

[0445] tctgctgttc ccatctgtct tagatgataa cctgaatgag aagatgcttc agctgatatc 13140

[0446] ccggttatgc tgtctgtaca cggtactctt tgctacaaca agagaaatcc cgaaaataag 13200

[0447] aggcttaact gcagaagaga aatgttcaat actcactgag tatttactgt cggatgctgt 13260

[0448] gaaaccatta cttagccccg atcaagtgag ctctatcatg tctcctaaca taattacatt 13320

[0449] cccagctaat ctgtactaca tgtctcggaa gagcctcaat ttgatcaggg aaagggagga 13380

[0450] cagggatact atcctggcgt tgttgttccc ccaagagcca ttattagagt tcccttctgt 13440

[0451] gcaagatatt ggtgctcgag tgaaagatcc attcacccga caacctgcgg catttttgca 13500

[0452] agagttagat ttgagtgctc cagcaaggta tgacgcattc acacttagtc agattcatcc 13560

[0453] tgaactcaca tctccaaatc cggaggaaga ctacttagta cgatacttgt tcagagggat 13620

[0454] agggactgca tcttcctctt ggtataaggc atctcatctc ctttctgtac ccgaggtaag 13680

[0455] atgtgcaaga cacgggaact ccttatactt agctgaaggg agcggagcca tcatgagtct 13740

[0456] tctcgaactg catgtaccac atgaaactat ctattacaat acgctctttt caaatgagat 13800

[0457] gaacccccccg caacgacatt tcgggccgac cccaactcag tttttgaatt cggttgttta 13860

[0458] taggaatcta caggcggagg taacatgcaa agatggattt gtccaagagt tccgtccatt 13920

[0459] atggagagaa aatacagagg aaagtgacct gacctcagat aaagcagtgg ggtatattac 13980

[0460] atctgcagtg ccctacagat ctgtatcatt gctgcattgt gacattgaaa ttcctccagg 14040

[0461] gtccaatcaa agcttactag atcaactagc tatcaattta tctctgattg ccatgcattc 14100

[0462] tgtaagggag ggcggggtag taatcatcaa agtgttgtat gcaatgggat actactttca 14160

[0463] tctactcatg aacttgtttg ctccgtgttc cacaaaagga tatattctct ctaatggtta 14220

[0464] tgcatgtcga ggagatatgg agtgttacct ggtatttgtc atgggttacc tgggcgggcc 14280

[0465] tacatttgta catgaggtgg tgaggatggc aaaaactctg gtgcagcggc acggtacgct 14340

[0466] cttgtctaaa tcagatgaga tcacactgac caggttattc acctcacagc ggcagcgtgt 14400

[0467] gacagacatc ctatccagtc ctttaccaag attaataaag tacttgagga agaatattga 14460

[0468] cactgcgctg attgaagccg ggggacagcc cgtccgtcca ttctgtgcgg agagtctggt 14520

[0469] gagcacgcta gcgaacataa ctcagataac ccagattatc gctagtcaca ttgacacagt 14580

[0470] tatccggtct gtgatatata tggaagctga gggtgatctc gctgacacag tatttctatt 14640

[0471] taccccttac aatctctcta ctgacgggaa aaagaggaca tcacttatac agtgcacgag 14700

[0472] acagatccta gaggttacaa tactaggtct tagagtcgaa aatctcaata aaataggcga 14760

[0473] tataatcagc ctagtgctta aaggcatgat ctccatggag gaccttatcc cactaaggac 14820

[0474] atacttgaag catagtacct gccctaaata tttgaaggct gtcctaggta ttaccaaact 14880

[0475] caaagaaatg tttacagaca cttctgtatt gtacttgact cgtgctcaac aaaaattcta 14940

[0476] catgaaaact ataggcaatg cagtcaaagg atattacagt aactgtgact cttaacgaaa 15000

[0477] atcacatatt aataggctcc ttttttggcc aattgtattc ttgttgattt aatcatatta 15060

[0478] tgttagaaaa aagttgaacc ctgactcctt aggactcgaa ttcgaactca aataaatgtc 15120

[0479] ttaaaaaaag gttgcgcaca attattcttg agtgtagtct cgtcattcac caaatctttg 15180

[0480] tttggt 15186

[0481] <210>4

[0482] <211>1611

[0483] <212>DNA

[0484] <213> 传染性支气管炎病毒 (IBV)

[0485] <400>4

[0486] atgttggtaa cacctctttt actagtgact cttttgtgtg cactatgtag tgctgctttg 60

[0487] tatgacagta gttcttacgt gtactactac caaagtgcct tcagaccacc tgatggttgg 120

[0488] catttacatg ggggtgcgta tgcggttgtt aatatttcta gtgaatctaa taatgcaggc 180

[0489] tcttcatctg ggtgtactgt tggtattatt catggtggtc gtgttgttaa tgcttcttct 240

[0490] atagctatga cggcaccgtc atcaggtatg gcttggtcta gcagtcagtt ttgtactgca 300

[0491] tactgtaact tttcagatac tacagtgttt gttacacatt gttacaaaca tgttgggtgt 360

[0492] cctataactg gcatgcttca acagcattct atacgtgttt ctgctatgaa aaatggccag 420

[0493] ctttttttata atttaacagt tagtgtagct aagtacccta cttttaaatc atttcagtgt 480

[0494] gttaataatt taacatccgt atatttaaat ggtgatcttg tttacacctc taatgagacc 540

[0495] acagatgtta catctgcagg tgtttatttt aaagctggtg gacctataac ttataaagtt 600

[0496] atgagagaag ttagagccct ggcttatttt gttaatggta ctgcacaaga tgttattttg 660

[0497] tgtgatgggt cacctagagg cttgttagca tgccagtata atactggcaa tttttcagat 720

[0498] ggcttttatc cttttactaa tagtagttta gttaagcaga agtttattgt ctatcgtgaa 780

[0499] aatagtgtta atactacttt tacgttacac aatttcactt ttcataatga gactggcgcc 840

[0500] aacccaaatc ctagtggtgt ccagaatatt caaacttacc aaacacaaac agctcagagt 900

[0501] ggttattata attttaattt ttcctttctg agtagttttg tttataagga gtctaatttt 960

[0502] atgtatggat cttatcaccc aagttgtaat tttagactag aaactattaa taatggtttg 1020

[0503] tggtttaatt cactttcagt ttcaattgct tacggtcctc ttcaaggtgg ttgcaagcaa 1080

[0504] tctgtcttta gtggtagagc aacctgttgt tatgcttact catatggagg tcctttgctg 1140

[0505] tgtaaaggtg tttattcagg tgagttagat cataattttg aatgtggact gttagtttat 1200

[0506] gttactaaga gcggtggctc tcgtatacaa acagccactg aaccgccagt tataactcaa 1260

[0507] cacaattata ataatattac tttaaatact tgtgttgatt ataatatata tggcagaact 1320

[0508] ggccaaggtt ttattactaa tgtaaccgac tcagctgtta gttataatta tctagcagac 1380

[0509] gcaggtttgg ctattttaga tacatctggt tccatagaca tctttgtcgt acaaagtgaa 1440

[0510] tatggtctta attattataa ggttaaccct tgcgaagatg tcaaccagca gtttgtagtt 1500

[0511] tctggtggta aattagtagg tattcttact tcacgtaatg agactggttc ccagcttctt 1560

[0512] gagaatcagt tttacatcaa aatcactaat ggaacacgtc gttttagacg t 1611

[0513] <210>5

[0514] <211>960

[0515] <212>DNA

[0516] <213> 传染性喉气管炎病毒 (ILTV)

[0517] <400>5

[0518] ggaggggaga gagacaactt cagctcgaag tctgaagaga catcatgagc ggcttcagta 60

[0519] acataggatc gattgccacc gtttccctag tatgctcgct tttgtgcgca tctgtattag 120

[0520] gggcgccggt actggacggg ctcgagtcga gcccttccc gttcgggggc aaaattatag 180

[0521] cccaggcgtg caaccgcacc acgattgagg tgacggtccc gtggagcgac tactctggtc 240

[0522] gcaccgaagg agtgtcagtc gaggtgaaat ggttctacgg gaatagtaat cccgaaagct 300

[0523] tcgtgttcgg ggtggatagc gaaacgggca gtggacacga ggacctgtct acgtgctggg 360

[0524] ctctaatcca taatctgaac gcgtctgtgt gcagggcgtc tgacgccggg atacctgatt 420

[0525] tcgacaagca gtgcgaaaaa gtgcagagaa gactgcgctc cggggtggaa cttggtagtt 480

[0526] acgtgtctgg caatggatcc ctggtgctgt acccagggat gtacgatgcc ggcatctacg 540

[0527] cctaccagct ctcagtgggt gggaagggat ataccgggtc tgtttatcta gacgtcggac 600

[0528] caaaccccgg atgccacgac cagtatgggt acacctatta cagcctggcc gacgaggcgt 660

[0529] cagacttatc atcttatgac gtagcctcgc ccgaactcga cggtcctatg gaggaagatt 720

[0530] attccaattg tctagacatg cccccgctac gcccatggac aaccgtttgt tcgcatgacg 780

[0531] tcgaggagca ggaaaacgcc acggacgagc tttacctatg ggacgaggaa tgcgccggtc 840

[0532] cgctggacga gtacgtcgac gaaaggtcag agacgatgcc caggatggtt gtcttttcac 900

[0533] cgccctctac gctccagcag tagccacccg agagtgtttt ttgtgagcgc ccacgcaaca 960

[0534] <210>6

[0535] <211>810

[0536] <212>DNA

[0537] <213> 禽脑脊髓炎病毒 (AEV)

[0538] <400>6

[0539] gggaaagagg atgaaggagg atttttcagt gtgcctgaag tggagcaaca tgttgttgag 60

[0540] gataaggaac cacagggacc tttgcacgtg acacctttg gcgctgttaa agctatggag 120

[0541] gacccccaat tggccaggaa aacacctggc acattccctg aattagctcc tggtaaacct 180

[0542] cgacatacag tggaccacat ggatctgtat aagttcatgg ggcgtgccca ttacttgtgg 240

[0543] ggacatgaat tcaccaaaac tgacatgcag tacacattcc agataccatt aagtcccatt 300

[0544] aaagagggtt ttgtgacggg tacacttagg tggtttttaa gtctttcca actgtatcgt 360

[0545] ggttctctcg acattaccat gacatttgca ggaaaaacta atgtggatgg cattgtgtac 420

[0546] tttgtgcctg agggtgttgc gatagagact gagagggagg agcagacccc tttgctcaca 480

[0547] ttgaactata aaacatcggt aggtgccatt aggtttaata ctggacaaac tacgaatgtc 540

[0548] cagtttagga tccctttcta cacgccactg gaacacatcg caacccattc taaaaatgcg 600

[0549] atggattcag tcttgggggc aatcacaacc cagatcacta actatagtgc tcaggatgag 660

[0550] tatttgcagg ttacctacta catcagtttc aatgaagatt cacagttttc tgttcccaga 720

[0551] gcggtgccag tggtcagctc attcactgac acatctagca aaacagtgat gaatacatat 780

[0552] tggcttgatg atgacgagtt ggtagaagag 810

[0553] <210>7

[0554] <211>726

[0555] <212>DNA

[0556] <213> 禽脑脊髓炎病毒 (AEV)

[0557] <400>7

[0558] atgagcaaac tattttctac tgtaggcagg actgttgatg aggttttgtc tgtgctcaat 60

[0559] gatgaggata ctgaatctta tgctggccct gatcgcactg cagtagttgg cggaggattt 120

[0560] ctgacaacgg tagaccagag ttcagttagc acggctacaa tgggaagttt acaagatgta 180

[0561] cagtacagga ctgcagtcga tattcctggt tctagagtga cacaaggtga gaggttcttc 240

[0562] cttatcgatc agcgtgagtg gaactcaaca cagagtgaat ggcagttatt gggcaagatt 300

[0563] gacatagtaa aagagctgct tgatcagtcg tatgctgttg atggcctttt gaagtaccat 360

[0564] tcttatgcaa ggtttggctt ggatgtcatt gttcagatta atccaacatc attccaggca 420

[0565] gggggcctca tagcagctct cgtaccttat gaccaggttg acattgaatc aattgttgcc 480

[0566] atgaccactt attgccatgg caaggttaat tgcaacataa actacgttgt aaggatgaag 540

[0567] gtgccatata tatacagtcg aggttgttac aaccttagga actcagcata ctccatttgg 600

[0568] atgcttgtga taagagtgtg gtcacggctg cagttgggat ctggcacttc aacacagatt 660

[0569] actatcacca ccttggctag gtttgtggat ttggaactgc atggacttag ccctttggtc 720

[0570] gcacag 726

[0571] <210>8

[0572] <211>735

[0573] <212>DNA

[0574] <213> 禽脑脊髓炎病毒 (AEV)

[0575] <400>8

[0576] atgatgcgca acgaatttcg actgtcgtca tctagcaaca ttgtcaattt ggctaattat 60

[0577] gacgatgcaa gagccaaagt gtctctagcg ctgggacaag aagagtttc cagagactcg 120

[0578] tcaagtaccg ggggggaatt ggtgcatcat ttttcacagt ggacgtccat tccgtgcctt 180

[0579] gccttcactt ttacattccc cggcacggta gggccaggca ctcacatctg gtcaaccacg 240

[0580] gtggaccctt tttcctgtaa cttgagggcg tctagcactg tgcaccccac taacttgagc 300

[0581] tcgattgcgg gtatgttctg tttttggaga ggtgacattg tatttgagtt tcaagtcttt 360

[0582] tgcaccaagt atcattccgg caggttgatg tttgtgtatg tgcctggcga tgaaaacaca 420

[0583] aaaatcagca ccttaactgc aaaacaagca tctactggtc ttactgctgt ttttgatatc 480

[0584] aatggtgtaa attcaacact ggtgtttaga tgccctttca tctctgacac accttacagg 540

[0585] gtgaatccaa cgactcataa gtccctctgg ccttatgcaa ctggcaagct tgtgtgctat 600

[0586] gtctacaata tactgaacgc acctgccagt gtatcaccaa ccctgcccat taatgtgtac 660

[0587] aaaagtgctg cggatctgga gttgtatgca cctgtttatg gggtttctcc caccaacacc 720

[0588] tcaatttttg ttcaa 735

[0589] <210>9

[0590] <211>1500

[0591] <212>DNA

[0592] <213> 禽副流感病毒 (APV)

[0593] <400>9

[0594] gggggtgtg catggtaggg tggggaaggt agccaattcc tgcccattgg gccgaccgta 60

[0595] ccaagagaag tcaacagaag tatagatgca gggcgacatg gagggtagcc gtgataacct 120

[0596] cacagtagat gatgaattaa agacaacatg gaggttagct tatagagttg tatccctcct 180

[0597] attgatggtg agtgccttga taatctctat agtaatcctg acgagagata acagccaaag 240

[0598] cataatcacg gcgatcaacc agtcgtatga cgcagactca aagtggcaaa cagggataga 300

[0599] agggaaaatc acctcaatca tgactgatac gctcgatacc aggaatgcag ctcttctcca 360

[0600] cattccactc cagctcaata cacttgaggc aaacctgttg tccgccctcg gaggttacac 420

[0601] gggaattggc cccggagatc tagagcactg tcgttatccg gttcatgact ccgcttacct 480

[0602] gcatggagtc aatcgattac tcatcaatca aacagctgac tacacagcag aaggcccct 540

[0603] ggatcatgtg aacttcattc cggcaccagt tacgactact ggatgcacaa ggatcccatc 600

[0604] cttttctgta tcatcatcca tttggtgcta tacacacaat gtgattgaaa caggttgcaa 660

[0605] tgaccactca ggtagtaatc aatatatcag tatgggggtg attaagaggg ctggcaacgg 720

[0606] cttaccttac ttctcaacag tcgtgagtaa gtatctgacc gatgggttga atagaaaaag 780

[0607] ctgttccgta gctgcgggat ccgggcattg ttacctcctt tgtagcctag tgtcagagcc 840

[0608] cgaacctgat gactatgtgt caccagatcc cacaccgatg aggttagggg tgctaacaag 900

[0609] ggatgggtct tacactgaac aggtggtacc cgaaagaata tttaagaaca tatggagcgc 960

[0610] aaactaccct ggggtagggt caggtgctat agcaggaaat aaggtgttat tcccatttta 1020

[0611] cggcggagtg aagaatggat caacccctga ggtgatgaat aggggaagat attactacat 1080

[0612] ccaggatcca aatgactatt gccctgaccc gctgcaagat cagatcttaa gggcagaaca 1140

[0613] atcgtattat cctactcgat ttggtaggag gatggtaatg cagggagtcc taacatgtcc 1200

[0614] agtatccaac aattcaacaa tagccagcca atgccaatct tactatttca acaactcatt 1260

[0615] aggattcatc ggggcggaat ctaggatcta ttacctcaat ggtaacattt acctttatca 1320

[0616] aagaagctcg agctggtggc ctcaccccca aatttaccta cttgattcca ggattgcaag 1380

[0617] tccgggtacg cagaacattg actcaggcgt taacctcaag atgttaaatg ttactgtcat 1440

[0618] tacacgacca tcatctggct tttgtaatag tcagtcaaga tgccctaatg actgcttatt 1500

[0619] <210>10

[0620] <211>1440

[0621] <212>DNA

[0622] <213> 出血性肠炎病毒 (HEV)

[0623] <400>10

[0624] gaaatgttaa tgttagacca tactgaccaa ttcctggttc attttagatg gaatcttcga 60

[0625] acactgccac tagaattttt gctccaacgg aagggagaaa cagtataatt tacagcaact 120

[0626] tgcctcctgt tcaagataca accaaaatat tttatataga taacaaggcc attgatatag 180

[0627] agtcatataa tcaagagaaa gatcattcta attattatac taatataatt caaacacaga 240

[0628] acatttcaac tattgattca agtatacagc aaattcagtt agatgaaagg tctagatggg 300

[0629] gaggagaact acatacaagc ttagtaacat ctgttatgaa ttgtactaaa cattttaatt 360

[0630] cagataggtg tttagtgaaa attcagacta ttaagagtcc acctacattt gaatggaaag 420

[0631] aattgaaaat acctgaggga aactatgttt taaatgagtt tattgattta ttaaatgaag 480

[0632] gtattacttc tttatacctt cagtatggca ggcaacaggg tgtacttgaa gaagacatag 540

[0633] gaataaaatt tgatactcgc aattttgaaa ttggtaaaga tccaactact aatcttgtta 600

[0634] ctcctggtaa atacttgttt aagggttatc atgctgatat aatacttctt cctggttggg 660

[0635] ctattgattt ttctttttct agattgggta acattttagg tattagaaaa cgtgagactt 720

[0636] ataaagctgg ctttttgatt gaatatgatg acttgacaaa tggtaatatt ccaccactgt 780

[0637] tggatgttgc taactataag tctacaagtc aagctaaacc attattacag gatccatctg 840

[0638] gcagatctta ccacgttatg gatagtgatt ctaacagacc tgtgactgca tataggtctt 900

[0639] ttgttttgtc atataacaat gaaggtgctg caaaattaaa gtttttgatg tgtatgagtg 960

[0640] atataacggg gggtctcaat cagctgtatt ggtgtttgcc tgattcttat aaaccgccag 1020

[0641] tatcttttaa gcaagaaacg caagtagata aactgcctgt tgttggtatg caacttttt 1080

[0642] tccttttgt ttgtaaatct gtgtattctg gtgctgctgt ttacacacag ttaattgaac 1140

[0643] agcagactaa tttgacacaa atttttaaca gatttcatga taatgaaatt ttaaaacaag 1200

[0644] ctccatatgt gaatcaagtt ttattggctg aaaatgtgcc cataaatgtt aatcagggaa 1260

[0645] caataccaat attttcaact cttccaggag tacagagagt ggttgtggaa gacgatagga 1320

[0646] gaagaactgt accctacgtt accaagtcac ttgctacagt atatccgaag gttttgtcta 1380

[0647] gcaaaacttt gcaataatgc attctgttgt ttattctcca ggggacagta gaggatgggg 1440

[0648] <210>11

[0649] <211>2995

[0650] <212>DNA

[0651] <213> 禽痘病毒 (FPV)

[0652] <400>11

[0653] ctcttaattc gtttcaaaaa tgggaaatat ttttaagcct attccaaagg ccgattatca 60

[0654] gattgtggaa acagtaccac aaagcttaac agctattaat tctactaatc tttctactta 120

[0655] tgaatgtttt aaacgtttaa tagatctagc aaaaaaagag atctacatag ctacgttttg 180

[0656] ttgtaaccta agtactaatc ctgagggtac tgacatacta aacagattaa tcgatgtttc 240

[0657] gagtaaagtt tctgtatata ttttagtaga tgagagcagt cctcataaag attatgaaaa 300

[0658] gattaagtct tcccatatta gttatattaa agtagatata ggtgtgctta ataatgaatc 360

[0659] agtaggaaac ttgttaggta atttctgggt agtggataag cttcactttt atataggtag 420

[0660] tgcgtctctt atgggaaatg cgctaacaac tattaaaaat atgggcatat attccgaaaa 480

[0661] taattcttta gcaatggatt tatatttcag atcgttggac tataaaatta taagcaagaa 540

[0662] aaaatgttta ttctttacca gaatggccac aaagtaccat ttcttcaaaa accataacgg 600

[0663] tatattcttt tcagattctc cagaacatat ggtaggtaga aaaagaactt ttgacttgga 660

[0664] ttgtgttatt cattatatag acgcggcgaa gtctactata gatctagcga tagtatctct 720

[0665] tcttcctaca aagagaacaa aagattctat cgtctattgg cctataataa aagatgcatt 780

[0666] aatacgggcc gtattagaac gaggtgtcaa actacgagtg ctattaggat tttggaaaaa 840

[0667] aacggatgtt atatcaaaag catctataaa aagccttaac gaactaggag ttgaccatat 900

[0668] agatatctct actaaagtat ttaggtttcc cgttaattct aaagtagatg atattaataa 960

[0669] ttctaaaatg atgattatag atggaaggta tgctcatgtt atgactgcta acctagacgg 1020

[0670] gtctcatttt aatcaccatg cttttgttag ctttaactgt atggatcaac aatttacaaa 1080

[0671] gaaaatagct gaagtgtttg aaagggactg gatatctcct tacgcaaaag aaatagatat 1140

[0672] gtctcaaata tagtatatat gataaaaaga tcctaataaa taaatatagc atggcactaa 1200

[0673] tagaacagtt acaatcttct gaacaatcaa tactttcacc gtttagatat tatggtttta 1260

[0674] aagattttca taatgtaatt tttaccacaa tagatgacga aacattaata gtaattacag 1320

[0675] tcaacaatgt accattagta actaggttaa taacgtttga aaaaataaca ttttttagat 1380

[0676] cgtttaatag tacttgtatt ataacttcca acaataattc ggatattgat acagatactt 1440

[0677] attttatacc aaattcgtta tcactactag atattttgaa gaaaagagca tatgatgtag 1500

[0678] aactaagaga tctatcattt gctataatgt cggaaatgaa taacgatgaa ttgagaaata 1560

[0679] gtgatattgt atctctaaac aaatggctac ataagcataa tttactagac tacaaattag 1620

[0680] tactaataag tgatatcgat agaagatata aattatacaa taaaaaaaat acaataattg 1680

[0681] atgttatatc cgtaaatggt agaaattata atatatgggt taaagatgtt atagaatatt 1740

[0682] attcaccgga atacttaaga tggtctatag atattaaaag agccacagaa agtaataact 1800

[0683] ggttaccgta tagccagtct ataaaccctt tgaatgaaaa tatatacgct tttgaattta 1860

[0684] tagctacttt agaaagatcc aatgagcgct taaatatcgg agcgatattc ctgtatccgg 1920

[0685] atataataat tacaggtaga aacaacgaag atataataga aaagttttta gatcagttag 1980

[0686] aagaagtaat atataaaaaa aattctgata gtattgtttt aacaggttat catctaacat 2040

[0687] ttttagagaa tactatttta gagagatata tcagtaagta taaagactgg atttttacat 2100

[0688] gtaatcgtct agtacattgt aaaaccggca ctgaagtatt cttatttgat gccgctatat 2160

[0689] tttttccatc ctctaataag aaaggatatg taaaacattg gacaggtaaa aaattaaatt 2220

[0690] ttaaaaactt tttccaaaaa gatagtcagc tagaaaaata cataaataat aacagtgtag 2280

[0691] cagaacgtat atattattta cagtcttctt tacacaagca tatatcctgt ctaatagaaa 2340

[0692] ttttcgagtt aaatggattt gattttaatt tttctgggtt gttagatata cttattttca 2400

[0693] gtattcgtgt taagaataat aatggtaatt actattaccc taaacattct tcagctgtga 2460

[0694] atttgatgtt gtcatctatt tacacggact attatgctat tgatgatata gataaagata 2520

[0695] gtaagaaact tgtttttaac tctatttttc ctttaataat ggaaggatat taccctgaag 2580

[0696] gaaaacctta ttatacgaaa acacccaaag aagggtattt gtcaatatgt ttatgtgatg 2640

[0697] tagaaatatc taatgatata aagaatccta tattgtattg taaagaaaac aagtcagcta 2700

[0698] ggaagtttac aggagtattc acatctgtag atatagatac cgctgtaaaa ctaagaggat 2760

[0699] ataaaattaa aatattagaa tgtattgaat ggcctaataa aataaaatta ttcgacaata 2820

[0700] tatgttatct gaataaatta tttatagaac atcaggatta cacacacgat gaaaaatctt 2880

[0701] tacaaggcta tctttttct tatttactta aaggcaacgt taccgaagat gttttagcta 2940

[0702] tgaaaagttg tagaaataat ctttctataa tatcatttat aataagttac tgcag 2995

[0703] <210>12

[0704] <211>35

[0705] <212>DNA

[0706] <213> 人工序列

[0707] <220>

[0708] <223>PCR 引物，IBS1F’

[0709] <400>12

[0710] cgggatccgc cgccgccatg ttggtaacac ctctt 35

[0711] <210>13

[0712] <211>29

[0713] <212>DNA

[0714] <213> 人工序列

[0715] <220>

[0716] <223>PCR 引物，IBS1R’

[0717] <400>13

[0718] cggaattctt aacgtctaaa acgacgtgt 29

[0719] <210>14

[0720] <211>38

[0721] <212>DNA

[0722] <213> 人工序列

[0723] <220>

[0724] <223>PCR 引物，NDF F’

[0725] <400>14

[0726] cgggatccgc cgccgccatg ggctccagac cttctacc 38

[0727] <210>15

[0728] <211>34

[0729] <212>DNA

[0730] <213> 人工序列

[0731] <220>

[0732] <223>PCR 引物，NDF R’

[0733] <400>15

[0734] ccgctcgagt tacatttttg tagtggctct catt 34

[0735] <210>16

[0736] <211>39

[0737] <212>DNA

[0738] <213> 人工序列

[0739] <220>

[0740] <223>PCR 引物，NDHN F’

[0741] <400>16

[0742] cgggatccgc cgccgccatg gaccgcgccg ttaggcaag 39

[0743] <210>17

[0744] <211>29

[0745] <212>DNA

[0746] <213> 人工序列

[0747] <220>

[0748] <223>PCR 引物，NDHN R’

[0749] <400>17

[0750] gctctagatt actcaactag ccagacctg 29

[0751] <210>18

[0752] <211>35

[0753] <212>DNA

[0754] <213> 人工序列

[0755] <220>

[0756] <223>PCR 引物，IBDVP2F’

[0757] <400>18

[0758] cgggatccgc cgccgccatg acaaacctgc aagat 35

[0759] <210>19

[0760] <211>29

[0761] <212>DNA

[0762] <213> 人工序列

[0763] <220>

[0764] <223>PCR 引物，IBDVP2R’

[0765] <400>19

[0766] cggaattctt accttatggc ccggattat 29