



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102830225 B

(45) 授权公告日 2014.06.04

(21) 申请号 201210358235.9

(22) 申请日 2012.09.24

(83) 生物保藏信息

CGMCC No. 6602 2012.09.19

(73) 专利权人 中国动物疫病预防控制中心

地址 100125 北京市朝阳区麦子店街道 20 号 902 室

(72) 发明人 王传彬 韩雪 刘玉良 张倩

刘洋 孙晓东 杨卫铮 孙明

曹振 田克恭 王宏伟 金萍

陈西钊 刘伟 才学鹏

(74) 专利代理机构 北京金阙华进专利事务所

(普通合伙) 11224

代理人 吴鸿维

(51) Int. Cl.

G01N 33/531 (2006.01)

C07K 16/10 (2006.01)

(56) 对比文件

WO 2009/151313 A1, 2009.12.17, 全文.

CN 101885757 A, 2010.11.17, 全文.

CN 102012430 A, 2011.04.13, 全文.

TW 201132980 A1, 2011.10.01, 全文.

KR 20120024313 A, 2012.03.14, 全文.

CN 102399754 A, 2012.04.04, 全文.

US 2011/0311578 A1, 2011.12.22, 全文.

叶丛华等. 云南边境禽流感 H5N1 亚型病毒血凝素基因分子结构特征分析. 《中国人兽共患病学报》. 2010, 第 26 卷 (第 2 期), 101-106.

W.F. Shi et al. Genetic analysis of four porcine avian influenza viruses isolated from Shandong, China. 《Archives of Virology》. 2008, 第 153 卷 211-217.

唐应华等. 禽流感 H9 亚型血凝素单克隆抗体的研制和初步应用. 《中国免疫学杂志》. 2006, 第 22 卷 (第 1 期), 13-16.

审查员 李宏悦

权利要求书1页 说明书4页
序列表4页

(54) 发明名称

一种源于禽流感病毒自然弱毒株的血凝素和免疫抗原

(57) 摘要

本申请涉及一种来源于禽流感病毒自然弱毒株(CN1株)的血凝素和免疫抗原及其制备方法, 以及血凝素在检测血清抗体中的用途、免疫抗原在接种动物用于产生免疫抗体中的用途。

1. 一种源于禽流感病毒自然弱毒株的血凝素,其特征在於所述的禽流感病毒自然弱毒株为 CN1 株,该病毒株保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(CGMCC),地址:北京市朝阳区北辰西路 1 号院,中国科学院微生物研究所,保藏编号:CGMCC No. 6602。

2. 一种源于禽流感病毒自然弱毒株的免疫抗原,其特征在於所述的禽流感病毒自然弱毒株为 CN1 株,该病毒株保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(CGMCC),地址:北京市朝阳区北辰西路 1 号院,中国科学院微生物研究所,保藏编号:CGMCC No. 6602。

3. 根据权利要求 1 的源于禽流感病毒自然弱毒株的血凝素,其特征在於,所述 CN1 株的识别特征是同时包含有核苷酸序列为 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2 和 SEQ ID NO:3 的 3 个基因节段。

4. 根据权利要求 2 的源于禽流感病毒自然弱毒株的免疫抗原,其特征在於,所述 CN1 株的识别特征是同时包含有核苷酸序列为 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2 和 SEQ ID NO:3 的 3 个基因节段。

5. 根据权利要求 2 所述的源于禽流感病毒自然弱毒株的免疫抗原,其中还包括药剂学上可以接受的稀释剂、赋形剂或免疫佐剂。

6. 根据权利要求 1 所述的血凝素和权利要求 2 所述的免疫抗原的制备方法,包括:将所述 CN1 株接种鸡胚培养,收获病毒液加入终浓度 1:5000 的 β -丙内酯,4℃灭活 10 小时,用作血凝素;加矿物油佐剂按常规方法乳化,制成免疫抗原。

7. 根据权利要求 1 所述的血凝素在检测血清抗体中的用途。

8. 根据权利要求 2、4、5 中任一项所述的免疫抗原在接种动物用于产生免疫抗体中的用途。

一种源于禽流感病毒自然弱毒株的血凝素和免疫抗原

技术领域

[0001] 本发明涉及动物疫病预防控制,尤其涉及一种用禽流感病毒自然弱毒株制备的血凝素和免疫抗原。

背景技术

[0002] 禽流感(Avian influenza, AI)是由A型流感病毒引起的禽类(包括家禽和野禽)的感染和/或感染综合征。鸡、火鸡、鸭、鹅和鹌鹑等家禽、野鸟、水禽和海鸟等均可感染。其疾病形式多样,可表现为无致病性感染,低致病性感染和高致病性禽流感(Highly pathogenic avian influenza,HPAI)。爆发HPAI不仅使当地的养禽业遭受毁灭性打击,而且显著地影响禽类产品的国际贸易,世界动物卫生组织(OIE)将其列为必须报告疫病,我国将其列为一类动物疫病。

[0003] AI的病原为禽流感病毒(Avian influenza virus,AIV),AIV的亚型众多,其中按血凝素(Haemagglutinin,HA)划分为16种(H1~H16)亚型,历史上所有的高致病性禽流感均是由H5和H7亚型AIV引起的。H5和H7亚型AIV除了对养禽业有重要意义之外,它们还有重要的公共卫生意义,H5和H7亚型AIV均有感染并致死人类的报道。

[0004] 到目前为止,我国已分离鉴定的高致病性禽流感病毒均为H5亚型病毒,所以此前的研究集中于H5亚型禽流感病毒及其免疫抗原,用于制造H5亚型禽流感疫苗或诊断试剂。发明人在国内首次分离到H7亚型禽流感病毒(CN1株),并进行了一系列研究。发明人在研究中发现,该病毒具有致病力很低的特征,后来又经过多次传代培养,使该病毒更加适应鸡胚培养条件,获得病毒的滴度很高,而病毒致病力仍然很低。将此培养物经过一定工艺灭活,仍能保留血凝素活性;研制成免疫抗原,接种鸡可以产生很好的抗体滴度,抗体能维持6个月以上。因此,这种用H7亚型禽流感病毒自然弱毒株来制造的血凝素和免疫抗原,对于防控H7亚型禽流感具有重要意义,并且这项技术在国内未见报道。

[0005] 国内现有H7亚型禽流感病毒血凝素及免疫抗原,是用1979年获得的国际标准毒株A/Afri.Star/Eng-Q/983/79/(H7N1)研制的,存在以下技术缺陷:1、禽流感众所周知的特性是病毒变异性高,即使同一种亚型的不同来源毒株,其抗原性也存在一定差异。用1979年的标准毒株制备的血凝素,用来作血凝抑制实验、检测临床血清时,会出现滴度偏低、敏感度下降的问题;2、用标准毒株制成免疫抗原或疫苗来免疫动物,由于标准毒株抗原性与国内流行株抗原性存在差异,会导致保护效果下降。

发明内容

[0006] 本发明所解决的技术问题是克服现有技术的不足,提供一种用国内分离的禽流感病毒自然弱毒株(A/CK/CN/1/2002(H7N2),简称CN1株)制备的血凝素和免疫抗原。CN1株保藏信息如下:

[0007] 分类命名:禽流感病毒

[0008] 拉丁文学名:Avian influenza virus,AIV

[0009] 保藏单位:中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(CGMCC)

[0010] 地址:北京市朝阳区北辰西路1号院,中国科学院微生物研究所

[0011] 保藏日期:2012年9月19日

[0012] 保藏编号:CGMCC No. 6602。

[0013] 本发明是通过以下技术途径实现的:

[0014] 本发明人从我国鸡群中分离到的H7N2亚型禽流感病毒株(保藏编号:CGMCC No. 6602),在鸡胚中连续传代培养,再通过有限稀释法纯化病毒,然后测定病毒血凝素效价;进行本动物接种试验,评价病毒的致病性;用病毒培养物制成灭活的血凝素;用病毒培养物制成矿物油佐剂免疫抗原,接种鸡以后定期测定抗体水平。通过测定CN1株HA、NA和M基因,确定这种血凝素与免疫抗原的分子识别标志。

[0015] 具体方法为:1、病毒分离培养:将鸡群禽流感监测过程中采集的样品,过滤除菌后,接种10日龄SPF鸡胚尿囊腔,在37℃继续孵育。72小时左右鸡胚死亡,收集尿囊液,用同样方法作传代培养。按GB/T18936-2003规定方法,用1%鸡红细胞测定分离物的血球凝集活性。2、病毒鉴定:对于具有血球凝集活性的培养物,按照《禽流感》(第一版,北京农业大学出版社,1995)介绍的方法,鉴定病毒血凝素(HA)和神经氨酸酶(NA)亚型;3、病毒纯化:将收获的病毒液进行10倍比的系列稀释,接种10日龄鸡胚培养,72小时左右,选择最高稀释度的死亡鸡胚,测定血凝活性,再次进行10倍比的系列稀释后按同样方法传代培养,共传5代,获得纯化的病毒;4、致病性试验:按照《禽流感》(第一版)介绍的方法,将纯化的病毒接种SPF鸡,测定“静脉接种致病指数(IVPI)”;5、制备血凝素:将纯化的CN1株加入终浓度1:5000的β-丙内酯,4℃灭活10小时,测定血凝素效价,按常规方法冻结或冻干保存,用作血凝素;6、将纯化的CN1株按前述方法用β-丙内酯灭活,测定血凝素效价,加矿物油佐剂按常规方法乳化,制成免疫抗原;7、将制成的免疫抗原接种6周龄SPF鸡,定期采集血清,用血凝抑制实验测定抗体水平,实验中采用的是上述CN1株血凝素。8、测定病毒的基因序列:参照国内外已发表的禽流感病毒HA、NA和M基因节段的序列,设计针对HA、NA和M基因节段的扩增引物和反转录引物,按常规方法进行克隆测序,得到CN1病毒株HA、NA和M基因片段的核苷酸序列。

[0016] 血凝素效价测定表明,CN1株制备的血凝素效价达到1024,具有较高的效价,因此可以用于制备血凝素试剂和免疫抗原。

[0017] 致病性试验表明,CN1病毒接种SPF鸡后10天,未观察到明显症状。静脉接种指数(IVPI)为0,无致病性,说明病毒传5代后毒力没有增强,是难得的H7亚型自然弱毒株,灭活后用于制造血凝素和免疫抗原是很安全的,具有实际应用价值。

[0018] 免疫原性试验表明,CN1株制备的免疫抗原接种SPF鸡以后1周(1WPI),即可检出针对H7亚型AIV的HI抗体,接种后第5-8周为抗体水平高峰期,其后缓慢下降,直至第28周仍可检出抗体(HI效价高于16)。

[0019] 病毒的HA基因序列见SEQ ID NO:1;NA基因序列见SEQ ID NO:2;M基因序列见SEQ ID NO:3。

具体实施方式

[0020] 实施实例1

[0021] 病毒分离鉴定

[0022] 从鸡场采集样品,经过滤除菌后,接种 10 日龄 SPF 鸡胚尿囊腔,在 37℃继续孵育。72 小时左右鸡胚死亡,收集尿囊液,用同样方法作传代培养。按《禽流感》(第一版)的方法,用 1% 鸡红细胞测定分离物的血球凝集活性。

[0023] 按《禽流感》(第一版)介绍的方法,用红细胞凝集抑制(HI)试验确定病毒的血凝素亚型。按《禽流感》(第一版)介绍的神经氨酸酶(NA)活性抑制(NI)实验方法,测定病毒 NA 亚型。

[0024] 结果:鸡胚在接种 CN1 株后 72 小时左右死亡,胚体充血。初代尿囊液血凝价为 256,经多次传代后,尿囊液的血凝价为 1024。病毒被鉴定为 H7N2 亚型禽流感病毒。

[0025] 实施实例 2

[0026] 病毒的致病性测定

[0027] 按《禽流感》(第一版)介绍的方法进行。将 14 只 SPF 鸡随机分二组,在两个负压隔离器中饲养,各组分别为 10 只和 4 只。经检验无菌的 CN1 株鸡胚尿囊液,对 1% 鸡红血球凝集效价为 1024,用生理盐水作 1:10 稀释,接种一组鸡 10 只,每只鸡经翅静脉注射 0.1ml,另外四只鸡注射生理盐水作为对照。每天观察并记录鸡群情况,至接种后 10 天,计算静脉接种致病指数(IVPI)。

[0028] 结果:IVPI 值为 0。病毒对实验鸡无致病性,是自然弱毒株。可用于研制血凝素和免疫抗原,生产和使用过程可以保证安全,因此具有实际应用价值。将 CN1 病毒保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏号为 CGMCC No. 6602。

[0029] 实施实例 3

[0030] 血凝素制备及效价测定

[0031] 将纯化的 CN1 株加入终浓度 1:5000 的 β -丙内酯,4℃灭活 10 小时,按 GB/T18936-2003 规定方法,用 1% 鸡红细胞测定分离物的血球凝集活性,分装后冻结保存,用作血凝素。

[0032] 结果:灭活病毒制备的血凝素效价为 1024。

[0033] 实施实例 4

[0034] 免疫抗原制备及接种动物产生抗体的测定

[0035] 将 CN1 株病毒液,加入终浓度为 1:5000 的 β -丙内酯,4℃灭活 10 小时,测定血凝素效价,加矿物油佐剂按常规方法乳化,制成免疫抗原,接种 6 周龄 SPF 鸡 8 只,每周采集少量血清一次,按 GB/T18936-2003 规定方法,用上述 CN1 株血凝素来做血凝抑制实验,测定血清抗体水平。

[0036] 结果:以血清抗体 HI 效价高于 16 为检测阳性的判界,CN1 株制备的免疫抗原接种 SPF 鸡以后 1 周,即可检出针对 H7 亚型 AIV 的血清抗体,接种后第 5-8 周为抗体水平高峰期,其后缓慢下降,直至第 28 周仍可检出抗体,之后出现了部分鸡的抗体水平低于 16 的情况。这说明,用 CN1 株制备免疫抗原,接种鸡产生的抗体可以维持半年以上,具有较好的免疫原性。

[0037] 实施实例 5

[0038] 病毒基因序列测定

[0039] 参照国内外已发表的禽流感病毒 HA、NA、M 基因节段的核苷酸序列,设计针

对 HA、NA、M 基因节段的扩增引物(见表 1) 和反转录通用引物 :5' AGCAAAAGCAGG-3' (SEQ ID NO :4) (参 考 文 献 :E.Hoffmann, J.Stech, Y.Guan, et al.Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses.Archives of Virology, 2001, 146:2275-2289.)。提取病毒总 RNA,反转录 (RT) 合成 CDNA,经 PCR 扩增后,凝胶电泳回收各基因节段的 PCR 产物,分别与 pGEM-T Easy 载体连接成 pGEM-TE-X (“x”代表 HA、NA、M 基因),构建重组质粒转化感受态细胞,挑选 PCR 阳性的克隆,测定核苷酸序列。

[0040] 表 1 针对各基因节段的 PCR 引物

基因	位置	引物序列
HA	上游	GACAAATGCAGACAAAATATGC (SEQ ID NO: 5)
	下游	AGTAGAAACAAGGGTGTTTT (SEQ ID NO: 6)
NA	上游	AGCAAAAGCAGGAGT (SEQ ID NO: 7)
	下游	AGTAGAAACAAGGAGTTTTTT (SEQ ID NO: 8)
M	上游	AGCAAAAGCAGGTAG (SEQ ID NO: 9)
	下游	AGTAGAAACAAGGTAGTTTTT (SEQ ID NO: 10)

[0042] 结果 :病毒的 HA 基因序列见 SEQ ID NO :1 ;NA 基因序列见 SEQ ID NO :2 ;M 基因序列见 SEQ ID NO :3。

[0001]

序 列 表

<110>中国动物疫病预防控制中心

<120>一种源于禽流感病毒自然弱毒株的血凝素和免疫抗原

<160>10

<210>1

<211>1663

<212>DNA

<213>流感病毒属 (Influenza virus)

<400>1

```

acaaatgcagacaaaatatgccttgggcatcatgccgtgtcaaacggaac 50
taaggtaaacacactaac tgaagaggggtggaagttgtcaatgcaactg 100
aaacagtggagcgaacaaacattcccaggatctgctcacaaggaaaaaga 150
acaatcgaccttggccaatgtggactgctgggaacaatcactggaccacc 200
ccaatgtgaccaattcctagaattctcagctgatttgattattgaaagge 250
gggaaggaaatgatgtctgttatcctgggaaatttgtaaacggagaagct 300
ctgagacaaatctcagggaatcaggcgggaattgataaggagataatggg 350
gttcacatacagcgaaataagaactaatggaacaaccagtgcattgtagaa 400
gatcaggatcttctgttctatgcagagatgaaatggcttttgtcaaataca 450
gacaatgctgctttcccgcagatgactaagtcgtacaaaaacacaaggaa 500
agacceagctctgataatctggggaatecatcattccggatecaagcacag 550
aacagacaaaattatatgggagtggaagcaaac taataacagttgggagt 600
tecaattatacaacagtectttgtaccgagtcggggggcaggccacaagt 650
gaatggccaatctggaaggatcgacttccattggctgatgctaaatccca 700
atgacacagteactttcagtttcaatggggctttea tagctecagaccgt 750
gcaagttttctgagaggggaagtctatggggattcagagtgatgtacaagt 800
tgatgccaattgtgagggggattgctatcatagtgagggaacaataataa 850
gtaattttgacctttcagaatatcaatagcagagcagtaggaaaatgtccg 900
aggatgttaaacagagagacctgctactggcaacagggatgaagaacgt 950
tcccgaattccaaaaggaagagccatatttggtgccaatagcgggtttca 1000
ttgaaaatggatgggaaggctctgatggatggatggatggcttcaggcat 1050
caaaatgcacaaggagaggggaactgcggcagattacaagagcactcaate 1100
ggcaattgatcaataacaggaaggttaaaccggctcatagagaaaacta 1150
accaacagtttgagttgatagacaatgaattcactgaggttgaagageaa 1200
attggcaatgtgataaattggaccagagattccataacagaagtgtggtc 1250
ctacaatgccgaactcttagtggaatggagaatcagcacactatcgatc 1300
tggccgattcagaaatgaacaagctgtacgaaagagtgaggagacaattg 1350
agggagaatgctgaggaagacggcactggttgtttcgaatatattcacia 1400
gtgtgatgacgactgtatggccagattagaacaacacttatgatcaca 1450
gcaaatacagagaagaagcaatgcaaaataggatacagattgaccagtc 1500
aaactgagcagcggctacaaagatlgatacillgglltagcllccggggc 1550
atcatgtttcatacttctggccattgcaatgggccttgtettcatgtgtg 1600
tgaagaatggaaacatgcgggtgcaactatttgtatatagtttgaaaaacac 1650
ccttgtttctact 1663

```

[0002]

<210>2

<211>1467

<212>DNA

<213>流感病毒属 (Influenza virus)

<400>2

```

agcaaaagcaggagtgaaaatgaatccaaatcaaaagataataacaattg 50
gctctgtctcactcaccattgcaacaatatgcttcctcatgcagattgct 100
atcctggcaactactgtgacactgcattttaagcaacatgaatgcaaccc 150
ccctgcaatcaaccaagtgaccccatgtgaaccaatcatagtagaaagga 200
acataacagggatagtgatattgaacagcaccagtatagagagagagatt 250
tgccccgaagctgtggaatacagaaattgggtcaaagccgagtgcaaat 300
tacaggatttgctcctttctotaaggacaattcaattcggctttctgctg 350
gtggggacatttgggtgacgagagaaccttatgtgtcatgtgatcctggt 400
aatgtttatcaatttgcacttggacaggggaccacactagacaacaaaca 450
ttcgaatggtacaatacatgatagaatccctcatcggactctcttgatga 500
acgaattgggtgttcogttccatttagggaccaaaacaagtatgcatagca 550
tggccagctcaagttgtcacgatggaagagcatggttgcataatttgtgt 600
tactggggatgatagaaatgcgactgccagtttcatttatgaoggagggc 650
ttgtcgacagtattggttcattggtctcaaaatattctcagaacacaggag 700
tcagaatgtgtttgtatcaatgggacttgcactgtagtaatgactgatgg 750
aagtgcacaggaagagccgatacgagaatactattcattaagaggggga 800
aaattgtccatattagcccattgtcaggaagtgtcagcatatagaggaa 850
tgttcctgttatcctcgatatcctgacgccaggtgtatctgcagagataa 900
ctggaaaggctotaataggccogttatagacataaatatggcagattata 950
gcattgattccagttatgtatgttcagggctcgttgggtgacacaccaga 1000
aatgacgacagctccagcagtagcaattgcagggatcctaataatgagag 1050
agggaatccaggggtgaaaggctgggcttttgataatggagatgatgtgt 1100
ggatggggagaaacaatcagcaaagattcacgctcaggttacgagactttc 1150
aaagtcatgtgttgggtccacacctaattccaagtcgcaggtcaatag 1200
acaggtcatagttgacaacaataacaggtctggttactctggtattctct 1250
ctgttgagggcaaaagctgcatcaataggtgtttttatgtggagttgata 1300
aggggaagaccacaggaaactagagtatgggtggacttcaaacagtattgt 1350
tgtattttgtggcacttcaggtacctatggaacaggctcatggcctgatg 1400
gggogaacatcaattttatgcctacataagcttttgoaatttttagaaaa 1450
aactccttgtttctact 1467

```

<210>3

<211>1027

<212>DNA

<213>流感病毒属 (Influenza virus)

<400>3

[0003]

```

agcaaaagcaggtagatattgaaagatgagtccttctaaccgaggtcgaaa 50
cgtacgttctctotatcgtcccgtcaggccccctcaaagccgagatcgcg 100
cagagacttgaagatgtctttgcagggagaacactgatctcgaggctct 150
catggaatggctaaagacaagaccaatcctgtcacctctgactaagggga 200
ttttagggtttgtgttcacgctcaccgtgccagtgagcaggactgcag 250
cgtagacgctttgtccagaatgccttaaattgggaatggagacccaaaca 300
catggacagggcagtcacactatacaggaagctgaaaagagagataacat 350
tccatggggctaaagaggttgactcagctattcaaccgggtgcacttgcc 400
agttgcatgggtctcatatacaacaggatgggaacggtaaccacagaagt 450
agcttttggcctgggtgtgtgccacttgtgagcagattgctgactcacagc 500
atcgatctcacagacagatgggtgactaccaccaaccactaatcaggcat 550
gaaaacagaatggtgctggccagcactacagctaaggctatggagcagat 600
ggctggatcagtgaaacaggcagcgggaagccatggaggttgcctagtcagg 650
ctaggcagatgggtgcaggcaatgaggacaattgggactcaccctagctcc 700
agtgccggtctgaaaaatgatcttttgaatttgcaggcctaccagaa 750
goggatgggagtgcaaatgcagcattcaagtgatcctctcgttattgcc 800
gcaagtatcattgggatcttgcacttgatattgtggattcttgatcgtct 850
tttcttcaaatgtatttctcgtcgccttaaatacggtttgaagagggc 900
cttctacggaaggagtgcctgagctatgaggggaagagtatcggcaggaa 950
cagcagagtgtgtggatgttgacgatggtcattttgtcaacatagagct 1000
ggagtaaaaaactaccttgtttctact 1027

```

<210>4

<211>12

<212>DNA

<213>反转录引物

<400>4

AGCAAAAGCAGG

<210>5

<211>22

<212>DNA

<213>HA 上游引物

<400>5

GACAAATGCAGACAAAATATGC

<210>6

<211>12

<212>DNA

<213>HA 下游引物

<400>6

AGTAGAAACAAGGGTGTTTT

[0004]

<210>7
<211>15
<212>DNA
<213>NA 上游引物
<400>7
AGCAAAAGCAGGAGT

<210>8
<211>21
<212>DNA
<213>NA 下游引物
<400>8
AGTAGAAACAAGGAGTTTTTT

<210>9
<211>15
<212>DNA
<213>M 上游引物
<400>9
AGCAAAAGCAGGTAG

<210>10
<211>21
<212>DNA
<213>M 下游引物
<400>10
AGTAGAAACAAGGTAGTTTTT

专利名称(译)	一种源于禽流感病毒自然弱毒株的血凝素和免疫抗原		
公开(公告)号	CN102830225B	公开(公告)日	2014-06-04
申请号	CN201210358235.9	申请日	2012-09-24
[标]申请(专利权)人(译)	中国动物疫病预防控制中心		
申请(专利权)人(译)	中国动物疫病预防控制中心		
当前申请(专利权)人(译)	中国动物疫病预防控制中心		
[标]发明人	王传彬 韩雪 刘玉良 刘洋 孙晓东 曹振 田克恭 金萍 陈西钊 刘伟		
发明人	王传彬 韩雪 刘玉良 张倩 刘洋 孙晓东 杨卫铮 孙明 曹振 田克恭 王宏伟 金萍 陈西钊 刘伟 才学鹏		
IPC分类号	G01N33/531 C07K16/10		
其他公开文献	CN102830225A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本申请涉及一种来源于禽流感病毒自然弱毒株 (CN1株) 的血凝素和免疫抗原及其制备方法 , 以及血凝素在检测血清抗体中的用途、免疫抗原在接种动物用于产生免疫抗体中的用途。

基因	位置	引物序列
HA	上游	GACAAATGCAGACAAAATATGC (SEQ ID NO: 5)
	下游	AGTAGAAACAAGGTGTTTT (SEQ ID NO: 6)
NA	上游	AGCAAAAGCAGGAGT (SEQ ID NO: 7)
	下游	AGTAGAAACAAGGTTTTTT (SEQ ID NO: 8)
M	上游	AGCAAAAGCAGGTAG (SEQ ID NO: 9)
	下游	AGTAGAAACAAGGTAGTTTT (SEQ ID NO: 10)