

## 7 Anhang

### 7.1 Primersequenzen

Alle Oligonukleotide sind in 5'-3'-Orientierung aufgelistet.

#### 7.1.1.1.1 Primer zum Nachweis eukaryoter DNA (Kontroll-PCR)

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	Produktgröße	T <sub>a</sub>
258 s as	CCA TCC AAC ATC TCA GCA TGA TGA AA GCC CCT CAG AAT GAT ATT TGT CCT CA	Cytochrom B	359 bp	50°C
468 s as	TCA CCC ACA CGG TGC CCA TCT ACG A CAC CGG AAG CGC TCG TTG CCG ATG G	Schwein β-Aktin	296 bp	70°C
719 s as	TAA CAG CAT TTC CCT CTG TAA CTC ATT CGA CTA GGT TTG TGC CAA TAT	Ziege	309 bp	55°C
720 s as	GTC GAG ATG TAA ATT ATG GCT GAA ATG GGA TTG CTG AAA GAA GAT TAG	Cytochrom B	255 bp	55°C

#### 7.1.1.1.2 PLHV-1-spezifische Primer

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	Produktgröße	T <sub>a</sub>
213 s 215 as	TCC ATC ATG AAG ACC TGC ATA AA CCT TAC AGA TGG AAT GGA GAT CC	ORF 09	394 bp	55°C
778 s as	ACA ATG GCA GGT AGC TTA AAA CTT AGG CGT AGC ATA TTT TGT GCC CTT GTT AAT	ORF 08	2.530 bp	60°C

#### 7.1.1.1.3 PLHV-2-spezifische Primer

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	Produktgröße	T <sub>a</sub>
208 s 212 as	CTC TTC TGT CGA ACT TGC TCA CA ACC TTG AAG GGT TTA TCA AAC AC	ORF 09	335 bp	58°C
597 s as	ATG GCA GGT AGC TTA AAA CTT AGG ATG GAA TGA TGT TCT GTT TGT AAA T	ORF 08	382 bp	58°C

#### 7.1.1.1.4 PLHV-1- und -2-spezifische Primer

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	Produktgröße	T <sub>a</sub>
170 s as	GCT GAC CCA AAG CTC AGG ACA ATT T TAT CGC CGT AGA TCA CCT TGA AGG G	ORF 09	277 bp	55°C
747 s as	CAY GGT AGT ATT TAT TCA GAC A GAT ATC CTG GTA CAT TGG AAA G	intergenisch zwischen ORF 11 und 17	397 bp (PLHV1) 341 bp (PLHV-2)	55°C

Die PCR mit dem Primerpaar P-747s/as zum Nachweis von PLHV-1 und -2 wurde von Sabine Beckmann für ihre wissenschaftliche Arbeit im Rahmen des Staatsexamens für Lebensmittelchemiker (Jahr 2000) etabliert.

### 7.1.1.1.5 PLHV-3-spezifische Primer

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	Produktgröße	T <sub>a</sub>
886 s as	CAA GAT TGC TGA GAC GGT GAC TAC AAA TGG CAT GGT TAC ATC TTT AGG	ORF 09	148 bp	57°C
905 s as	ACA AGA GCC TTA GGG TTC CAA ACT GTG TCC AGT GTT GTA ATG GAT GCC	ORF 08	256 bp	57°C

### 7.1.1.1.6 PCMV-spezifische Primer

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	Produktgröße	T <sub>a</sub>
199 s as	ACG AGA AAG ATA TTC TGA CGG TGC A TCT AGA CGA AAG GAC ATT GTT GAT A	ORF 09	340 bp	55°C

### 7.1.1.1.7 CprHV-2-spezifische Primer

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	Produktgröße	T <sub>a</sub>
494 s as	CAT TGC GGA AAC CGT CAC CCT ACA G TGG GTT CTG CGG CAG GCC CGT AAT	ORF 09	133 bp	65°C
507 s as	GAG CTG GCT AAG TGT CAG GAC GAT A TTC TGC GGC AGG CCC GTA ATA GAG G	ORF 08	283 bp	59°C
556 s as	CAC AAC CTG TGC TAC TCC ACC CT ACG CCT TTC ATG AGA ATT TGG TC	ORF 09	686 bp	58°C
557 s as	ACC TGT GCT ACT CCA CCC TGG TA TTC ATG AGA ATT TGG TCG TTT GA		676 bp	55°C
558 s as	ATA AGA CGA AGC GGT TTG TGG AGA CAG CAG CAA CAG ACA CTG GAA CAC	ORF 09	272 bp	64°C
559 s as	CTA TGC CAG GAC CCC TCT ATT ACG GGA ACA CCT TCT CCG ACT CCA GTT		205 bp	64°C

### 7.1.1.1.8 Primer für die quantitative PCR

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	T <sub>a</sub>
1125 s as Sonde	CTC ACC TCC AAA TAC AGC GA GCT TGA ATC GTG TGT TCC ATA G Fam-CTG GTC TAC TGA ATC GCC GCT AAC AG-Tamra	PLHV-1: ORF 08	55°C
1155 s as Sonde	GTC ACC TGC AAA TAC ACA GG GGC TTG AAT CGT ATG TTC CAT AT Fam-CTG GTC TAC TGA AGC GCT GCC AAT AG-Tamra	PLHV-2: ORF 08	55°C
1156 s as Sonde	AAG GAC CCC AAA GAG GAA A CTG AGG CAC TGC ATA CTC TGT Fam-TCA ATT TTA TGG TTC ACC TTC TAC CTT TCC T-Tamra	PLHV-3: ORF 08	55°C
468 s as Sonde	TCA CCC ACA CGG TGC CCA TCT ACG A CAC CGG AAG CGC TCG TTG CCG ATG G Fam-ACG CCC TGC CCC ACG CCA TCC TGC GT-Tamra	β-Aktin	67°C

### 7.1.1.1.9 Primer für die Consensus-PCR

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	T <sub>a</sub>
285 s DFA:	GAY TTY GC(N/I) AGY YT(N/I) TAY CC	ORF 09	46°C
ILK:	TCC TGG ACA AGC AGC AR(N/I) YSG C(N/I)M T(N/I)A A		
as KG1:	GTC TTG CTC ACC AG(N/I) TC(N/I) AC(N/I) CCY TT		
286 s TGV:	TGT AAC TCG GTG TAY GG(N/I) TTY AC(N/I) GG(N/I) GT	ORF 09	46°C
as IYG:	CAC AGA GTC CGT RTC (N/I)CC RTA (N/I)AT		
85 s	CAT CTG ATG TAA CTC GGT GTA	ORF 09	55°C
as	GAC AAA CAC AGA GTC CGT		

### 7.1.1.1.10 Primer für die modifizierte Consensus-PCR

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	T <sub>a</sub>
285red s DFA:	GAY TTY GC(N/I) AGY YT(N/I) TAY CC	ORF 09	46°C
ILK:	TCC TGG ACA AGC AGC AR(N/I) YSG C(N/I)M T(N/I)A A		
as KG1 <sub>a</sub> :	GTC TTG CTC ACC AGI TCI ACA CCT TT		
KG1 <sub>b</sub> :	GTC TTG CTC ACC AGI TCI ACG CCT TT		
KG1 <sub>c</sub> :	GTC TTG CTC ACC AGI TCI ACC CCT TT		
KG1 <sub>d</sub> :	GTC TTG CTC ACC AGI TCI ACT CCT TT		
KG1 <sub>e</sub> :	GTC TTG CTC ACC AGI TCI ACA CCC TT		
KG1 <sub>f</sub> :	GTC TTG CTC ACC AGI TCI ACG CCC TT		
KG1 <sub>g</sub> :	GTC TTG CTC ACC AGI TCI ACC CCC TT		
KG1 <sub>h</sub> :	GTC TTG CTC ACC AGI TCI ACT CCC TT		
286red s TGV <sub>b</sub> :	TGT AAC TCG GTG TAY GG(N/I) TTY AC(N/I) GGV GT (P-434)	ORF 09	46°C
oder	TGT AAC TCG GTG TAY GGI TTY ACI GGV GT (P-347)		
as IYG:	CAC AGA GTC CGT RTC (N/I)CC RTA (N/I)AT		

### 7.1.1.1.11 Degenerierte Primer für den Erhalt von Teilfragmenten konservierter Gene von PLHV-3

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	Produktgröße	T <sub>a</sub>
920 s	GGA CAC TTT TGT (N/I)TC (N/I)CC (N/I)TG GAA	ORF 03	ca. 3.670 bp	55°C
921 as	CAC CCT CTG ACC TTG GCA AGA TAA	ORF 06		/
920 as	AGA TAA TCA GCC GTG CAG GTA ATG	ORF 06		55°C
504 s	TCT CAG GGC ATG TGG CCA GAC NCA GTT	ORF 06	303 bp	55°C
as	AAA TAT CCC ACA TTT CCA GAC TGR AA			
734 s	GCA AAA TCA ACC CTA CVA GYG TNA TG	ORF 08	509 bp	46°C
702 as	GTA RTA RTT RTA YTC YCT RAA			
896 s	ATG TTA GTC ATG AAC YVT TYC A(N/I)C A	ORF 17	321 bp	55°C
895 as	CTG GGC TTG TAC TNG CCT TTA AAT A			
924 s	CAG CCG AGG GCT TGT TYA ARA GYT T	ORF 25	434 bp	55°C
as	TCT CCA TTG CAT CAA CNC CAA AYT G			

### 7.1.1.1.12 Primer für die Long Distance-PCR bei PLHV-3

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	Produktgröße	T <sub>a</sub>
920 s	GGA CAC TTT TGT (N/I)TC (N/I)CC (N/I)TG GAA	ORF 03	ca. 3.670 bp	55°C
921 as	CAC CCT CTG ACC TTG GCA AGA TAA	ORF 06		/
920 as	AGA TAA TCA GCC GTG CAG GTA ATG	ORF 06		55°C
900 s	GAT TAT CTT GCC AAG GTC AGA GGG T	ORF 06	4.543 bp	58°C
as	GTG GTG GTT AGG AGT ATT TCA TTG TTG	ORF 08		
902 s	GCG TCA ACA ATG AAA TAC TCC TAA	ORF 08	3.360 bp	55°C
as	AAA GTT TGT CCG TGA TGT GCT GTG	ORF 09		
926 s	TTG CTA TCC CCT AGA TAT TCC TCT G	ORF 09	7.943 bp	55°C
as	ACT CAA TCA ATA AGC TAT GAA CCC A	ORF 17		
965 s	CTG TTA TGG GTT CAT AGC TTA TT	ORF 17	11.247 bp	52°C
as	TAT TTG GTC TTC TTC CAT CAC TA	ORF 25		

### 7.1.1.1.13 Primer für die Erstellung der Rohsequenz von PLHV-3

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	T <sub>a</sub>
928 as	TTA TTG ACC GTA GCT TCG GGC GTT G	ORF 08	64°C
929 s	AGT GGA GTG GCA ACA TTA TTT AGC T	ORF 08	58°C
930 as	GTT GTC AGA AGA TTA GAC AGT AGC GA	ORF 08	58°C
958 s	TAA AGG TTC TTG GAC GCA GAT GTA A	ORF 06	55°C
959 as	GAG CGT GTA GTC TTC TCG ATC TAA G	ORF 08	55°C
960 s	AAA ATC CAT TTG GTG GAA TGT TA	ORF 08	45°C
961 as	AAT GGG TTA ATC ACA GTC GCA CC	ORF 09	55°C
962 s	GGG GCT GCC TGA AGG CTT TGT AA	ORF 09	58°C
963 as	AAT GAC AAC AGT ACC TCA TCA TCC C	ORF 17	55°C
969 s	AGA GCC CTC TAT GGA ACA AGT TAA	ORF E4	55°C
970 as	CCA TCT GGT ACT GGT CCG ATG TA	ORF 06	58°C
971 s	TAC CAA GGG TTC GCC TCA ATG TA	ORF 06	57°C
972 as	TGT CAT CCC GAT CCA CAT AAG TTA GT	ORF 08	57°C
983 s	GAG CAG GCA CCT GTC AAG ATG AT	ORF 08	58°C
984 as	ATA ATC CCA ATC TGC CTC TAT CA	ORF 09	54°C
985 s	GTG TCC ACA AGA TGG CAC ATA AA	ORF 09	55°C
986 as	AGA AGT GAA ACT CCA AGA ACA TAC GC	ORF 17	58°C
1009 s	ACA TAG AAT GGC ATG GAT GGT TAG A	ORF E4	58°C
1010 as	CAT GGT GAC TGC CAG TAG GGA TTA	ORF 06	58°C
1011 s	CCT ACT AAC TAA TTT GCG AGA CAG GC	ORF 07	55°C
1012 as	GGT TGG TAA CTT CAG ATT CTT CCG TAT	ORF 08	58°C
1030 s	GTG TCT GTG AGA CTT ACC TCA TTT C	ORF 06	58°C
1031 as	TCC ATT CAA AAT AGG AGG GAA TC	ORF 06	54°C
1032 s	ATT CTG AAC CTA TAC AGG GTC TTT T	ORF 07	55°C
1033 as	AGT TCC CTC ACA TAT TTC CAG CAT	ORF 07	55°C

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	T <sub>a</sub>
1034 s	AAC CCA TTA GTC AGG AAG AGC T	ORF 08	55°C
1035 as	TGC GAG TAT AAG ACT CTG CCT TC	ORF 09	58°C
1036 s	TTT GGT CTT ACT TGC CAG TTT ATT	ORF A5	53°C
1037 as	ATG TCC TTT TCC GAT CAC CCT AG	intergenisch zwischen ORF 11 und 17	58°C
1072 s	CCC AAG ACA AGT ACA AAC TTC CC	ORF 06	57°C
1073 as	TGG TAA TTG CTT CGA CTC TAT CC	ORF 06	55°C
1074 s	AAC AGC CAC AGT TTC AGA GCA TG	ORF 07	55°C
1075 as	CCT AAA CAG GAA ATG ATT CAG CA	ORF 07	56°C
1076 s	TTA ATC CAC ATT TAA AAG GAG GG	ORF 09	55°C
1077 as	CCA GGT CAG TCA CCC TAC AGT CA	ORF 09	58°C
1078 s	AAT GTC GCC AGG CTA CAA GTG TT	ORF A5	60°C
1079 as	GGG GTC ATA TTT TGG GTA GAG GT	intergenisch zwischen ORF 11 und 17	57°C
1092 s	AGC AGC TCA TCA TCA TAA TTC AG	ORF A5	54°C
1093 as	TGT CCT CTA CTG GTC CTC TGG TTT	intergenisch zwischen ORF 11 und 17	60°C
1107 s	ACA AAG AGC GAA CGA GAT TTA AA	ORF 10	52°C
1108 as	TGA GGT ATG GAC ATT AGA ACA GC	intergenisch zwischen ORF 11 und 17	56°C
1132 s	GCA ACC AAT GTC AAT CAT CGT AT	ORF 10	57°C
1133 as	GTT TGT GCC GTT TTG ATA TGG AG	intergenisch zwischen ORF 11 und 17	59°C
1153 s	GGA GAT TCC TGG ATA CTT CTA CA	ORF 11	52°C
1154 as	GGC TGT AAT GTA AGT TCC GTT C	ORF 11	54°C

#### 7.1.1.1.14 Primer für die Verifizierung der Rohsequenz von PLHV-3

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	Produktgröße	T <sub>a</sub>
1050 s as	GGC TCA AAT GTT TGT CAG CTA TG AGG GCT ATG TCT TGT AAG ACC GT	ORF 06	560 bp	58°C
1052 s as	AGT GCA GGT GAG GCT AAC ACG AG AAT GGG TAC GGT TAC AAT GGG TC	ORF 06	639 bp	59°C
1053 s as	TTG CCA AGG TCA GAG GGT GTA AG TTC ATC TGG AGT GCA AGG TGG TT	ORF 06	638 bp	60°C
1055 s as	GCA GGC GAA CAA GTA CCA AAC AT ATG GGA AAC GAG ACT CAC AAA CTC A	ORF 03 ORF E4	586 bp	57°C
1056 s as	AAT GCT TGA TCG AAC TGC CGT AT GTG GAC TGC CTT AAT GTT AGT GA	ORF E4 ORF 06	686 bp	54°C
1057 s as	CAG TTA TTC TGA GGT CGC CCT AC CAT CGA GTA ACC CTG ATA CAT TC	ORF 06	610 bp	54°C
1058 s as	CAG ATG GAC AGC AGA TAA GAG TT TTG AAG CAT TGT ATG GTT CAA GT	ORF 09	601 bp	57°C
1059 s as	CTT CTG GTA TGC TGC CCT GTC TC TTT TGC ACA GGA ACT CTG TTT TCA C	ORF 09	616 bp	61°C
1061 s as	GTG ATC GGA AAA GGA CAT GGA GA GTT GTG GTT AAG CAG GAG GAA GC	intergenisch zw. ORF 11 und 17 ORF 17	529 bp	60°C

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	Produktgröße	T <sub>a</sub>
1062 s as	TCT TCG GCG TAT GTT CTT GGA GT CTTA GGG ATA ACA GGA TGA CAC T	ORF 17	673 bp	54°C
1063 s as	TTG TCA TTG GAT GAA AGG GTG GC GCA CTG GGC AAA AGA AGG GGA TC	ORF 17	522 bp	60°C
1064 s as	ACA AAA GGT TAC TAA AGA AGG AA GAG ACT GAT AAT ACA AGT TCC CT	ORF 07	546 bp	54°C
1065 s as	ATG ATA CAT CCA AAG TTA GAG CC CTG TAA GGA AAG GTA GAA GGT GA	ORF 07 ORF 08	582 bp	56°C
1066 s as	TAC ACG GAT GCC AAT ACA ACA GC AAC CAG GTT CCA GGT ACA AAT CG	ORF 08	517 bp	60°C
1067 s as	ACT AAC TTA TGT GGA TCG GGA TG TCC TTA TCT ACG GTA AAG GAA GC	ORF 08	543 bp	54°C
1068 s as	CAG GGG AAC TTT ACC TCA GGG TA GAT TCT CAT GCG CAA ATT GTC AT	ORF 08	574 bp	59°C
1069 s as	ACT AAT TGA AGC AAG AAG TAG AC AAG TAT GTG GTG GTT AGG AGT AT	ORF 08	537 bp	53°C
1070 s as	TAG GGT TCC AAA CTC AGA AGA AA GCT AAA TAA TGT TGC CAC TCC AC	ORF 08	529 bp	57°C
1071 s as	TAT TGG ATT TGA GCA CCA ACA GA TTA CAT AGA GCA ATA GTC CTG CA	ORF 08 intergenisch zw. ORF 08 und 09	572 bp	57°C
1109 s as	TGT AAT AGG CCC GAT GCA TTA CT GGA AGG ATT TAG GGG ATA TTT GG	ORF 03	599 bp	60°C
1110 s as	GGA TTT GAA GGG CTG CAT ATT AC ATG GTT GTT CTC GGA GAA GGA GA	ORF 03 ORF E4	644 bp	60°C
1111 s as	GAC TCT TGT ATC ATG GCT GTT GT AAT TGC TTC GAC TCT ATC CTC TT	ORF 06	522 bp	57°C
1112 s as	ATG ATT GTT GAT AAT GTT TGT GCT G CCA TTC AAA ATA GGA GGG AAT CT	ORF 06	629 bp	57°C
1113 s as	TGT GGT ATG TGA ACT GAT AAA GG TCT CGC AAA TTA GTT AGT AGG TG	ORF 06 ORF 07	560 bp	57°C
1114 s as	ACC AAG GGT TCG CCT CAA TGT AA TAC TGG AGA AAT TCC TCG CAG TT	ORF 06 ORF 07	575 bp	60°C
1115 s as	GAT TTT GGT GAA TGA TGT AGA GG ATC TTT GTG AGC TGA GAA CAT TG	ORF 07	525 bp	56°C
1116 s as	AAG TTT TAA CAG ATG GCT CAG AG CCT TCT TTA GTA ACC TTT TGT AG	ORF 07	580 bp	57°C
1117 s as	TGT AGT CCC CAG AGT ATA GAG TT CTT TAA ATT ATC CAA GTG TTC CT	ORF 07	582 bp	57°C
1118 s as	GGA TCG AAT CAT ACT TGC TAT GCA TGA GTA AAC ACC GTC TTC ACA AA	ORF 08 ORF 09	517 bp	57°C
1119 s as	TTA ATC CAC ATT TAA AAG GAG GG TGT CTC AGT CTG TTG GAC AAA AC	ORF 09	628 bp	59°C

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	Produktgröße	T <sub>a</sub>
1120 s as	TTG CAA TTT CAA TGT GGT CAA AG TGC ATA AAG CAT ATC AAG CTC TG	ORF 09	547 bp	59°C
1121 s as	GAC GGA GAT ATG ATT ATA CAG AT AGT ATA GAA TCC TGT ACG CAA TA	ORF 09	559 bp	57°C
1122 s as	ATG AAG GCA GAG TCT TAT ACT CG CAG GTG TAT TGT AGA AAC CAG AC	ORF 09	540 bp	57°C
1195 s as	TGC TGT TGA TGT TGA ATC TGT G AAT TTT CCC TCT TTG ACA CTG A	ORF 06	548 bp	55°C
1196 s as	TGG TGC TAA ATG ATG AGA CTG T CCA TGT TTG AGA TTA TTG GAA A	ORF 09 intergenisch zw. ORF 09 und A5	618 bp	55°C
1197 s as	CCA CAA GAT GGC ACA TAA ACT A GCA TTC TGT AAG GGT ACA TTT C	ORF 09 ORF A5	592 bp	55°C
1198 s as	GCT AGA TTT AAG CCG CAG AGT A CCA CCA GAG TCA CTG CTT GTA C	ORF A5	592 bp	57°C
1199 s as	TTG TGG CAA CTT TTC TTA CCG T AAG CCC GTA CTG TTG AAA CAT C	ORF A5 ORF 10	643 bp	59°C
1200 s as	ACG TTT CAT ATT GGT CAA CAA C AAT TTC CAG ACT ATC CTT CTC A	ORF 10	631 bp	54°C
1201 s as	TTG ATC ATG AAT CCG TGA GAA T AAA CTC GTC CTC AAT CTT GTT C	ORF 10 ORF 11	628 bp	53°C
1202 s as	CAC TCT ACT GGC AAG ACA GTG A CAA ATG TAA GCC TCT GGG TGT A	ORF 10 ORF 11	554 bp	53°C
1203 s as	GAA ATC AAG CGG CCC AAA TAT G TGG CAT CCA CTG ACA AGT TTC A	ORF 11	645 bp	55°C
1204 s as	CAA ATA TTA CTG TAT GAA CGG A AAA GTG AGT CTA TTT AGC CAG A	ORF 11 intergenisch zw. ORF 11 und 17	597 bp	48°C
1205 s as	TCT GGG CAT CAG ATG GGC TTT G TCA TGG GCA TTT ATG GGA CTT C	intergenisch zw. ORF 11 und 17	644 bp	59°C
1206 s as	CTT CTA ACT ACA CTT TTA GCA AAC ACT CAT TTG ACA ACT TCC TTC C	intergenisch zw. ORF 11 und 17	583 bp	50°C
1207 s as	AAC CAG AGG ACC AGT AGA GGA C GTG ATG CAG CAA ACA GGA GTA A	intergenisch zw. ORF 11 und 17	591 bp	54°C
1208 s as	AAA AGA GCC CAT GGT TTC ACT G GAT GCA AGA CGC AAA GAA TCA C	intergenisch zw. ORF 11 und 17	572 bp	58°C
1330 s as	AAT TCT TAG TGC CTC CTC AAC G TTC ACG GGT ACA AAT CGA AAG G	5' von ORF 03	565 bp	58°C
1331 s as	TCT ATT TAG AGC GTT TAC TTA TC ACT GCC CAG TAT TTT CAC ATC	5' von ORF 03	560 bp	52°C
1332 s as	TAT TTC CTG TCA AAG TCA GCG AGA CAA ACA TAG CCG ACA ATG	5' von ORF 03	579 bp	55°C
1333 s as	CTA ACC CTC CTT TTG TAG ACC GCT AAT ATC TCC ACT GAG AAT AA	5' von ORF 03 ORF 03	617 bp	52°C

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	Produktgröße	T <sub>a</sub>
1334 s as	CCT TCA GGA GAC CGG AGA CAG TGG CAC CTT GTT CAA TGT TTG	ORF 03	612 bp	60°C
1335 s as	CAC GAG TAG TCT GTT TCA GCA CCC CAA GTC TTT GAC TCC ATT	ORF 03	560 bp	55°C
1336 s as	GGT TTC ACA AGG TTT AGT AGT GAT TTC ACC CAA ATA CAA GAC	ORF 03	595 bp	50°C
1337 s as	TGG CAT GTG GAG AAG ATT GTG AAT ACA TAT TTT GCT CCA CCG	ORF 03	621 bp	57°C
1338 s as	CAT TTT ACA ACA CCC CAC AGT GCT GTC CCA TCA CCA CTA TTA	ORF 03	615 bp	55°C
1339 s as	CAT TGC ATG GGC AAT AAC AGA CTC CAG GTG TTT GAG AAC ATA AA	ORF 03	617 bp	58°C
1340 s as	TCG AAA TAA AGA AAG AAG GCC TGA ACT GTG CCA AGA GTT GTT	ORF 03	599 bp	55°C
1341 s as	TGA GGT GGT ATT ACC AAA GGA AAA CCT CTG GAT TCT TAT GCC	ORF 03	590 bp	55°C
1342 s as	GGT GGC TCA ACT TTC ATA TTC CCA ATT TGA AAC AGA ACC ACA	ORF 03 ORF E4	627 bp	55°C
1441 s as	CGG TGT CCC AAA TTA CTT CAA CTC AAA TGG TCG CAT GGT CTT	ORF 10	382 bp	57°C
1560 s as	ATA AAC TGC AAC AGA TCC CCT TCT TAT TCT GTA GGG ACC TTT CTG CTC	ORF 17 ORF 18	683 bp	60°C
1636 s as	TCT GGT GCT AAA TGA TGA GAC TGT AGA GCA AAG CAA AGA AAC	ORF 09 ORF A5	718 bp	57°C

#### 7.1.1.15 Primer für den Genomvergleich von PLHV-3 in L23-Zellen und der Gewebeprobe #489

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	Produktgröße	T <sub>a</sub>
1330 s 1342 as	AAT TCT TAG TGC CTC CTC AAC G CCA ATT TGA AAC AGA ACC ACA	5' von ORF 03 ORF E4	5.703 bp	55°C
920 s 921 as 920 as	GGA CAC TTT TGT (N/I)TC (N/I)CC (N/I)TG GAA CAC CCT CTG ACC TTG GCA AGA TAA AGA TAA TCA GCC GTG CAG GTA ATG	ORF 03 ORF 06 ORF 06	ca. 3.670 bp	55°C / 55°C
900 s as	GAT TAT CTT GCC AAG GTC AGA GGG T GTG GTG GTT AGG AGT ATT TCA TTG TTG	ORF 06 ORF 08	4.543 bp	58°C
902 s as	GCG TCA ACA ATG AAA TAC TCC TAA AAA GTT TGT CCG TGA TGT GCT GTG	ORF 08 ORF 09	3.360 bp	55°C
926 s 1133 as	TTG CTA TCC CCT AGA TAT TCC TCT G GTT TGT GCC GTT TTG ATA TGG AG	ORF 09 intergen. zw. ORF 11 u. 17	4.762 bp	58°C
1132 s 926 as	GCA ACC AAT GTC AAT CAT CGT AT ACT CAA TCA ATA AGC TAT GAA CCC A	ORF 10 ORF 17	4.838 bp	57°C



Primer	Sequenz	Ziel-Gen	Produktgröße	T <sub>a</sub>
965 s 1606 as	CTG TTA TGG GTT CAT AGC TTA TT CAT TAT GGG TTA TGG AAT CAT GTT	ORF 17 ORF 22	5.850 bp	52°C
1606 s 1571 as 1642 s 1570 as	AGA GGT GAT AGA GGA GGA CAG CAT TAT TGT GCC TCT GTT AAC TCT TCC GGA AGT TAA GGC AGC ATT TCA CGC ACA TGT GAT TCC AAG TAT TTC CAT	1.Runde: ORF 21 ORF 23 2. Runde: ORF 21 ORF 23	4.253 bp 3.216 bp	57°C / 57°C
1571 s 966 as	TAT TGT GCC TCT GTT AAC TCT TCC CCA TCA CTA TGT GCA ATA GTA GG	ORF 23 ORF 25	3.369 bp	55°C
1576 s 1637 as	TGT AAC AAT TTG TGC TTA TGA ACT CAT TAC GAT TTG ATG TTG TGC TA	ORF 24 ORF 29b	6.027 bp	53°C
1637 s 1346 as	AAG GTT ATA AAA CAT GAC GAT GG TAG TGC AAA CCT TGA ATG CTA CTG	ORF 26 ORF 29a	5.948 bp	55°C
1529 s 1270 as	CCC ACA TCA CTG GTA AAA TCA GTT ATT TTG TTT GAG CTT TAT GAT GGC	ORF 29a ORF 39	4.940 bp	57°C
1370 s 1474 as	TCC CTA CAC TGA TGT CTC AAT AAA TTG TGC AAT TGG TTC TTA CAA CTA	ORF 39 ORF 43	4.081 bp	55°C
1474 s 967 as	TTA CTG ACT CAG GCT GCT GTA AAT TAA TCA GCC ACA ACC TTG TTT CC	ORF 41 ORF 44	3.455 bp	57°C
1701 s 1709 as	TTG CTA CCC TTT TCT GCC TAT GT TTG CTT CTT ACA TTG AAT ATC TCC T	ORF 44 ORF 49	5.961 bp	55°C

### 7.1.1.1.16 Primer für die Herstellung der DIG-markierten DNA-Sonden

Primer	Sequenz	Ziel-Gen	Produktgröße	T <sub>a</sub>
1066 s as	TAC ACG GAT GCC AAT ACA ACA GC AAC CAG GTT CCA GGT ACA AAT CG	PLHV-3: ORF 08	517 bp	60°C
1472 s as	AAC AGA GAG CTC GAA GCA AGA AGT AGA CTC AAT AAA GTC CTC GAG TTC CAA TAG AGT AAA ATT AAG	PLHV-3: ORF 08	703 bp	49°C
920 s 921 as 920 as	GGA CAC TTT TGT (N/I)TC (N/I)CC (N/I)TG GAA CAC CCT CTG ACC TTG GCA AGA TAA AGA TAA TCA GCC GTG CAG GTA ATG	PLHV-3: ORF 03 ORF 06 ORF 06	Ca 3.670 bp	55°C / 55°C
1606 s 1571 as 1642 s 1570 as	AGA GGT GAT AGA GGA GGA CAG CAT TAT TGT GCC TCT GTT AAC TCT TCC GGA AGT TAA GGC AGC ATT TCA CGC ACA TGT GAT TCC AAG TAT TTC CAT	PLHV-3: ORF 21 ORF 23 PLHV-3: ORF 21 ORF 23	4.253 bp 3.216 bp	57°C / 57°C
197 s as	TTT ATC CTG CCC ATG CCC TCG GC GGA CCC TGC CTT CAC GGA GGT CTG T	EBV: ORF 09	1.040 bp	63°C
1023 s as	AGA TAG TGG ACT ACG ACA ACC GAG ACC ATG TTC TGC CTC TTC TGC TC	EBV: ORF 08	706 bp	61°C

## 7.2 Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

### 7.2.1 Viren

AIHV	Alcelaphines Herpesvirus (Gnu)
BLHV	Bovines Lymphotropes Herpesvirus (Rind)
BoHV	Bovines Herpesvirus (Rind)
CaHV	Caviides Herpesvirus (Meerschweinchen)
CaLHV	Callithrichines Herpesvirus (Krallenaaffe)
CeHV	Cercopithecines Herpesvirus (Rhesusaffe)
CoHV	Columbides Herpesvirus (Taube)
CprHV	Caprines Herpesvirus (Ziege)
EBV	Epstein-Barr-Virus (HHV-4)
EHV	Equines Herpesvirus (Pferd)
EIHV	Elefanten Herpesvirus
FeHV	Felines Herpesvirus (Katze)
GaHV	Gallides Herpesvirus (Geflügel)
HCMV	Humanes Cytomegalievirus (HHV-5)
HHV	Humanes Herpesvirus
HIV	Humanes Immundefizienz Virus
HSV-1	Herpes Simplex Virus 1 (HHV-1)
HSV-2	Herpes Simplex Virus 2 (HHV-2)
HVA	Herpesvirus Ateles (Klammerschwanzaffe)
HVS	Herpesvirus Saimiri (Totenkopffäffchen)
KSHV	Kaposi Sarkom-assoziiertes Herpesvirus (HHV-8)
MCMV	Murines Cytomegalievirus (Maus)
MHV-68	Murines Herpesvirus Typ 68 (Maus)
MuHV	Murines Herpesvirus (Maus)
OvHV	Ovines Herpesvirus (Schaf)
PCMV	Porcines Cytomegalievirus (SuHV-2, Schwein)
PERV	Porcines Endogenes Retrovirus (Schwein)
PLHV	Porcines Lymphotropes Herpesvirus (Schwein)
PRV	Pseudorabies Virus (SuHV-1, Schwein)
RFHV	Retroperitoneale Fibromatose-assoziiertes Herpesvirus (Makaken)

---

RhHV	Rhinozeros Herpesvirus
RRV	Rhesusaffen Rhadinovirus
SuHV	Suid Herpesvirus (Schwein)
VZV	Varizella-Zoster-Virus (HHV-3)

### **7.2.2 Sonstige Abkürzungen**

µg	Mikrogramm
µJ	Mikrojoule
µl	Mikroliter
µM	Mikromolar
aa	Aminosäure
Abb.	Abbildung
AMPerase	Uracil N-Glycosylase
AP	Alkalische Phosphatase
as	antisense (Orientierung)
B	Belgien
BKF	Bösartiges Katarrhalfieber
bp	Basenpaar
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cDNA	komplementäre DNA
CH	Schweiz
cm	Zentimeter
CpE	cytopathogener Effekt
d	Tag
D	Deutschland
d.h.	das heißt
DIG	Digoxigenin
DK	Dänemark
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNase	Desoxyribonuklease
dNTP	Desoxynukleotid-Triphosphat
DPOL	DNA-Polymerase

---

dUTP	Desoxyuridin-Triphosphat
ECACC	European Collection of Cell Cultures (Europäische Zellbank)
etc.	et cetera
FGAM-Synthetase	Phosphoribosylformyl-Glycinamid-Synthetase
FITC	Fluoresceinisothiocyanat
FKS	Fötale Kälberserum
g	Gramm
oder	g-Zahl (Erdbeschleunigung)
gB	Glykoprotein B
GCR	G-protein coupled receptor (G-Protein gekoppelter Rezeptor)
Ggl.	Ganglion
Ig	Immunglobulin
i.m.	intramuskulär
J	Japan
kbp	Kilobasenpaare
l	Liter
Lsg.	Lösung
M	Molar
MACS	Magnetic Cell Separation (magnetische Zellseparation)
MAPK	Mitogen-aktivierte Proteinkinase
mbar	Millibar
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mM	Millimolar
mRNA	messenger RNA (Boten-RNA)
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
ORF	open reading frame (Offener Leserahmen)
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cells (Mononukleäre Zellen des peripheren Blutes)
PBS	Phosphate buffered saline (phosphatgepufferte Kochsalzlösung)
PCR	Polymerase chain reaction (Polymerasekettenreaktion)

---

pg	Pikogramm
PKC	Proteinkinase C
PTLD	Posttransplant Lymphoproliferative Disorder
RCLB	Red Cell Lysis Buffer (Puffer für die osmotische Lyse von Erythrozyten)
RNA	Ribonukleinsäure
Rnase	Ribonuklease
rpm	rounds per minute (Umdrehungen pro Minute)
RT	Reverse Transkriptase
S.	Seite
s	sense (Orientierung)
s. Abb.	siehe Abbildung
SDS	Natriumdodecylsulfat
sek	Sekunde
s. Kap.	siehe Kapitel
s.o.	siehe oben
SSC	Standard Saline Citrat
s. Tab.	siehe Tabelle
SW	Schweden
T <sub>a</sub>	annealing temperature (Primerbindungs-Temperatur)
Tab.	Tabelle
T <sub>m</sub>	melting temperature (Schmelztemperatur)
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
U	unit (Einheit)
UK	United Kingdom (Großbritannien)
USA	United States of America (Vereinigte Staaten von Amerika)
u.a.	und andere
UV	Ultraviolett
V	Volt
v.a.	vor allem
v/v	volume / volume (Volumen / Volumen)
w/v	weight / volume (Gewicht / Volumen)
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

### 7.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Aufbau eines Herpesvirus.....	7
Abbildung 2	Genomorganisation der Herpesviren.....	8
Abbildung 3	Vergleich der genetischen Organisation der vollständig sequenzierten Gammaherpesviren.....	12
Abbildung 4	Phylogenetische Analyse der DNA-Polymerase von PLHV-1 und -2.....	14
Abbildung 5	Schematische Darstellung der Primerlokalisierung bei der Consensus-PCR.....	36
Abbildung 6	Beispiel für das Ergebnis einer TaqMan-PCR.....	39
Abbildung 7	Test der modifizierten Consensus-PCR.....	63
Abbildung 8	Anordnung der putativen offenen Leserahmen von PLHV-3 .....	69
Abbildung 9	Phylogenetische Analyse der DNA-Polymerase von PLHV-3.....	71
Abbildung 10	Bootstrap-Analyse der DNA-Polymerase von PLHV-3.....	72
Abbildung 11	Phylogenetische Analyse des neuen Virus.....	75
Abbildung 12	Nachweis des neuen Virus in Blutproben von Rind, Schaf und Ziege .....	77
Abbildung 13	Nachweis von genomischer DNA der Ziege in den Proben #694 und #702.....	78
Abbildung 14	Relative Virus-Kopienzahlen in den sortierten PBMC-Subpopulationen .....	93
Abbildung 15	Vergleich der Genomlänge von PLHV-3 in L23-Zellen und der Probe #489 ....	97
Abbildung 16	Gardella-Gel-Analyse von B95-8- und L23-Zellen.....	98
Abbildung 17	Gardella-Gel-Analyse von stimulierten L23-Zellen .....	105

## 7.4 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Organbedarf und durchgeführte Transplantationen in den Jahren 1998-2001 (nur Deutschland) .....	3
Tabelle 2	Sequenzen der Primer KG1 <sub>a</sub> bis KG1 <sub>h</sub> .....	59
Tabelle 3	Ergebnis des KG1-Einzelprimertests .....	60
Tabelle 4	Ergebnis des Sequenzvergleichs von 37 Herpesviren mit den Primern KG1 <sub>a</sub> , KG1 <sub>c</sub> und TGV <sub>a</sub> .....	61
Tabelle 5	Ergebnisse der Sequenzierung der mit der modifizierten Consensus-PCR erhaltenen PCR-Produkte .....	64
Tabelle 6	Ergebnisse der Sequenzierung der mit der nicht modifizierten Consensus-PCR erhaltenen PCR-Produkte.....	65
Tabelle 7	Putative Leserahmen von PLHV-3 .....	69
Tabelle 8	Homologie der PLHV-3-Gene zu denen anderer Herpesviren.....	73
Tabelle 9	Prävalenz von PLHV-3 in der Schweinepopulation .....	74
Tabelle 10	Homologie des neuen Virus zu den am nächsten verwandten Viren .....	75
Tabelle 11	Nachweis des neuen Virus in Blutproben von Ziegen aus dem Zoologischen Garten Berlin (Saaneziegen).....	77
Tabelle 12	Kokultivierung mit permanenten Zelllinien .....	80
Tabelle 13	Kokultivierung mit primären Zellen .....	81
Tabelle 14	Stimulation primärer PBMC mit 5 verschiedenen Substanzen bzw. Substanzkombinationen .....	82
Tabelle 15	Stimulation primärer PBMC mit 10 verschiedenen Substanzen bzw. Substanzkombinationen .....	83
Tabelle 16	Stimulation primärer PBMC mit 17 verschiedenen Substanzen bzw. Substanzkombinationen .....	84
Tabelle 17	Quantitative Analyse der Stimulation primärer PBMC mit 17 verschiedenen Substanzen bzw. Substanzkombinationen.....	86
Tabelle 18	Stimulation primärer PBMC mit ausgewählten Stimulationsprotokollen .....	89
Tabelle 19	Absolute Virus-Kopienzahlen in den sortierten PBMC-Subpopulationen .....	94
Tabelle 20	Stimulation der L23-Zellen .....	99
Tabelle 21	Zeitkinetik der Stimulation von L23-Zellen .....	100
Tabelle 22	Untersuchungen zur Konzentrationsabhängigkeit der Stimulation.....	103