

新城疫分离毒 HN 蛋白的抗原性初步分析及分子特性研究

姚春峰 仇旭升 刘文博 顾 敏 吴 双 曹永忠 刘秀梵*

(扬州大学 农业部畜禽传染病学重点开放实验室 扬州 225009)

摘 要: 运用针对 NDV 囊膜糖蛋白(HN)的单克隆抗体(MAbs), 对 2005~2006 年间自我国江苏和广西部分地区的 20 株 NDV 分离株进行排谱试验, 初步分析了不同毒株之间 HN 蛋白的抗原表位差异; 并应用 RT-PCR 技术成功扩增了其 HN 基因整个编码区, 经克隆、测序最终获得 13 株鸡源 NDV 与 7 株鹅源 NDV HN 基因的编码区序列, 分析测定核苷酸序列及推导的氨基酸序列, 并将鹅源 NDV 与鸡源 NDV 相应序列进行了比较。结果单抗排谱试验表明, 20 株 NDV 分离株之间 HN 蛋白的抗原表位存在差异; 测序结果表明, 测定的 HN 基因的编码区长度皆为 1716nt 编码 571 个氨基酸; 分离株中 18 株基因 VII 型 NDV 分离株之间 HN 基因编码区核苷酸序列具有较高的同源性, 达 94.8%~100%; 与近几年国内流行的其它基因 VII 型 NDV 之间的核苷酸序列同源性为 92.1%~99.6%。对其推导的 HN 蛋白一级结构中潜在的糖基化位点及 HN 蛋白细胞受体结合相关区域的氨基酸序列等进行了比较分析。结果显示, 单抗排谱差异显著株在部分氨基酸位点发生了突变; 同时揭示我国部分地区同期流行的鹅源 NDV 与鸡源 NDV HN 基因之间具有较近的亲缘关系。

关键词: 新城疫病毒, 单克隆抗体, HN 基因, 序列分析

Genetic Characterization and Antigenic Analysis of Hemagglutinin-neuraminidase Glycoprotein of Newcastle Disease Virus Isolates

YAO Chun-Feng QIU Xu-Sheng LIU Wen-Bo GU Min WU Shuang
CAO Yong-Zhong LIU Xiu-Fan*

(Key Laboratory of Animal Infectious Diseases of Ministry of Agriculture, Yangzhou University, Yangzhou 225009)

Abstract: Twenty Newcastle disease virus (NDV) strains were isolated from diseased chicken and geese in field outbreaks during 2005 and 2006 in some regions of Jiangsu and Guangxi, and the antigenic analysis of the all NDV isolates had been done based on the reaction spectrum with a panel of monoclonal antibodies to

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划(No.2006BAD06A03); 国家自然科学基金重点项目(No.30630048); 江苏省教育厅指导计划项目(No.06KJD230211)

* 通讯作者: Tel: 0514-7991416; Fax: 0514-7972591; ✉: xfliu@yzu.edu.cn

收稿日期: 2007-04-28; 接受日期: 2007-06-06

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

the HN glycoprotein. The entire ORFs encoding HN protein of these NDV isolates were amplified by RT-PCR successfully, cloned and sequenced. The resultant sequences of HN genes of 13 isolates of chicken origin and 7 isolates of goose origin were gained and analyzed. The results of reaction spectrum showed that there were some distinct differences in the antigenic epitopes among the 20 NDV isolates. And the sequences revealed that the coding regions of the HN genes of these isolates all consisted of 1716 nt characteristic of virulent strains of NDV, coding for 571 amino acids. Nucleotides sequence homology were found to be from 94.8% to 100% among 18 NDV isolates of genotype , and the nucleotides sequence homology between all the isolates and the other genotype strains of recent years in China ranged from 92.1% to 99.6%. The deduced amino acid sequences and the receptor-binding regions of HN proteins between the NDV isolates of chicken origin and of goose origin were compared and analyzed. The results showed that some unique amino acid substitutions were found in the genome of the NDV isolates, and the close genetic similarity provided evidence for epidemiological linkage between the NDV isolates of chicken origin and of goose origin in the same period.

Keywords: Newcastle disease virus, Monoclonal antibody, Hemagglutinin-neuraminidase gene, Sequence analysis

新城疫病毒(NDV)归类于副粘病毒科、副粘病毒亚科中的禽腮腺炎病毒属,只有一个血清型,属于禽副粘病毒 I 型(APMV-1),为单股负链不分节段 RNA 病毒,其基因组长约 15 kb,主要包括 6 个基因,按 3'-NP-P-M-F-HN-L-5' 排列,分别编码 6 个主要结构蛋白,即核衣壳蛋白(NP)、磷蛋白(P)、基质蛋白(M)、融合蛋白(F)、血凝素-神经氨酸酶(HN)和大蛋白(L)。血凝素-神经氨酸酶(HN)是位于新城疫病毒(NDV)囊膜表面的一种糖蛋白,负责识别靶细胞含唾液酸受体,介导病毒对靶细胞的吸附,促使新生的病毒粒子从感染细胞膜表面释放;其第三种功能是促进融合(F)蛋白的融合功能^[1, 2];此外,HN 蛋白还与 NDV 的毒力有一定关系。作为暴露于病毒囊膜表面的蛋白,HN 蛋白与 F 蛋白一样经受各种选择压力的作用。在 NDV 的进化过程中,HN 基因以一定的几率发生同义置换^[3];在免疫选择压力下,HN 蛋白也可能因点突变而导致抗原位点的改变。因此,HN 基因的变化亦能代表 NDV 的进化规律和趋势。本研究是以从 2005~2006 年间自江苏和广西部分地区发病鸡群中分离鉴定到的 20 株 NDV 作为研究对象,在对其进行毒力指标测定和 F 基因序列测定与遗传进化分析的基础上,运用本实验室现有的单克隆抗体(针对 HN 蛋白)对其进行排谱试验旨在对 NDV 分离毒株之间 HN 蛋白的抗原性差异进行初步分析,并运用分子生物学方法,扩增其 HN 基因,探导 NDV 分离毒差异显著株 HN 蛋白基因的分子特征,最后将 20 株 NDV 分离株 HN 基因序列与其他不同禽源的 NDV 参考毒株的核苷酸与氨基酸序列进行

比较分析,旨在进一步研究鸡源 NDV 与同期流行的鹅源 NDV 遗传学关系,研究 NDV 遗传变异规律,为我国 ND 疫情的监测和防制提供流行病学依据。

1 材料与方法

1.1 病毒

20 株 NDV 分离株均由扬州大学农业部畜禽传染病学重点开放实验室在 2005~2006 年间从 ND 发病禽群体内分离鉴定并保存,其中包括 13 株鸡源毒株,7 株鹅源毒株。所有毒株均通过接种鸡胚成纤维细胞(CEF)进行蚀斑克隆纯化^[4],并由毒力指标测定证明为速发型强毒株(具体见表 1)。

1.2 单克隆抗体

针对 HN 蛋白的单抗 6B1、2G5、3A4、3B5、8C5 均由扬州大学农业部畜禽传染病学重点开放实验室研制并保存。

1.3 主要试剂

PBS、1%的鸡红细胞按 OIE 标准方法自制;RNA 提取试剂 Trizol LS Reagent 购自 GIBCO 公司,禽白血病毒反转录酶(AMV)、TaqDNA 聚合酶、pGEM-Teasy Vector、感受态大肠杆菌等购自 Roche 公司和 Promega 公司,Agarose Gel DNA Purification kit(ver.2.0)购自大连 TaKaRa 公司。

1.4 单抗排谱试验

按参考文献[6]报道的方法进行。测定各毒株的血凝效价后,配制出相应的 4 单位病毒液,然后与单克隆抗体(腹水稀释液)分别进行 HI 试验,并记录相关数据。

表 1 新城疫病毒分离株的部分特性及 HN 蛋白单抗排谱试验结果
Table 1 Properties of the NDV isolates and the results of reaction spectrum with a panel of monoclonal antibodies to the HN glycoprotein

Isolate	Origin	Host	MDT(h)	ICPI	Genotype	Mabs(log2)				
						6B1	2G5	3A4	3B5	8C5
JS-1-05-Ch	Xuyi	chicken	45.3	2.00		10	10	10	10	10
JS-2-05-Go	Nanjing	goose	56.4	1.79		0	0	0	0	0
JS-3-05-Ch	Danyang	chicken	56.2	1.83		10	10	10	8	0
JS-4-05-Go	Yangzhou	goose	50.4	1.88		9	10	9	4	8
JS-5-05-Go	Yangzhou	goose	50.0	1.86		10	10	10	9	0
JS-6-05-Go	Jiangyan	goose	53.6	1.93		0	0	0	0	0
JS-7-05-Ch	Haimeng	chicken	46.8	1.88		10	10	10	9	4
JS-8-05-Ch	Taixing	chicken	53.6	1.91		7	10	7	3	10
JS-9-05-Go	Yizheng	goose	49.2	1.61		10	10	10	10	10
JS-10-05-Ch	Yancheng	chicken	56.4	1.85		0	0	0	0	0
GX-1-05-Ch	Guangxi	chicken	45.6	1.84		10	10	10	5	0
GX-2-05-Ch	Guangxi	chicken	50.2	1.85		10	10	10	9	0
GX-3-05-Ch	Guangxi	chicken	49.0	1.90		9	10	10	4	0
GX-4-05-Ch	Guangxi	chicken	50.0	1.90		10	10	10	5	0
GX-5-05-Ch	Guangxi	chicken	52.0	1.84		9	10	9	9	0
JS-1-06-Ch	Haian	chicken	58.2	1.84		8	10	9	3	0
JS-2-06-Ch	Rugao	chicken	45.6	1.98		9	10	10	5	0
JS-3-06-Go	Changzhou	goose	54.8	1.83		10	10	10	8	0
JS-4-06-Go	Xinghua	goose	56.4	1.88		10	10	10	4	0
JS-5-06-Ch	Wujin	chicken	52.0	1.85		10	10	10	4	10

1.5 引物设计

根据 GenBank 中已发表的 NDVHN 基因核苷酸序列两端的保守区域运用 Oligo6.0 引物设计软件设计, 由上海 Sangon 公司合成。

序列为:

HN1: 5'-CTTCACAACATCCGTTCTACC-3'

HN2: 5'-ACCTTCCGAGTTTTATCATTCT-3'

通用 RT 引物为: 5'-AACACGGGTAGAAGA-3'

1.6 病毒 RNA 的提取

取 250 μ L 分离株病毒的尿囊液, 加入 750 μ L Trizol LS reagent (life Technologies, Invitrogen)混匀后室温静置 5 min, 加入 200 μ L 氯仿, 轻微振荡混匀, 4 $^{\circ}$ C, 12000 r/min 离心, 离心 10 min, 取上清约 500 μ L, 加入 0.5 mL 的异丙醇, 混匀后室温置 10 min 或 -20 $^{\circ}$ C 过夜, 12000 r/min 离心 10 min, 沉淀干燥后悬于适量的 DEPC 处理水中备用。

1.7 病毒 HN 基因的 RT-PCR 扩增

取病毒 RNA 悬液 15 μ L, 通用 RT 引物 1 μ L (25 pmol) 混匀后, 置于 72 $^{\circ}$ C 水浴中, 作用 10 min, 然后冰浴 5 min, 依次加入 5 \times 反转录酶缓冲液 5 μ L,

dNTPS(10 mmol/L)2 μ L, RNA 酶抑制 1 μ L (20 U), AMV 反转录酶 1 μ L, 42 $^{\circ}$ C 水浴中作用 60 min~90 min, 95 $^{\circ}$ C 作用 5 min 灭活反转录酶。

PCR 反应体系: 10 \times Taq DNA 聚合酶缓冲液 5 μ L, Taq DNA 聚合酶 1 μ L (5U/ μ L), 上下游引物各 1 μ L (25 pmol/ μ L), cDNA 2 μ L, dNTPs(10 mmol/L)1 μ L, 灭菌超纯水加至 50 μ L, 置于 PCR 仪中进行 RCR 扩增。PCR 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 然后 94 $^{\circ}$ C 变性 40 s, 50 $^{\circ}$ C 退火 40 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 进行 30 个循环后, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 结束反应。取 PCR 产物 3 μ L, 在 1%琼脂糖凝胶上电泳检查结果。

1.8 HN 基因的克隆转化和基因测序

PCR 产物的回收按 Agarose Gel DNA Purification Kit(TaKaRa)说明书进行。将纯化后的产物按 pGEM-Teasy Vector 说明书进行连接和转化感受态大肠杆菌 DH5 α 。经 AIX 平板筛选阳性克隆, 常规方法提取质粒, 用 Eco R 进行酶切鉴定。将含有重组质粒的菌液送联合基因上海联众测序科技研究院进行测序。

1.9 HN 基因的序列比较分析

应用 DNASTar 软件对测定的 20 个 2005~2006

年NDV分离株的HN基因编码区的核苷酸序列及其推导的氨基酸序列与GenBank中具有代表性国内外的NDV毒株相应的核苷酸和氨基酸序列进行遗传进化分析。

2 结果

2.1 单抗排谱试验结果

HN蛋白单抗排谱试验结果表明, 20株NDV分离株中JS-2-05-Go、JS-6-05-Go、JS-10-05-Ch与所有单抗均不反应, 将其划分为一类。根据8C5所针对的表位各毒株之间的差异性可以将其余17株NDV分离株划分为两类, 即能与8C5单抗反应的NDV分离株分为一类; 而不能与8C5单抗反应的NDV则划分为另一类。具体结果见表1。

2.2 NDV分离株HN基因的RT-PCR和测序结果

测序结果表明, 扩增到的基因片段均为新城疫病毒HN基因片段, 20株病毒HN基因的编码区长度均为1716 nt, 可编码571个氨基酸, 在终止密码子TAA后至polyA尾之前, 有一段长189 nt的不具备编码功能的核苷酸序列。

2.3 HN基因编码区序列同源性及HN蛋白氨基酸序列分析

比较20株NDV分离株的HN基因编码区序列的同源性结果发现上述NDV分离株中18株基因型NDV分离株之间核苷酸和氨基酸序列同源性分别达94.8%~100%和93.9%~99.8%; 2株基因型NDV分离株(JS-7-05-Ch、JS-9-05-Go)之间核苷酸序列同源性达99.5%, 氨基酸序列同源性达99.1%。而18株基因型NDV分离株中鸡源NDV与鹅源NDV之间核苷酸序列同源性达94.8%~99.4%, 氨基酸序列同源性达93.9%~99.3%, 其中GX-1-05-Ch、GX-2-05-Ch、GX-3-05-Ch和GX-5-05-Ch中只有少数核苷酸发生突变其氨基酸序列完全相同。这些分离株与基因VII型参考株之间的核苷酸和氨基酸同源性分别为92.3%~97.0%和91.2%~95.3%。

在HN蛋白一级结构的氨基酸序列中, 本试验测定的13株鸡源NDV、7个鹅源NDV与文献^[3]报道的NDV一样, 在第123、173、186、196、238、247、251、344、455、461、465、531及542位含有13个完全保守的半胱氨酸残基。20株NDV分离株中JS-7-05-Ch、JS-9-05-Go株在第119、341、433、481、508及538位含有6个潜在的糖基化位点; 其余NDV分离株中除JS-5-06-Ch外均在538~540位的序列为N-K-A, 而非N-K-T(S), 故这17株分离毒含有5

个潜在的糖基化位点; 而JS-5-06-Ch株在481~483位和538~540位的序列分别为D-H-T和N-K-A, 因而只含有4个潜在的糖基化位点。

2.4 HN基因的遗传进化发生树

运用DNASTar软件对20株分离株和26个国内外参考毒株的HN基因编码区1716 bp长度片段的核苷酸序列进行比较, 绘制了系统进化发生树(见图1)。结果显示, 46株NDV分布于树形图上的9个主干分支, 代表了国内外已报道的~基因型, 其中JS-1-05-Ch、JS-2-05-Go、JS-3-05-Ch、JS-4-05-Go、JS-5-05-Go、JS-6-05-Go、JS-8-05-Ch、JS-10-05-Ch、JS-1-06-Ch、JS-2-06-Ch、JS-3-06-Go、JS-4-06-Go、JS-5-06-Ch、GX-1-05-Ch、GX-2-05-Ch、GX-3-05-Ch、

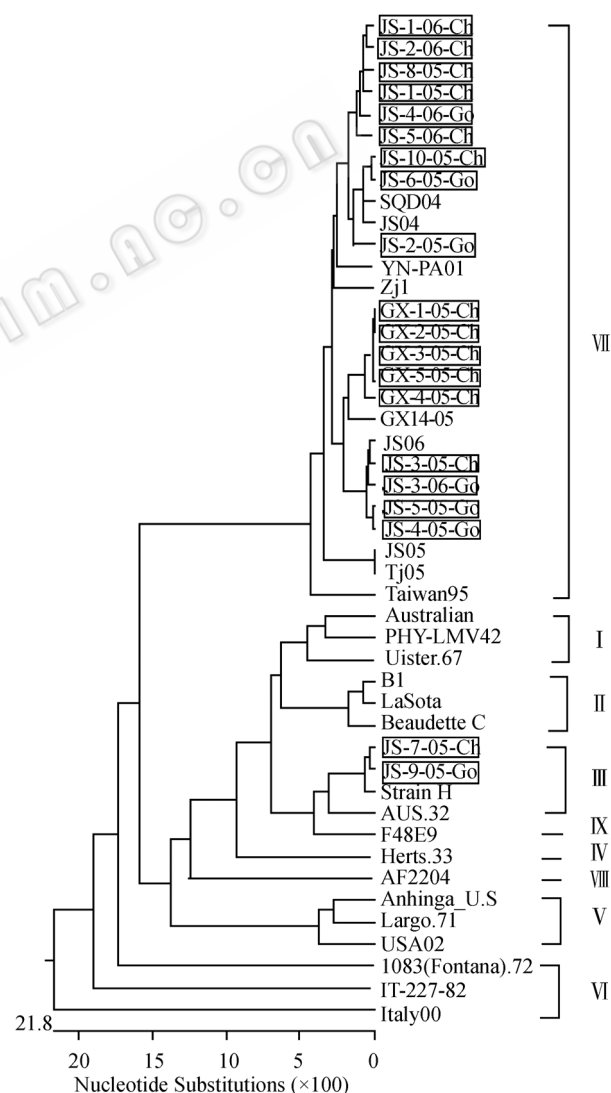


图1 根据HN基因编码区核苷酸绘制的系统进化发生树
Fig. 1 Phylogenetic tree of NDV strains base on coding region of HN genes.

GX-4-05-Ch、GX-5-05-Ch 分离株的遗传距离较近,与基因 I 型代表株 ZJ1 处在同一主干分枝上。而 JS-7-05-Ch、JS-9-05-Go 与基因 II 型毒株之间的遗传距离较远,但与基因 I 型代表株 AUS.32 处在同一分支上,亲缘关系较近。

3 讨论

HN 蛋白是位于新城疫病毒(NDV)囊膜表面的一种糖蛋白,与 F 蛋白一样经受各种选择压力的作用。在 NDV 的进化过程中,HN 基因以一定的几率发生同义置换;在免疫选择压力下,HN 蛋白也可能因点突变而导致抗原位点的改变。因此,HN 基因的变化亦能代表 NDV 的进化规律和趋势。本研究中 18 株 NDV 分离株与基因 I 型代表株 ZJ1 处在同一分支上,应将它们归为基因 I 型,JS-7-05-Ch、JS-9-05-Go 与基因 II 型代表株 AUS.32 处在同一分支上应将它们归为基因 II 型 NDV(见图 1),这与对其 F 基因序列的分析结果相符,这也进一步证明 NDV 的进化是在基因组整体水平上进行的(黄勇.鹅源新城疫病毒 ZJ1 株全基因组序列的测定及含该毒株全基因组 cDNA 的转录载体的构建.扬州大学博士学位论文.2003)。此外,HN 蛋白还与 NDV 的毒力有一定关系。Sakaguchi 等^[7]研究发现,根据 HN 多肽的长度不同,把 NDV 毒株分为 3 类:A 类病毒 HN 多肽 616 个氨基酸,相应的毒株为无毒株;B 类病毒 HN 多肽 577 个氨基酸,相应的毒株既有无毒株也有强毒株;C 类病毒 HN 多肽 571 个氨基酸,相应的毒株全为典型的强毒株。本研究所有分离株的 HN 基因的终止密码子在 C-末端核苷酸序列中的位置相同(第 1805-1807 位),编码区长度(1716nt)和编码的氨基酸数(571 个)则和 C 类病毒完全一致,表明这些分离株均具备强毒株的分子特征。这一结论与用其它方法判定毒力的结果相吻合。

单克隆抗体常被用来分析毒株之间的抗原表位差异和给毒株分群^[5]。本研究利用本实验室制备保存的 5 株针对 HN 蛋白的单抗对 2005、2006 年 NDV 分离株进行排谱试验,旨在初步探讨不同毒株之间的抗原表位差异和给病毒分群。HN 蛋白单抗排谱试验结果表明,JS-2-05-Go、JS-6-05-Go、JS-10-05-Ch 与所有单抗均不反应。据胡顺林等^[6]报道,5 株单抗中除 8C5 外,2G5、3A4、3B5、6B1 几乎能与国内外不同地点、不同时间的近 50 多株 NDV 反应,且适合于诊断试剂盒的组建。由此可以说明 JS-2-05-Go、JS-6-05-Go、JS-10-05-Ch 出现了较大程度的变异,这

种变异有可能是由于个别氨基酸改变导致 HN 蛋白空间结构的变化所引起的。HN 蛋白介导 NDV 与细胞受体的结合,在 HN 蛋白上至少有 5 个受体结合相关区域,即第 193-201、345-353、494、513-521 及 569 位氨基酸^[3]。本研究中通过将分离株与国内外 NDV 参考株(篇幅有限未一一列举)的比较发现,JS-2-05-Go、JS-6-05-Go、JS-10-05-Ch 在 347 位点发生了突变,由大部分 NDV 的甘氨酸或谷氨酸(G/E)分别变成为赖氨酸(K),赖氨酸(K),天冬酰胺(N)(具体见表 2)。而且值得注意的是,这 3 个位点的突变均导致了其不能与所有单抗反应(见表 1),本室胡顺林博士通过定点突变技术将 ZJ1 株(基因 I 型)HN 蛋白 347 位点的谷氨酸(E)突变成赖氨酸(K)后运用反向遗传操作技术拯救的病毒 ZJ1 突变株,也不能与所有单抗反应,所以可以推测 347 位点可能对这 5 株单抗所针对的抗原决定簇的空间构象起决定性作用。同时发现所有广西分离株在这些位点具有其地域特征性,它们在 521 位点由大部分 NDV 的丝氨酸(S)一致地变成为天冬酰胺(N)。所有分离株中不管是鹅源 NDV 还是鸡源 NDV 在这些区域差异不明显且不存在特有的氨基酸序列。

NDV HN 蛋白一般在 119、341、433、481、508 及 538 位含有 6 个潜在的糖基化位点^[8]。糖基化修饰是 HN 蛋白成熟的重要标志。本研究中除 JS-7-05-Ch、JS-9-05-Go 株含有 6 个糖基化位点和 JS-5-06-Ch 株只含有 4 个潜在的糖基化位点外,其余分离株都含有 5 个糖基化位点,在 538 位点发生了突变,失去了糖基化位点的特征。尽管已证实,HN 蛋白的第 508 和 538 位两个位点实际上都不能被糖基化且 508 和 538 糖基化位点的缺失对 HN 蛋白的功能无明显影响^[9],但对 HN 蛋白的空间构象以及抗原位点形成有一定影响。

HN 蛋白在膜外区可分为近膜区的柄部和与柄部相连的球状区,HN 蛋白受体结合位点和神经氨酸酶活性位点都位于球状区,柄部则具有促融合作用。Hulslander 等^[10]发现,这种促融合作用与柄部第 74~110 位氨基酸含有的两个七肽重复序列(heptad repeat region, HR)有关。该区域能形成螺旋,并与 F 蛋白的相应区域形成超螺旋,进而改变 F 蛋白构象,使融合肽暴露并插入宿主细胞膜,以促进融合过程^[11]。本研究中的 20 株分离株的 HN 蛋白氨基酸序列分析可发现,大部分毒株的 HN 蛋白在这两个 HR 区域及其间隔序列都高度保守,所有 NDV 分离株中除 JS-7-05-Ch、JS-9-05-Go 外均在第

表 2 NDV HN 蛋白与受体结合相关的 5 个区域氨基酸序列的比较
Table 2 Comparison of amino acid sequences of receptor-binding related regions on HN protein of NDV strains

Strain	区 域	1	2	3	4	5
		193-201	345-353	494	513-521	569
TW95		L S G C R D H S H	P D G Q D Y Q I R M	D R V T R V S S S S		N
AUS/32		F	E	I		R D
F48E8		Y	E	I		D
JS-1-05-Ch						D
JS-2-05-Go			K			D
JS-3-05-Ch			E			D
JS-4-05-Go						D
JS-5-05-Go						D
JS-6-05-Go			K			D
JS-7-05-Ch				I		G
JS-8-05-Ch						D
JS-9-05-Go				A I		G
JS-10-05-Ch			N			D
GX-1-05-Ch						N D
GX-2-05-Ch						N D
GX-3-05-Ch						N D
GX-4-05-Ch		Y L				N D
GX-5-05-Ch						N D
JS-1-06-Ch		V Y				D
JS-2-06-Ch						D
JS-3-06-Go			E			D
JS-4-06-Go						D
JS-5-06-Ch						D

77 位由大部分 NDV 的天冬酰胺(N)变为丝氨酸(S), 这种变化是否对 NDV 融合作用起关键性影响还有待进一步研究。

本研究结果显示, 同期流行的 NDV 鹅源毒株与鸡源 NDV 毒株之间 HN 基因编码区序列及对应的氨基酸序列具有高度的同源性, 2 株基因型 NDV 分离株(JS-7-05-Ch、JS-9-05-Go)之间核苷酸序列同源性达 99.5%, 氨基酸序列同源性达 99.1%; 而 18 株基因型 NDV 分离株中鸡源 NDV 与鹅源 NDV 之间核苷酸序列同源性达 94.8%~99.4%, 氨基酸序列同源性达 93.9%~99.3%。说明我国部分地区同期流行的鹅源 NDV 与鸡源 NDVHN 基因之间具有较近或很近的亲缘关系, 揭示鹅源 NDV 与鸡源 NDV 在流行病学上密切相关。

新城疫自上世纪 20 年代末开始流行至今已有近 80 年的历史, 其间长期、大剂量、重复使用活疫

苗给 NDV 在自然界的复制造成了巨大的免疫压力。而在长期的免疫选择压力下, 新城疫病毒的毒力具有增强的可能^[12]。在我国绝大部分地区主要依靠密集的疫苗来预防和控制 ND, 在长期的免疫压力作用下, NDV 有可能发生变异, 使得一些毒株可以突破宿主屏障, 从而使它们在不同禽类之间互相传播流行。虽然这些推测目前还有待进一步证实。但至少说明鹅源 NDV 与鸡源 NDV 之间存在着密切的遗传学和流行病学联系。

参 考 文 献

- [1] Collins MS, Bashiruddin JB, Alexander DJ. Deduced amino acid sequences at the fusion protein cleavage site of Newcastle disease viruses showing variation in antigenicity and pathogenicity. *Arch Virol*, 1993, **128**: 363-370.
- [2] Peeters BPH, Leeuw OS, Versteegen I, *et al*. Generation of a recombinant chimeric Newcastle disease virus vaccine that allows serological differentiation between vaccinated

- and infected animals. *Vaccine*, 2001, **19**: 1616–1627.
- [3] Toyoda T, Sakaguchi T, Hirota H, *et al.* Newcastle disease virus evolution II. Lack of gene recombination in generating virulent and avirulent strains. *Virology*, 1989, **169**: 273–282.
- [4] 梁 荣, 曹殿军, 阎丽辉, 等. 新城疫病毒分离株的蚀斑纯化及影响蚀斑形成的主要因素. *中国兽医学报*, 2003, **23**(6): 533–535.
- [5] B. W. 卡尔尼克. 禽病学(第十版). 高 福, 苏敬良译. 北京: 中国农业出版社, 1999, pp.691–712.
- [6] 胡顺林, 吴艳涛, 刘文博, 等. 鹅源新城疫病毒单克隆抗体的研制及其与不同 NDV 毒株的反应性. *中国兽医科技*, 2005, **35**(5): 341–345.
- [7] Sakaguchi T, Toyoda T, Gotoh B, *et al.* Newcastle disease virus evolution I. Multiple lineages defined by sequence variability of the hemagglutinin-neuraminidase gene. *Virology*, 1989, **169**: 260–271.
- [8] McGinnes LW, Morrison TG. Disulfide bond formation is a determinant of glycosylation site usage in the hemagglutinin-neuraminidase glycoprotein of Newcastle disease virus. *Journal of Virology*, 1997, **71**: 3083–3089.
- [9] 刘 铀, 毕英佐, 曹永长. 新城疫病毒广东分离株 HN 基因的克隆与序列分析. *中国兽医科技*, 2005, **35**(3): 194–198.
- [10] Hulslander JS, Morrison TG. Mutational analysis of heptad repeats in the membrane-proximal region of Newcastle disease virus HN protein. *Journal of Virology*, 1999, **73**(5): 3630–3637.
- [11] Chen L, Gorman JJ, McKimm-Breschkin J, *et al.* The structure of the fusion glycoprotein of Newcastle disease virus suggests a novel paradigm for the molecular mechanism of membrane fusion. *Structure(Cambridge)*, 2001, **9**: 255–266.
- [12] Westbury H. Newcastle disease virus: an evolving pathogen? *Avian Pathology*, 2001, **30**(5): 5–11.

科技新闻

《科学》杂志评出 2007 年十大科技突破

2007 年 12 月 20 日, 美国科学促进协会宣布, 其属下的美国《科学》杂志公布了 2007 年度科学研究十大突破。

1. 发现人类基因组个体间差异
2. 用人类皮肤细胞仿制出胚胎干细胞
3. 发现银河系能量最大的宇宙射线
4. 发现人体蛋白受体结构
5. 发现了超越硅电子的器件
6. 发现量子自旋霍尔效应
7. 发现 T 细胞同时具有两种功能
8. 发现快速廉价的化学药物合成技术合成化学家开发出了多种高效率且低成本技术, 对制造药物和电子化合物具有极大的前景
9. 发现人类大脑的重要记忆中心
10. 发现挑战人类智力的电脑程序

摘自《中国生物技术信息网》

<http://www.biotech.org.cn>