

研究报告

鹅星状病毒江苏分离株 JSSQ 遗传特征分析

徐梦璐^{1,2}, 吴少鹏^{1,2}, 马水锋^{1,2}, 邵红霞^{1,2,3}, 钱琨^{1,2,3}, 万志敏^{1,2,3}, 叶建强^{1,2,3,4}, 秦爱建^{*1,2,3,4}

1 扬州大学兽医学院 教育部禽类预防医学重点实验室, 江苏 扬州 225009

2 扬州大学兽医学院 江苏省动物预防医学重点实验室, 江苏 扬州 225009

3 扬州大学兽医学院 江苏高校动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 江苏 扬州 225009

4 扬州大学 教育部农业与农产品安全国际合作联合实验室, 江苏 扬州 225009

徐梦璐, 吴少鹏, 马水锋, 邵红霞, 钱琨, 万志敏, 叶建强, 秦爱建. 鹅星状病毒江苏分离株 JSSQ 遗传特征分析[J]. 微生物学通报, 2022, 49(6): 2174-2182

Xu Menglu, Wu Shaopeng, Ma Shuifeng, Shao Hongxia, Qian Kun, Wan Zhimin, Ye Jianqiang, Qin Aijian. Genetic characterization of goose astrovirus strain JSSQ isolated from Jiangsu province[J]. Microbiology China, 2022, 49(6): 2174-2182

摘要:【背景】自 2016 年以来, 我国山东、安徽、江苏、广东等养鹅地区暴发了一种以痛风为主要特征的急性传染病。【目的】研究引起江苏某鹅场雏鹅痛风的鹅星状病毒(goose astrovirus, GAstV)的基因组特征。【方法】从疑似患有痛风的雏鹅肝脏样品中分离到一株 GAstV, 命名为 JSSQ, 并对 JSSQ 全基因组序列及遗传特征进行分析。【结果】GAstV JSSQ 株可在 LMH 细胞上稳定传代, 无明显细胞病变; 该毒株基因组全长 7 175 nt, 与其他已报道的鹅星状病毒参考株相似性为 57.3%–99.1%。系统进化分析显示, JSSQ 与参考毒株 AHAU3 亲缘关系最近, 处于同一分支。重组分析显示, 在 GAstV JSSQ 基因组中的第 807 和 2 818 位点发生了 2 次重组, 起源于 GD AHAU2 (major parent)和 AHAU4 (minor parent)。抗原表位分析显示, 在 ORF2 区出现多处氨基酸突变, 存在 P64S、A224T、A228S、Q229P 等独特突变, 可引起抗原表位的变化。【结论】不同地区 GAstV 可能存在不同生物学特性, 在防控中应予以注意。

关键词: 鹅痛风; 鹅星状病毒; 分离鉴定; 遗传特征分析

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFD0500803)

Supported by: National Key Research and Development Program of China (2016YFD0500803)

*Corresponding author: E-mail: aijian@yzu.edu.cn

Received: 2021-09-30; Accepted: 2021-11-10; Published online: 2022-01-18

Genetic characterization of goose astrovirus strain JSSQ isolated from Jiangsu province

XU Menglu^{1,2}, WU Shaopeng^{1,2}, MA Shuifeng^{1,2}, SHAO Hongxia^{1,2,3}, QIAN Kun^{1,2,3},
WAN Zhimin^{1,2,3}, YE Jianqiang^{1,2,3,4}, QIN Aijian^{*1,2,3,4}

1 Ministry of Education Key Laboratory for Avian Preventive Medicine, College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

2 Key Laboratory of Jiangsu Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

3 Jiangsu Co-Innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

4 Joint International Research Laboratory of Agriculture and Agri-Product Safety, Ministry of Education, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

Abstract: [Background] A severe infectious disease characterized with gout has attacked the goslings in Shandong, Anhui, Jiangsu, and Guangdong provinces in China since 2016. [Objective] To study the genetic characteristics of goose astrovirus (GAstV) causing this disease. [Methods] A strain of GAstV, named JSSQ, was isolated from the liver sample of a gosling suspected to be undergoing gout from a goose farm in Jiangsu province. The virus genes were sequenced for the genetic characterization. [Results] GAstV JSSQ strain stably propagated in LMH cells without obvious cytopathic changes. The strain had a full-length genome of 7 175 nt and shared the similarity of 57.3%–99.1% with other reported reference strains of GAstV. The phylogenetic analysis showed that JSSQ was close related to the reference strain AHAU3 and they were in the same branch. Two recombination events occurred at the sites 807 and 2 818 in GAstV JSSQ genome, originating from GD AHAU2 (major parent) and AHAU4 (minor parent). The antigenic epitope analysis showed that there were several amino acid mutations, such as P64S, A224T, A228S, and Q229P, in ORF2 region, which resulted in changes in antigenic epitope. [Conclusion] The biological characteristics may vary between the GAstVs in different areas, and thus attention should be paid to the prevention and control of such viruses.

Keywords: goose gout; goose astrovirus; isolation and identification; genetic characterization

星状病毒(astrovirus, AstV)是一种无囊膜二十面体结构的 RNA 病毒, 1975 年在患肠炎儿童的粪便中首次发现^[1], 是造成幼龄动物腹泻的主要病原之一。2004 年, 根据其感染宿主类别, 将星状病毒科(Astroviridae)划分成 2 个不同的病毒属: 哺乳动物星状病毒属(Mamastrovirus, MastV)和禽星状病毒属(Avastrovirus, AAstV)^[2]。星状病毒的基因组大小为 6–7 kb 左右, 包括 5'端非翻译区(untranslated region, UTR)、3'端非翻译区、poly(A)尾和 3 个开放阅读框(open reading

framework, ORF), 其中 ORF1a 和 ORF1b 编码非结构蛋白, ORF2 编码病毒衣壳蛋白, 是基因组中的高变区域^[3]。星状病毒除了引起禽类肠道炎症外, 还可以引发鸡肾脏疾病和雏鸭的病毒性肝炎^[4–9]。鹅星状病毒是近年来在临床发病鹅中分离到的一种禽星状病毒^[10]。

自 2016 年起, 我国山东、安徽、江苏、广东等地的雏鹅陆续发生一种以内脏器官尿酸盐沉积为主要症状的传染性疾病^[11–13]。该病主要发生于 2 周龄以内的雏鹅, 患病雏鹅表现为

精神沉郁、采食下降、生长迟缓,死亡率高达40%,给养鹅业造成了严重的经济损失^[14-16]。为确定引起江苏某鹅场雏鹅痛风的病原及其基因组特征,本实验于2020年9月将江苏某鹅场送检的疑似患有痛风病的雏鹅肝脏组织进行研磨处理,通过在LMH细胞上盲传、RT-PCR检测及免疫荧光鉴定,分离到一株鹅星状病毒,并对分离到的毒株进行全基因组测序和遗传特征分析,以期为鹅痛风病的防控和GAstV流行病学调查提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 病料和细胞

江苏省宿迁市某鹅场送检疑似痛风病雏鹅临床样本,包括肝脏和脾脏,发病日龄为13日龄。GAstV ORF2 单克隆抗体^[17]和鸡肝癌细胞(LMH 细胞)由本实验室保存;细胞使用DMEM/F12培养基(含10%胎牛血清),在含5%CO₂的37℃培养箱中进行培养。

1.2 主要试剂和仪器

牛血清蛋白,生工生物工程(上海)股份有限公司; Multisource Total RNA Miniprep Kit, Axygen 公司; 反转录试剂盒(PrimeScript RT 试剂盒)、Phanta Max Super-Fidelity DNA Polymerase、大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞, Vazyme 公司; 胶回收试剂盒, 天根生化科技(北京)有限公司; pGEM-T Easy 载体, Promega 公司。荧光显微镜, Olympus 公司。

1.3 引物设计

根据鹅星状病毒全基因组序列设计合成13对引物,扩增全基因片段,引物序列见表1。

1.4 病料 RT-PCR 检测

采集疑似患有痛风病的雏鹅肝脏和脾脏组织,使用 Multisource Total RNA Miniprep Kit 提取病毒的 RNA,对 RNA 样品使用反转录试

表1 鹅星状病毒基因组扩增引物

Table 1 Primers for genome amplification of goose astrovirus

引物名称	引物序列
Primer name	Primer sequence (5'→3')
GAstV-1F	GCATGGGGAAACAGCGATATG
GAstV-1R	CGACTTAGTCCAAGGAACG
GAstV-2F	AACAAGGTTCTACATCGC
GAstV-2R	ATTACAAAGGGTAGCGTC
GAstV-3F	ACTGCCATCATACCTAAAA
GAstV-3R	TCAATCTGCTTCAGGACTT
GAstV-4F	CATTGTCGTTGTTGAAGG
GAstV-4R	TCTGCGAGCGTGAAAT
GAstV-5F	TTGGAAACAGTGGTGGC
GAstV-5R	TCACCATTGGCGAAGA
GAstV-6F	CCTCATCCGTGTCTAGTAA
GAstV-6R	CCCATTAGTAGGAGCATAT
GAstV-7F	ATGAATATGCTCCTACTAAATG
GAstV-7R	GGGTGAGCCAGACATTAC
GAstV-8F	ACGACAGATGCGTTACTT
GAstV-8R	TTTCTTCAAACCTTTCACCT
GAstV-9F	GGCGGACCGAAATAA
GAstV-9R	AGGGCAGAAGTATAGGGA
GAstV-10F	CATCTTTGGAGGGTTCA
GAstV-10R	GCAGAGGCAGGTAATCG
GAstV-11F	AGACGCCCAGATAGACA
GAstV-11R	TTTACCAGGGTTAGAGTC
GAstV-12F	GTGGGCTAATAACGGAA
GAstV-12R	CGATTCTCCCTCAAGC
GAstV-13F	CATGAGTGATCTCTTCACTAGCAGC
GAstV-13R	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTAAAGA TTTAAATGC

剂盒合成 cDNA。RT 反应体系(25 μ L): Phanta Master Mix 12.5 μ L, 上、下游引物(10 μ mol/L)各 1 μ L, cDNA 模板 1 μ L, ddH₂O 9.5 μ L。PCR 反应条件: 94℃ 5 min; 94℃ 1 min, 45℃ 1 min, 72℃ 1 min, 共 30 个循环; 72℃ 5 min。采用 0.8%琼脂糖凝胶电泳观察 PCR 扩增结果。

1.5 病毒分离

将采集的鹅肝脏组织用含有青霉素-链霉素溶液(每毫升各 1 000 U)的 PBS (1:5, 体积比)混合研磨,反复冻融 3 次,然后 4℃、8 000 r/min 离心 10 min,将上清分装,置于-70℃冰箱保

存。使用 0.22 μm 滤器过滤组织研磨液, 接种 LMH 细胞, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养至 72 h, 收取上清, 再次接种于 LMH 细胞, 盲传 4 代后获得稳定毒株。

1.6 间接免疫荧光鉴定(indirect immunofluorescence assay, IFA)

将感染病毒的细胞于 96 h 后取出, 用 4% 多聚甲醛固定, 吹干后用封闭液(含有 5% 牛血清白蛋白的 Triton X-100 的磷酸盐缓冲盐水)封闭 1 h, 然后用 PBS 洗涤 5 次, 用 GAsV ORF2 单克隆抗体^[17]稀释液(在封闭缓冲液中以 1:200 稀释)孵育 1 h 后, PBS 洗涤 5 次, 再用异硫氰酸荧光素标记的羊抗鼠 IgG 二抗在避光的条件下孵育 1 h, 用 PBS 轻轻冲洗 6 次后在荧光显微镜下观察。

1.7 全基因组测序

为了扩增 GAsV 全基因组, 参照 GAsV GD 株(MG934571.1)设计了 13 对特异性引物(表 1), 根据高保真酶说明书, 对上述 GAsV cDNA 进行 PCR, 扩增 JSSQ 全基因组序列; 经 0.8% 琼脂糖凝胶电泳后, 使用胶回收试剂盒纯化 PCR 产物, 将其连接到 pEGM-T Easy 载体, 并将连接产物转化到大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞中, 涂布于含 0.1% 氨苄青霉素的 LB 平板, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 12 h; 挑取单个菌落接种于 LB 液体培养基(含有氨苄青霉素)中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 、225 r/min 振荡培养 12 h; 取 3 个酶切鉴定阳性的克隆送 Genscript 公司进行测序, 利用 SeqMan 对测序结果进行序列拼接, 得到完整的病毒基因组序列。

1.8 遗传进化分析

采用 NCBI 上的 Basic Local Alignment Search Tool 分析测序结果。从 GenBank 下载可获取的 18 个不同 GAsV 的全基因组, 比较本研究分离的鹅星状病毒和参考毒株之间的同源性和系统发育关系, 并进行重组分析及抗原表位分析。

2 结果与分析

2.1 病料 RT-PCR 检测结果

将 1.4 中所提取的雏鹅肝脏及脾脏的 cDNA 进行 PCR 鉴定, PCR 扩增得到约 434 bp 大小的目的片段, 检测结果表明, 送检雏鹅组织样品均为鹅星状病毒阳性(图 1)。

2.2 病毒分离结果

取 2.1 中鉴定为 GAsV 阳性的雏鹅肝脏组织, 加入 PBS 进行研磨后, 将研磨液接种于 LMH 细胞上进行培养; 盲传 4 代后, 收集细胞上清并提取 RNA, 经 RT-PCR 鉴定, 结果扩增出大小约为 434 bp 的目的片段, 符合预期结果(图 2A)。间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence assay, IFA)实验结果表明, 感染病毒的 LMH 细胞出现特异性亮绿色荧光信号(图 2B)。

2.3 全基因组测序

将分段扩增的 PCR 产物经测序和拼接后上传到 GenBank 数据库(登录号为 OK148600)。从

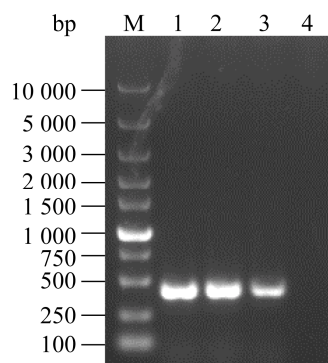


图1 RT-PCR 鉴定病料中的 GAsV M: DL10000 DNA Marker; 1: GAsV 阳性对照; 2: 雏鹅肝脏 cDNA 样品; 3: 雏鹅脾脏 cDNA 样品; 4: 阴性对照

Figure 1 RT-PCR identification of the GAsV in clinic samples. M: DNA Marker DL10000; 1: GAsV positive control; 2: cDNA sample of gosling liver; 3: cDNA sample of gosling spleen; 4: Negative control.

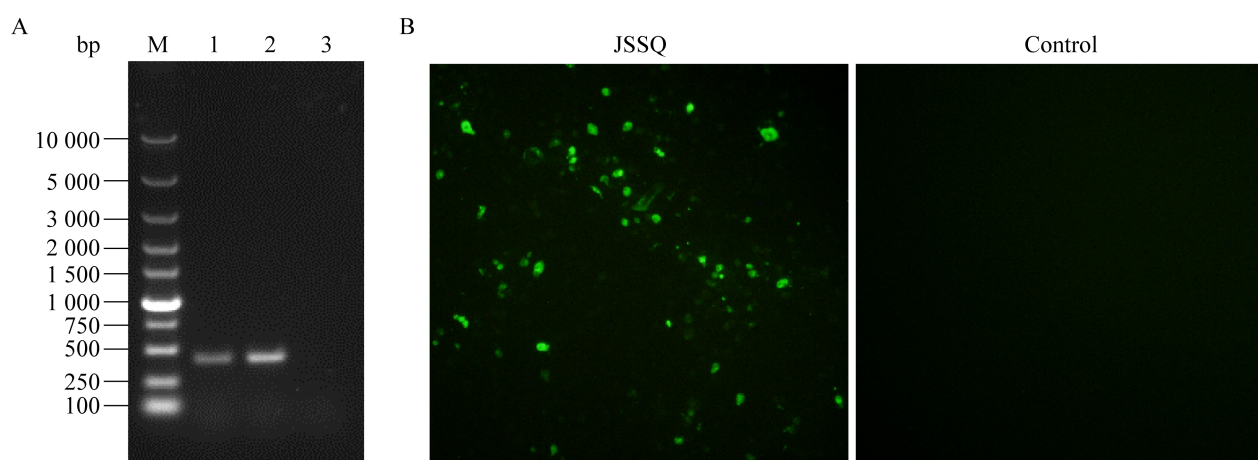


图2 病毒分离鉴定结果 A: 分离株 RT-PCR 鉴定, M: DL10000 DNA Marker; 1: P4 代病毒液的 RT-PCR 结果; 2: 阳性对照; 3: 阴性对照。B: 分离株 IFA 鉴定, JSSQ: 第 4 代病毒感染 LMH 细胞的 IFA 结果; Control: 阴性对照

Figure 2 Results of virus isolation and identification. A: RT-PCR identification of isolated strain. M: DL10000 DNA Marker; 1: RT-PCR result of the sample passaged 4 in LMH cells; 2: Positive control; 3: Negative control. B: IFA identification of isolated strain. JSSQ: IFA result of LMH cells infected with JSSQ strain; Control: Negative control.

GenBank 下载 GAsV 已发表的所有参考毒株全基因组序列, 与 JSSQ 序列进行比对, 并评估它们与本研究分离株的相似性及它们之间的系统发育关系。结果显示, 该毒株基因组全长 7 175 nt, 与其他已报道的鹅星状病毒参考株相似性为 57.3%–99.1%。在 GAsV 的参考序列中, JSSQ 全基因组序列与参考毒株 AHAU3 的相似性为 99.1%, 全基因组序列进化树分析显示属于同一分支(图 3)。然而 JSSQ 与 AHDY 和 FLX 的全基因组序列相似性仅为 57.3%–57.4% (表 2)。JSSQ (7 175 nt) 的基因组长度明显不同于 AHDY (7 299 nt) 和 FLX 基因组(7 288 nt), 后者属于 GAsV-I 型, JSSQ 属于 GAsV-II 型。

2.4 遗传进化分析

为了分析 GAsV 毒株中潜在的重组事件, 使用 RDP 4.50 和 SimPlot 软件进行了重组检测, 结果表明 GAsV JSSQ 中所携带基因组的基因座第 807 位点和 2 818 位点发生了 2 次重

组, 分别来自 GD AHAU2 (major parent) 和 AHAU4 (minor parent) (RDP 方法中的 $P < 0.01$) (图 4A)。在 ORF1a 片段中, 在 2 517 位点和 900 位点发生了 2 次重组事件, 分别来自 JSHA (major parent) 和 AHAU5 (minor parent) (RDP 方法中的 $P < 0.01$) (图 4B)。

2.5 抗原表位分析

通过 Protean 获得的 GAsV JSSQ ORF2 和 ORF1a 抗原表位结果显示, 在 ORF2 中, 224、228 和 229 位突变导致抗原表位发生很大变化, 导致蛋白质三级结构发生变化。另外, 在 608 和 614 位突变也导致抗原表位的变化(图 5)。

3 讨论与结论

鹅星状病毒在我国已出现大面积流行, 雏鹅多在 5 日龄左右开始发病, 患病雏鹅可见精神沉郁、食欲下降、腕关节及趾骨关节肿胀, 剖检死亡雏鹅可见各个内脏器官肿大出血, 并

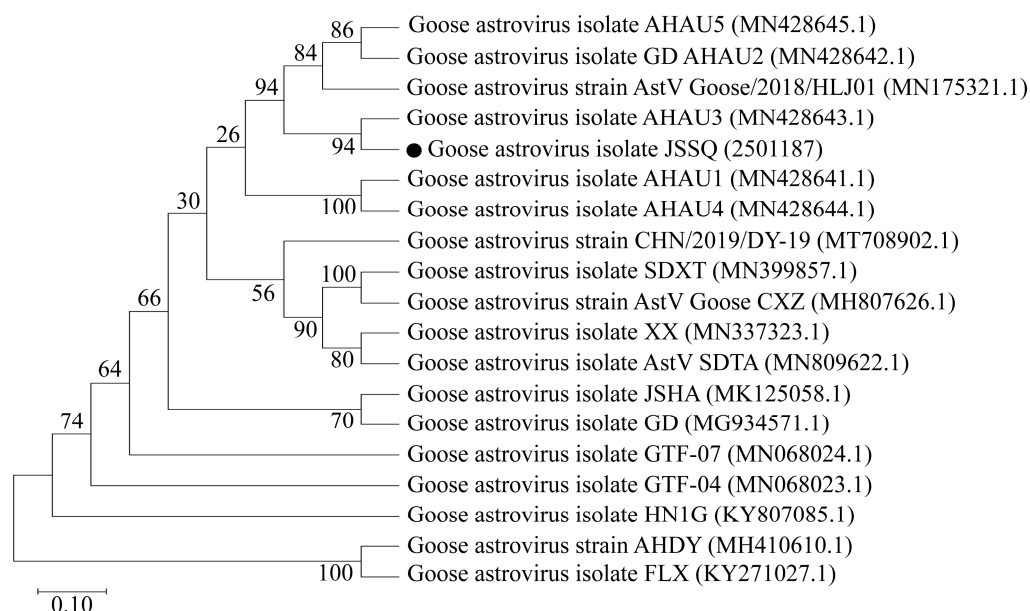


图3 JSSQ 全基因组序列进化树分析图 分支数字表示置信度;括号内表示序列的 GenBank 登录号;标尺为 0.10; JSSQ 株用黑色点表示

Figure 3 Phylogenetic analysis of whole genomic sequence of JSSQ strain. Branch numbers indicate confidence; GenBank accession numbers of the sequences are indicated in parentheses; Scale bar is 0.10; JSSQ strain is indicated by black dot.

表2 鹅星状病毒 JSSQ 与参考毒株的相似性

Table 2 Similarity of goose astrovirus JSSQ and reference strains

毒株 Virus strain	基因组 Genome (%)	ORF1a (%)	ORF1b (%)	ORF2 (%)
AHAU3	99.1	99.3/99.9	99.7/100.0	99.3/98.9
AHAU5	98.9	98.4/99.4	99.7/100.0	99.2/99.0
AHAU4	98.6	98.7/99.6	98.6/99.8	98.4/98.3
GD AHAU2	98.6	97.9/99.2	99.7/100.0	98.9/98.7
GD	98.3	98.6/99.6	98.6/100.0	97.9/98.2
AHDY	57.3	57.1/47.8	64.5/61.3	52.4/40.8
FLX	57.4	57.0/47.8	64.6/61.3	53.3/41.7
GTF-04	98.1	98.2/99.5	98.6/99.8	97.5/97.2
GTF-07	98.1	98.2/99.5	98.3/99.6	97.8/97.3
HLJ01	95.6	98.0/99.1	99.2/100.0	99.0/99.0
HN1G	97.3	96.9/98.7	98.6/99.4	96.9/97.0
JSHA	98.4	98.3/99.6	98.8/100.0	98.3/98.2
SD01	98.0	97.6/99.1	98.8/100.0	98.1/97.6
SDXT	97.7	97.8/98.5	98.4/99.2	98.4/98.2
XX	97.6	97.6/99.1	99.0/99.8	97.9/97.6
AHAU1	98.6	98.5/99.4	98.6/100.0	98.5/98.4
AstV SDTA	97.7	98.0/99.1	98.5/99.6	98.2/98.3
CXZ18	98.0	98.2/99.5	98.7/100.0	98.5/98.3

注: “/”前后分别为核苷酸(nt)相似性和氨基酸(aa)相似性

Note: Before and after “/” are nucleotide (nt) similarity and amino acid (aa) similarity respectively.

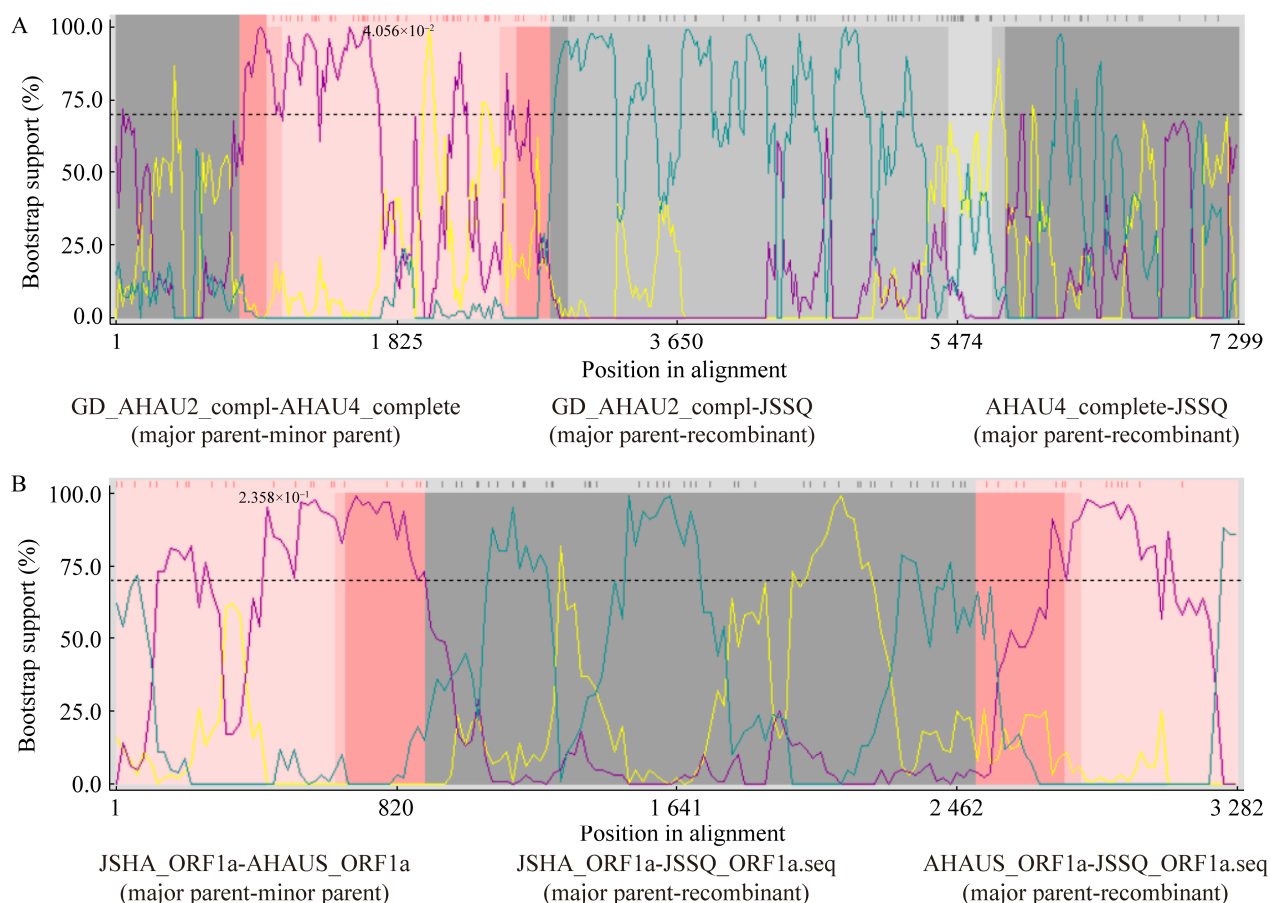


图 4 JSSQ 重组分析结果 A: JSSQ 全基因组序列的重组分析; B: JSSQ ORF1a 序列的重组分析; y 轴: Bootscan support 数值; x 轴: 重组序列的具体位置; 参考毒株 GD AHAU2: 主要亲本(黄色); AHAU4: 次要亲本(紫色); 参考毒株 JSHA: 主要亲本(黄色); AHAU5: 次要亲本(紫色)

Figure 4 Results of JSSQ recombination analysis. A: Recombination analysis of JSSQ genome sequence; B: Recombination analysis of JSSQ ORF1a sequence; y-axis: Bootscan support value; x-axis: Specific site of the recombination sequence; Reference strain GD AHAU2: Major parent (yellow); AHAU4: Minor parent (purple); Reference strain JSHA: Major parent (yellow); AHAU5: Minor parent (purple).

有白色尿酸盐沉积^[12,18]。结合近几年相关报道发现, 鹅星状病毒已经广泛存在于广东、福建、江西、安徽、江苏、湖南、河南、山东、河北等地区^[10,19]。之前许多学者指出该病的发生主要是由于超高量蛋白高钙饲料的使用, 但更换低蛋白饲料后该病的发病率并未降低^[20]。

本研究通过病原分离、RT-PCR 检测、全基因组测序及遗传特征分析发现, 鹅星状病毒 JSSQ 株基因组包括 3 个 ORF 区, 分别为

ORF1a (3 255 nt)、ORF1b (1 551 nt)和 ORF2 (2 115 nt), ORF1a 与 ORF1b 之间含有 19 nt 参与核糖体移位的重叠区域。对分离毒株的 ORF 区和全基因组进行分析, 结果表明 JSSQ 与鹅星状病毒 AHAU3、AHAU5、GD AHAU2 和 GD 全基因组序列的相似性高达 99.1%, ORF1a 的序列相似性高达 99.9%, ORF1b 的序列相似性高达 99.7%, JSSQ 与鹅星状病毒 AHAU3 株 ORF2 的序列相似性为 99.3%。ORF2 是 GAsV

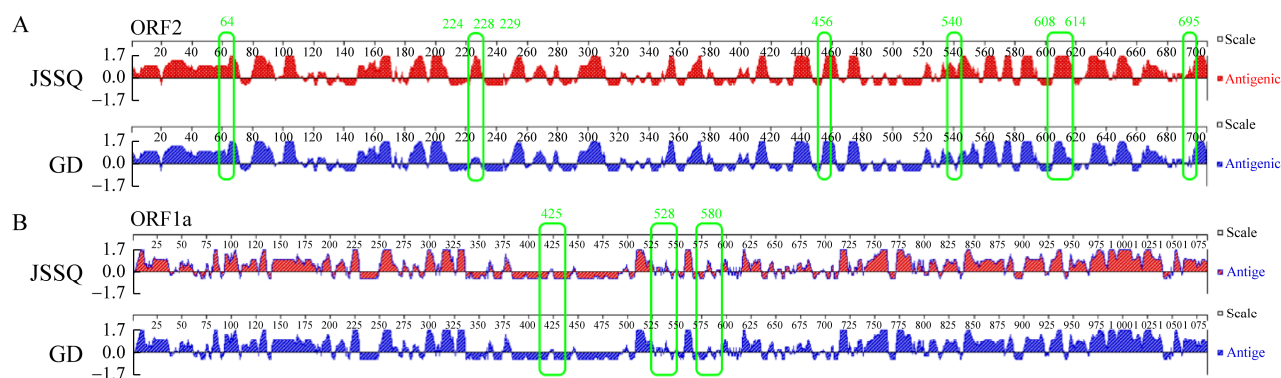


图 5 JSSQ ORF2 和 ORF1a 抗原表位图 A: ORF2 抗原表位分析; ORF2 中绿色圈: 表示在 aa64、aa224、aa228、aa229、aa456、aa540、aa608、aa614 处的突变位点。B: ORF1a 抗原表位分析; ORF1a 中绿色圈: 表示在 aa425、aa528、aa580 处的突变位点。GD: 参考毒株

Figure 5 JSSQ ORF2 and ORF1a epitopes. A: ORF2 epitope analysis; Green circles in ORF2: Represent the mutation sites at aa64, aa224, aa228, aa229, aa456, aa540, aa608 and aa614 in ORF2. B: ORF1a epitope analysis; Green circles in ORF1a: Represent the mutation sites at aa425, aa528 and aa580 in ORF1a. GD: Reference strain.

的分型依据, 因此 JSSQ 与 AH AU3 同属于鹅星状病毒 II 型。

为了分析 GAsV 菌株中潜在的重组, 我们运用 RDP 4.50 软件进行重组分析。结果发现 GAsV JSSQ 基因组中的基因座 807 和 2 818 发生了 2 次重组, 分别来自 GD AH AU2 (major parent) 和 AH AU4 (minor parent)。这 2 个毒株来自安徽省, 推测江苏省和安徽省在地理上相邻, 并且在 2 个省之间具有广泛的商业活动。星状病毒 ORF2 基因编码结构蛋白是分型的主要依据, 刺激宿主可产生保护性反应, 对病毒的致病性起一定作用^[21-22]。ORF2 基因编码由 704 个氨基酸残基组成的衣壳蛋白, 是星状病毒的主要结构蛋白, 通过 Protean 获得的抗原表位结果表明, 分离株 JSSQ ORF2 中 224、228 和 229 这 3 个位点发生突变, 而且该突变导致抗原表位发生较大变化, 这可能与病毒的致病性和中和性有关, 有关这些突变的生物学意义有待进一步研究。

REFERENCES

- [1] Appleton H, Higgins PG. Letter: viruses and gastroenteritis in infants[J]. *Lancet*, 1975, 1(7919): 1297
- [2] Wohlgenuth N, Honce R, Schultz-Cherry S. Astrovirus evolution and emergence[J]. *Infection, Genetics and Evolution*, 2019, 69: 30-37
- [3] 金前跃, 郭永刚, 李俊朋, 秦保亮, 王寅彪, 郭振华, 杜永坤, 万博, 邢广旭, 张改平. 鹅星状病毒感染在河南地区的分子流行病学调查[J]. *畜牧与兽医*, 2021, 53(7): 100-106
Jin QY, Guo YG, Li JP, Qin BL, Wang YB, Guo ZH, Du YK, Wan B, Xing GX, Zhang GP. Molecular epidemiology of goose astrovirus infection in the Henan area[J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2021, 53(7): 100-106 (in Chinese)
- [4] Fu Y, Pan M, Wang XY, Xu YL, Xie XY, Knowles NJ, Yang HC, Zhang DB. Complete sequence of a duck astrovirus associated with fatal hepatitis in ducklings[J]. *The Journal of General Virology*, 2009, 90(Pt 5): 1104-1108
- [5] Shirai J, Tanimura N, Uramoto K, Narita M, Nakamura K, Kawamura H. Pathologically and serologically different avian nephritis virus isolates implicated in etiology of baby chick nephropathy[J]. *Avian Diseases*, 1992, 36(2): 369

- [6] Liu N, Wang FM, Shi JJ, Zheng LS, Wang XY, Zhang DB. Molecular characterization of a duck hepatitis virus 3-like astrovirus[J]. *Veterinary Microbiology*, 2014, 170(1/2): 39-47
- [7] 刘吉山, 李娇, 祖立闯, 肖跃强, 沈志强, 柳增善. 一株鸭星状病毒的分离鉴定[J]. *动物医学进展*, 2016, 37(3): 38-41
Liu JS, Li J, Zu LC, Xiao YQ, Shen ZQ, Liu ZS. Isolation and identification of a duck astrovirus strain[J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2016, 37(3): 38-41 (in Chinese)
- [8] Han HJ, Wen HL, Zhao L, Liu JW, Luo LM, Zhou CM, Qin XR, Zhu YL, Liu MM, Qi R, et al. Novel coronaviruses, astroviruses, adenoviruses and circoviruses in insectivorous bats from Northern China[J]. *Zoonoses and Public Health*, 2017, 64(8): 636-646
- [9] Hou ML, Liang XX, Tan LQ, Liu PF, Zhao W. Outbreak of human astrovirus 1 lineage 1d in a childcare center in China[J]. *Virologica Sinica*, 2016, 31(3): 258-261
- [10] Zhang XY, Ren D, Li TF, Zhou HY, Liu XY, Wang XB, Lu H, Gao W, Wang YJ, Zou XY, et al. An emerging novel goose astrovirus associated with gosling gout disease, China[J]. *Emerging Microbes & Infections*, 2018, 7(1): 152
- [11] Niu XY, Tian JJ, Yang J, Jiang XN, Wang HZ, Chen H, Yi T, Diao YX. Novel goose astrovirus associated gout in gosling, China[J]. *Veterinary Microbiology*, 2018, 220: 53-56
- [12] 姜晓宇, 田家军, 杨晶, 牛晓宇, 王鸿志, 高斌, 唐熠, 刁有祥. 导致雏鹅痛风新型鹅星状病毒的分离鉴定[J]. *中国兽医学报*, 2018, 38(5): 871-877, 894.
Jiang XN, Tian JJ, Yang J, Niu XY, Wang HZ, Gao B, Tang Y, Diao YX. Isolation and identification of a new type of astrovirus causing gout in goose[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2018, 38(5): 871-877, 894 (in Chinese)
- [13] Zhang QS, Cao YX, Wang J, Fu GH, Sun MX, Zhang LJ, Meng L, Cui GL, Huang Y, Hu XY, et al. Isolation and characterization of an astrovirus causing fatal visceral gout in domestic goslings[J]. *Emerging Microbes & Infections*, 2018, 7(1): 1-11
- [14] Liu N, Jiang M, Dong Y, Wang X, Zhang D. Genetic characterization of a novel group of avastroviruses in geese[J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2018, 65(4): 927-932
- [15] 徐蓉, 陆明青, 张海涛, 黄灿平, 张冠卿, 鲍恩东, 孙卫东, 吕英军. 一株雏鹅痛风型鹅星状病毒的分离鉴定及其生物学特性研究[J]. *南京农业大学学报*, 2019, 42(6): 1124-1132
Xu R, Lu MQ, Zhang HT, Huang CP, Zhang GQ, Bao ED, Sun WD, Lü YJ. Identification and characterization of a goose astrovirus causing gout in goslings[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2019, 42(6): 1124-1132 (in Chinese)
- [16] 宋婷婷, 杨焱, 刘冠星, 鲍恩东. 鹅星状病毒的分离鉴定及其在雏鹅体内的分布规律[J]. *畜牧与兽医*, 2020, 52(4): 72-79
Song TT, Yang Y, Liu GX, Bao ED. *In vivo* isolation and identification of an astrovirus in goose and its dynamic distribution in goslings[J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2020, 52(4): 72-79 (in Chinese)
- [17] Ren D, Li TF, Zhang XY, Yao XH, Gao W, Xie Q, Zhang JJ, Shao HX, Wan ZM, Qin AJ, et al. OASL triggered by novel goose astrovirus via ORF₂ restricts its replication[J]. *Journal of Virology*, 2020, 94(24): e01767-20
- [18] 李甜甜, 王钜华, 朱国强, 钱钟, 杨振, 徐萍, 魏荣荣, 李琛, 何存亚, 范娟. 鹅星状病毒的分离鉴定及其致病性研究[J]. *中国家禽*, 2020, 42(10): 116-120
Li TT, Wang JH, Zhu GQ, Qian Z, Yang Z, Xu P, Wei RR, Li C, He CY, Fan J. Isolation, identification and pathogenicity of goose astrovirus[J]. *China Poultry*, 2020, 42(10): 116-120 (in Chinese)
- [19] Yang J, Tian JJ, Tang Y, Diao YX. Isolation and genomic characterization of gosling gout caused by a novel goose astrovirus[J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2018, 65(6): 1689-1696
- [20] 张清水. 新发肾致病型鹅星状病毒的分离鉴定及弱毒株选育[D]. 北京: 中国农业大学博士学位论文, 2019
Zhang QS. Characterization of a new nephropathogenic goose astrovirus and development of an attenuated vaccine candidate[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of China Agricultural University, 2019 (in Chinese)
- [21] Krishna NK. Identification of structural domains involved in astrovirus capsid biology[J]. *Viral Immunology*, 2005, 18(1): 17-26
- [22] Gronemus JQ, Hair PS, Crawford KB, Nyalwidhe JO, Cunnion KM, Krishna NK. Potent inhibition of the classical pathway of complement by a novel C1q-binding peptide derived from the human astrovirus coat protein[J]. *Molecular Immunology*, 2010, 48(1/2/3): 305-313