

K、G362→A、K384→R、T443→M、H479→Y,其中仅2个氨基酸为保守性替换,其它9个氨基酸的改变涉及到极性或所带电荷的变化,且347位是HN的抗原区。

鸭源基因Ⅶ型NDV在07-09年为集中爆发期,分离到较多毒株。从进化树分析表明,鸭源NDV与相对早些分离的鸡源毒株同源率高,在进化树上距离较近;从分离时间上看,鸭源毒株的出现滞后于相近的鸡源NDV;推测应是鸡源毒株在鸭群中适应的结果。对F基因全长的研究表明,国内NDV的变异速度较东南亚、澳大利亚等地区的流行株快,与传统疫苗的同源率不断降低,且有明显的时间性和地域性。

新城疫是OIE A类疾病,我国动物一类疫病,危害极大,国际上曾试图通过统一的法规来防止ND

的发生,但由于不同国家经济水平不同,很难达成共识。新城疫的防控是一个系统工程,消灭该病的任务十分艰巨,必须依靠科学,举全国之力,制定长远的疫病控制和消除计划,才能彻底根除ND的危害!

参考文献

[1] Zhuo-Ming Qin, Lei-Tao Tan, Huai-Ying Xu, et al. Pathotypical Characterization and Molecular Epidemiology of Newcastle Disease Virus Isolates from Different Hosts in China from 1996 to 2005

[2] Cho S H, Kwon H J, Kim T E, et al. Variation of a Newcastle Disease Virus Hemagglutinin-Neuraminidase linear epitope[J]. J Clin Microbiol, 2008, 46: 1541-1544

[3] Miller P, Estevez C, Yu Q, et al. Comparison of Viral Shedding Following Vaccination With Inactivated and Live Newcastle Disease Vaccines Formulated With Wild-Type and Recombinant Viruses [J]. Avian Diseases, 2009, 53: 39-49

H5N1 亚型禽流感病毒血凝素蛋白裂解位点 P6 位氨基酸对病毒致病性的影响

张毅,刘金华

(中国农业大学 北京市海淀区圆明园西路2号 100193; Email: ljh@cau.edu.cn)

1 前言

H5N1 亚型禽流感病毒 HA 蛋白裂解位点周围氨基酸对哺乳动物的致病性具有重要影响,但哪个氨基酸位点起到关键性的作用和其作用机制还不得而知。本研究对裂解位点 P6 位氨基酸对哺乳动物的致病性及作用机制进行了研究,结果证明该位点是影响 H5N1 病毒对哺乳动物致病性的关键氨基酸位点。

2 材料与方法

2.1 材料

MDCK 及 293T 细胞,PHW2000 流感病毒反向遗传操作质粒,从外表健康禽群分离的 H5N1 亚型流感病毒等。

2.2 方法

流感病毒反向遗传操作技术,细胞培养,Western-blot,IVPI 测定及小鼠动物试验。

3 结果与分析

3.1 P6 位氨基酸突变对 H5N1 病毒致病性的影

响

利用反向遗传操作技术,对一株对小鼠无致病性的 7 分支 H5N1 病毒 HA 蛋白 P6 位氨基酸进行定点突变,构建了 5 株 H5N1 重排病毒(G325I, G325R, G325*, and G325S)。将这些病毒接种小鼠后发现,不同突变株对小鼠的致病性差异很大,其中 G325S 对小鼠的致病性最强。G325S 不仅可以在感染鼠肺部复制,而且可以扩散到小鼠的脑部,造成小鼠的系统性感染。这些毒株对鸡的 IVPI 值说明这些重排病毒均属于高致病性禽流感毒株,但相比其它重排毒株,G325S 对鸡的平均致死时间最短。以上数据说明 H5N1 病毒 HA 蛋白 P6 位氨基酸对哺乳动物的致病性有重要影响,不仅可以影响病毒的复制效率,而且还能够影响病毒的全身性感染能力。HA-325S 是在印尼流行的 2.1.3 分支毒株的特征性氨基酸,而在印尼 H5N1 病毒感染的致死率是最高的。本研究在小鼠模型上证明了 HA-325S 可以导致最强的致病性,所以 HA-325S 可能对印尼流

行毒株对人的高致死率具有重要影响。

3.2 P6 位氨基酸影响致病性的机制

裂解位点周围的氨基酸不同可以影响流感病毒利用蛋白酶水解 HA 的效率,而 HA 裂解水平的不同,会影响病毒在体内和体外的复制效率,进而影响病毒的致病性。本研究的结果证明了裂解位点 P6 位氨基酸可以影响 HA 蛋白在 MDCK 细胞上的裂解效率,其中 HA-325S 的裂解效率是最高的,其可以在不加外源性胰酶的情况下,全部裂解,而野生型毒株只能裂解部分 HA。进一步的试验证明 G325S 在 MDCK 细胞上的复制效率也是最高的,而且病毒的复制效率与其利用蛋白酶的效率呈正相关。通过对所有重排毒株 HA0 蛋白模拟晶体结构的分析发现,P6 位氨基酸的突变可以影响 HA 裂解位点处环状

结构,HA-325S 的环状结构最突出于血凝素蛋白的表面,这种结构有利于蛋白酶对 HA 的识别和作用,从而导致病毒 HA 最高的裂解效率;而野生型的 HA-325G 的裂解位点处环状结构是平行于糖蛋白表面的,这种结构不利于蛋白酶对 HA 的识别和作用。P6 位氨基酸的突变影响了 HA 的裂解位点环状结构,进而影响了病毒的生物学性质。

参考文献

- [1] Zhang, Y., Y. Sun, H. Sun, J. Pu, Y. Bi, Y. Shi, X. Lu, J. Li, Q. Zhu, G. F. Gao, H. Yang, and J. Liu. 2012. A Single Amino Acid at the Hemagglutinin Cleavage Site Contributes to the Pathogenicity and Neurovirulence of H5N1 Influenza Virus in Mice. *J Virol.* 2012, 86(12):6924.

中国禽戊型肝炎病毒的检出及流行病学状况

周恩民,赵钦,孙亚妮,王鑫杰,赵冀楠

(西北农林科技大学动物医学院兽医免疫学研究所,陕西 杨凌 712100)

【摘要】 禽戊型肝炎病毒(Hepatitis E virus, HEV)是鸡的大肝大脾病(Big liver and spleen disease, BLS)或肝炎脾大(Hepatitis-Splenomegaly, HS)综合症的主要病原。病毒感染主要引起 30-72 周龄的蛋鸡和肉种鸡的死亡率升高和产蛋率下降,部分鸡腹部充血,卵巢退化,偶有肝脾肿大。澳大利亚、美国、加拿大和欧洲等都有 BLS 或 HS 综合症爆发的报道,并且 BLS 曾给澳大利亚的养禽业带来了严重的经济损失。禽 HEV 是 2001 年由 Haqshenas 等在美国从患有 HS 综合症的病鸡中分离命名的,并且通过序列分析发现其与 BLSV 属于同一病毒的不同变异株。

在我国,1997 年杨德吉等利用琼扩试验证实了 BLSV 抗体在我国鸡群中的存在,2005 年马玉玲等利用 RT-PCR 方法从南京某鸡场扩增获得了一小段 BLSV 的核酸序列,但是并没有后续的相关报道。直到 2010 年,本实验室从患有 HS 的 35 周龄肉种鸡中分离得到我国首例禽 HEV 分离株(命名为 CaHEV),并获得了其全基因组序列。通过序列分析发现,CaHEV 与欧洲分离株的同源性最高(98%),同属于禽 HEV 基因 3 型。同时 CaHEV 不同途径攻毒 15 周龄的 SPF 鸡发现,口腔途径接种的鸡只粪便排毒和病毒血症出现的时间要比翅静脉接种的鸡只晚,但持续时间长,两种攻毒途径血清抗体转阳的时间均约在攻毒后 20 天左右,并且攻毒后第 8 周每种途径分别有两只 SPF 鸡只出现肝脾肿大。

自禽 HEV 被发现以来,不同国家的血清学调查发现,越南鸡血清阳性率为 40%,巴西为 20%,美国为 30%。其中 Meng 等调查的美国 76 个鸡场,56 个为禽 HEV 抗体阳性,Peralta 等调查的西班牙 29 个鸡场,26 个为阳性。在我国,血清学调查发现禽 HEV 的感染也已广泛流行。2007 年,梁久红等报道我国南方的鸡血清抗体阳性率为 33%;2008-2009 年我们对山东,黑龙江和广东三省进行的血清学调查发现健康鸡的血清阳性率为 28.5%,患有肝脾肿大综合症的鸡的血清阳性率为 43.3%;2009-2011 年继续调查的我国 11 个地区的禽 HEV 感染情况发现,36 个鸡场中 32 个为禽 HEV 抗体阳性,阳性率为 88.89%;4884 份鸡血清中,2262 份为阳性,阳性率为 46.31%。因此该病毒的感染在我国正在持续