

20 株鸡源 H9N2 亚型禽流感病毒 HA 基因的变异分析

陈瑞爱^{1,2}, 赖汉漳¹, 贺东生², 唐兆新², 李琳¹, 刘玉鹏¹, 张文炎¹

(1. 广东大华农动物保健品股份有限公司 广东省兽用生物制品生物技术与应用企业重点实验室, 广东肇庆 526238;

2. 华南农业大学 兽医学院, 广东广州 510642)

H9N2 亚型禽流感灭活疫苗为控制我国 H9N2 亚型禽流感发挥了重要作用, 然而由于各种原因, H9N2 亚型禽流感至今仍在我国流行, 在一些免疫鸡群中仍然可分离到病毒。本研究对 2010 年至今广东大华农公司从国内 7 省市的鸡场分离的 20 株 H9N2 亚型 AIV 的 HA 基因进行测序和分析, 旨在从分子生物学角度了解当前国内该亚型毒株的变异和流行规律, 进而为疫苗候选种毒的筛选提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 病毒

20 株 H9N2 亚型 AIV, 由广东大华农动物保健品股份有限公司华南动物疫病检测中心于 2010 年 2 月至 2012 年 5 月从国内 7 省市养殖场的免疫鸡群中分离鉴定。

1.2 HA 基因的克隆与序列分析

引物序列如下: HAF 5' CAAGATGGAAGTAG-TATCACT 3'; HAR 5' CAAGATGGA AGTAGTATCACT 3'。RT-PCR 扩增克隆后测序。从 Influenza Virus Sequence Database 中下载有代表性的 17 株 H9N2 亚型 AIV 参考株 HA 序列, 对 HA 基因核苷酸和氨基酸序列相似性、受体结合位点以及裂解位点等进行比较分析; 利用 MEGA4.0 绘制 HA 基因系统进化树。

2 结果与分析

各分离株间核苷酸序列相似性为 88.8% ~ 99.8%, 与目前国内主要商品化疫苗株 HA 基因核苷酸序列相似性仅为 90.3% ~ 93.2%。HA 蛋白裂解位点附近序列均无连续碱性氨基酸插入, 符合低致病力禽流感病毒特征。所有分离株 HA 的第 226

位氨基酸(参照 H3 亚型)均发生了谷氨酸→亮氨酸的突变, 呈现出典型的人流感病毒受体结合特性, 这一现象提示 H9N2 亚型 AIV 不经中间宿主适应就能直接感染人类的趋势愈加明显, 在未来可能对公共卫生安全构成巨大的威胁。有 17 株在 313-315 位新增 1 个潜在糖基化位点, 其中 2 株在 145-147 位继续增加 1 个潜在糖基化位点 NGT, 陈化兰等发现该糖基化位点出现导致病毒不与抗 H9N2 亚型 AIV 的 HA 单抗 C/B3 发生反应。

本研究毒株均分离自养殖场内的免疫鸡群, 说明目前应用的 H9N2 亚型 AI 灭活疫苗有些可能已无法有效阻止免疫鸡排毒, 但所有分离株仍为 Y280-like 亚系, 并且不同省份分离株聚类成一个与疫苗株进化关系较远的分支, 提示该分支为目前中国大陆 H9N2 亚型 AIV 新的主要流行株分支, 并且可能会突破地域限制呈大范围流行。

参考文献

- [1] 王延树, 李建丽, 梁武, 等. 13 株 H9N2 亚型禽流感病毒 HA 基因变异分析[J]. 中国家禽, 2011, 33(15): 9-12.
- [2] Fouchier R A M, Munster V, Wallensten A, et al. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls [J]. J Virol, 2005, 79(5): 2814-2822.
- [3] Subbarat K, Joseph T. Scientific barriers to developing vaccines against avian influenza viruses [J]. Nat Rev Immunol, 2007, 7(4): 267-278.
- [4] 赵军, 柴丽娜, 王泽霖. 1998~2008 年中国中部 H9N2 亚型 AIV 分离毒株 HA 基因的进化分析[J]. 病毒学报, 2011, 27(2): 122-128.

作者简介: 陈瑞爱(1970-), 女, 教授, 从事兽用生物制品及禽免疫抑制病研究。E-mail: chensa727@yahoo.com.cn