

## 传染性法氏囊病病毒野毒株的致病性及其 *vp2* 基因比较\*

孙淑红, 崔治中, 丁家波, 朱瑞良

(山东农业大学动物科技学院, 山东泰安 271018)

### Comparisons of Field Strains of Infections Bursal Disease Viruses for Their Pathogenicity and *vp2* Genes\*

SUN Shu-hong, CUI Zhi-zhong, DING Jia-bo, ZHU Rui-liang

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shandong Agricultural College, Taian 271018, China)

**Abstract:** Four field strains of Infections bursal disease viruses (IBDV) isolated in China during 1997~1999 were compared for their pathogenicity and sequences in high variable (hv) region of *vp2* genes. It was indicated that GX8/99 was a very virulent IBDV strain (vvIBDV), pathogenicity of other 3 strains was not as the typical vvIBDV but much higher than classical or standard virulent IBDV strains. The hv regions of *vp2* of the 4 strains have very high homology with vvIBDV reference strain HK46, 96.8%~99.5% at DNA level and 96.6%~100% at amino acid (aa) level. But their homology with vaccine strain D78 was very low, as only 91.7%~93.6% or 91.8%~93.2% at DNA level or aa level, respectively. It seems like that there was some relationship between the sequences of hv region and pathogenicity. Relatively, the new vvIBDV strain GX8/99 had less homology of 96.8%~97.2% at DNA or aa level to vvIBDV reference strain HK46 and other 3 field strains, than the homology among HK46 and other 3 strains, which were more than 98.4% or 98.6% at DNA or aa level. There was a 100% homology of aa sequence among SD3/98、JS30/99 and HK46. It was demonstrated that the new vvIBDV strains GX8/99 had changed in both pathogenicity and hv region of *vp2* gene relative to reference strain HK46 and other field strains.

**Key words:** IBDV pathogenicity; *vp2* gene; High variable region

**摘要:** 对 4 个 IBDV 野毒株的致病性和它们的 *vp2* 基因高变区序列同时做了比较分析。结果表明, 4 个 IBDV 毒株在致病性程度上存在较大差异。其中有一个是真正的超强毒, 即 GX8/99, 其他几个虽然达不到真正超强毒的毒力, 但也比经典的标准毒的致死性高得多。在 *vp2* 基因高变区, 这 4 个 IBDV 野毒株与超强毒参考株 HK46 同源性很高, 在 DNA 水平为 96.8%~99.5%, 在氨基酸 (aa) 水平为 96.6%~100%。而与疫苗毒 D78 有很大差异, 分别只有 91.7%~93.6% 和 91.8%~93.2%。说明 IBDV 毒株的 *vp2* 基因高变区确实与其致病性有一定关系。特别是 SD-1/97、SD-3/98、JS-30/99 株之间及其与 HK46 在 DNA 和 aa 水平的同源性高达 98.4% 和 98.6% 以上, SD-3/99、JS-30/99 株之间及其与 HK46 的氨基酸同源性为 100%。然而, 致病性特别高的 GX8/99 株病毒与其他 3 个野毒株及 HK46 在 DNA 和氨基酸水平的同源性相对较低, 在 DNA 和 aa 水平的同源性只有 96.8%~97.2% 和 96.6%~97.9%。相对于国内的流行毒株和香港超强毒参考株 HK46, GX8/99 株在致病性和 VP2 高变区都已发生了一定的变异。

**关键词:** 传染性法氏囊病病毒 (IBDV); 致病性; *vp2* 基因; 高变区

中图分类号: S852.65

文献标识码: A

文章编号: 1003-5152(2004)03-0245-05

上世纪八十年代末, 自从欧洲发现致死率很高 (50%~90%) 的超强毒传染性法氏囊病毒 (Very

收稿日期: 2003-11-11, 修回日期: 2004-01-29

\* 基金项目: 国家自然科学基金重大项目资助 (39893290)

作者简介: 孙淑红 (1968-), 女, 山东高密籍, 预防兽医学硕士。

\*\* 通讯作者: 崔治中 (1944-), 教授, 博士生导师, 研究方向为禽病学及动物病毒学。Corresponding author Tel: 0538-8249937. E-mail: zzzcui@sdau.edu.cn

virulent infectious bursal disease virus, vvIBDV)<sup>[9,13,17]</sup>以来,很快传播至亚洲和世界其它地区。我国也先后有多篇有关 vvIBDV 野毒株流行的报道<sup>[1,3-5]</sup>。显然 vvIBDV 已成为广泛流行的毒株。Brown 和 Shinmer<sup>[10]</sup>首先发表了 vvIBDV 株 UK661 的 vp2 基因的全序列。随后,许多国家都分别比较了各地流行株 vp2 的高变区的系谱关系<sup>[11,15,16,19]</sup>,我国在这方面也有很多的研究<sup>[2,6-8,12]</sup>。这些研究都试图以此来阐明 VP2 高变区的碱基或氨基酸变异与致病性或其它生物学特性的关系。本研究选取了 4 个致病性程度不同 IBDV 野毒株,其中包括我们已在致病性上做了详细比较研究的超强毒 IBDV 株 GX8/99<sup>[4]</sup>,将它们致病性和 vp2 基因的高变区序列同时做比较研究,并与已知的超强毒参考株 HK46<sup>[14]</sup>和疫苗毒 D78 的 vp2 做了比较。

## 1 材料与方法

### 1.1 SPF 鸡胚、SPF 鸡

购自济南 SPAFS 实验室及山东省农业科学院家禽研究所实验鸡场。

### 1.2 毒株

SD-1/97、SD-3/98、JS-30/99、GX8/99 等 4 个野毒株,分别来自山东(SD)、江苏(JS)和广西(GX),最后二位数表示收集到的年份,收集的均为原始法氏囊病料。

分别取法氏囊病料准确称重,加 4 倍灭菌 PBS (pH7.4) 研磨,冻融 3 次。悬液加 40% 的乙醚混匀作用 20min, 4000r/min 离心 10min。并重复一次,加双抗至终浓度 4000IU/mL。放置 4℃ 过夜。为了扩大囊毒的量同时也为了在 SPF 鸡纯化病毒,将处理的病料再接种 6~8 只 4 周龄 SPF 鸡传代,3~4d 后不论是否死亡均采集法氏囊混合研磨后再按如上处理。将处理后的法氏囊悬液用无菌离心管分装若干放置 -20℃ 待用。分别用作测定 ELD<sub>50</sub> 及感染鸡用。试验时每次取用一管,不重复使用。

### 1.3 SPF 鸡感染方法

分别用 28d 的 SPF 鸡,在其脱离 SPF 环境后 5~8h 内立即接种经上述处理的囊毒。每只鸡接种不同毒株的病毒液 0.2mL,点眼、滴鼻各 0.1mL。观察 6d 内鸡的死亡数,并对 6d 后存活鸡进行剖检,记录法氏囊/体重、胸腺/体重、脾脏/体重。

### 1.4 ELD<sub>50</sub> 和 EID<sub>50</sub> 的测定比较

分别用 8d 的 SPF 鸡胚采用卵黄囊接种法进行接种。不同的 IBDV 毒株分别按 10 倍系列稀释至 10<sup>-6</sup>,每个稀释度接种 6 个鸡胚,每胚接种 0.1mL。

剔除 24h 内死亡的鸡胚。以后每日照胚 2 次,观察至 144h,然后根据 Meed-Muech 计算方法计算每株野毒的囊毒悬液中含有的 ELD<sub>50</sub>。

对 144h 内死亡或不死亡的鸡胚,分别取每个鸡胚的部分肝脏、肾脏和脾脏,与 pH 为 7.4 的 PBS 以 1:4 比例混合研磨,离心取上清液,鸡传染性法氏囊病快速诊断试纸条进行测试是否有 IBDV 感染,根据 Meed-Muech 来计算其 EID<sub>50</sub>。

传染性法氏囊病快速诊断试纸条由河南省农科院生物技术研究所提供。

### 1.5 vp2 高变区的扩增

人工感染鸡法氏囊中 IBDV 基因组 RNA 的提取及 cDNA 的合成及扩增按文献<sup>[12]</sup>报道的方法进行。所用引物为: P1: 5' -TCACCGTCCTCAGCTT-AC-3', 对应于 ORFA-1 第 495 位到 512 位核苷酸,长 18bp; P2: 5' -TCAGGATTTGGGATCAGC-3', 互补于 ORFA-1 第 1137 位到 1120 位核苷酸,长 18bp; P3: 5' -GCCCAGAGTCTACACCATAAC TGC-3', 对应于 ORFA-1 第 607 位到 630 位核苷酸,长 24bp; P4: 5' -GCGACCGTAACGACAGATCC-3', 互补于 ORFA-1 第 1100 位到 1081 位核苷酸,长 20bp; 以 P3、P4 为引物,所得扩增产物应为 494bp。

### 1.6 序列测定和比较

选取经酶切鉴定后的阳性克隆进行序列测定。序列测定由上海博亚公司完成。采用 DNASTAR 软件对测定的 4 个 IBDV 毒株的 vp2 基因高变区的 cDNA 序列和与已知的超强毒参考株 HK46<sup>[14]</sup>和疫苗毒 D78 的 vp2 做了比较。

## 2 结果

### 2.1 IBDV 毒株的 ELD<sub>50</sub> 和 EID<sub>50</sub> 的测定

人工接种鸡胚,对 4 个毒株的法氏囊悬液测定了其 ELD<sub>50</sub> 和 EID<sub>50</sub>,4 个法氏囊野毒株均可在 SPF 鸡胚上复制并使鸡胚致死,但 ELD<sub>50</sub> 呈现一定程度的差异。并且使用鸡传染性法氏囊病快速诊断试纸条测定,结果表明 4 个野毒株的 EID<sub>50</sub> 和 ELD<sub>50</sub> 完全一致(表 1)。

### 2.2 不同毒株人工感染 SPF 鸡的致死率

表 2 列出了 4 个 IBDV 毒株人工感染 28dSPF 鸡的死亡率及人工感染 6d 后法氏囊、胸腺、脾脏的变化。4 个 IBDV 毒株对 SPF 鸡的致死率有差异。其中 GX8/99 株的致死率程度足可算超强毒株(vvIBDV),死亡率为 84%,其它 3 个毒株对 28d SPF 鸡的致死率在 45%~71%之间。

表 1 4 个 IBDV 野毒株法氏囊悬液中病毒含量

Table 1 ELD<sub>50</sub> or EID<sub>50</sub> in bursal sample suspension of different IBDV strains

|                          | SD-1/97           | GX 8/99            | SD-3/98           | JS-30/99          |
|--------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| ELD <sub>50</sub> /0.1mL | 10 <sup>3.5</sup> | 10 <sup>3.33</sup> | 10 <sup>2.5</sup> | 10 <sup>2.4</sup> |
| EID <sub>50</sub> /0.1mL | 10 <sup>3.5</sup> | 10 <sup>3.33</sup> | 10 <sup>2.5</sup> | 10 <sup>2.4</sup> |

鸡的易感性不同, 对免疫器官的影响也不同。其中以 GX8/99 株对法氏囊、胸腺造成的伤害更重。

表 3 中列出了 4 个 IBDV 毒株人工感染不同日龄不同批次 SPF 鸡后的致死率以及各免疫器官与体重之比。结果表明, 不同日龄不同批次的 SPF 鸡人工感染同一病毒时致病性存在差异。

4 个 IBDV 毒株中, 不同毒株对同样日龄的 SPF

表 2 不同毒力的 IBDV 毒株在同一批次 4 周龄 SPF 鸡上的致病性试验

Table 2 Pathogenicity of IBDV strains tested in the same batch of SPF chickens at the age of 28 days

| Strains                     | Challenged at the age of days |      | Death (%) | Thymus/body weight(%) |                       | Bursa/body weight(%)  |                       | Spleen/body weight    |                       |
|-----------------------------|-------------------------------|------|-----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
|                             | Total                         | Days |           | Dead                  | Killed                | Dead                  | Killed                | Dead                  | Killed                |
| SD-1/97                     | 28                            | 31   | 71        | 0.348±0.082<br>(n=19) | 0.200±0.08<br>(n=9)   | 0.355±0.084<br>(n=19) | 0.247±0.080<br>(n=9)  | 0.210±0.048<br>(n=19) | 0.224±0.062<br>(n=9)  |
| SD-3/98                     | 28                            | 31   | 52        | 0.315±0.084<br>(n=14) | 0.206±0.062<br>(n=15) | 0.322±0.079<br>(n=19) | 0.241±0.085<br>(n=15) | 0.186±0.038<br>(n=14) | 0.243±0.063<br>(n=15) |
| JS-30/99                    | 28                            | 31   | 45        | 0.295±0.085<br>(n=14) | 0.223±0.082<br>(n=17) | 0.282±0.096<br>(n=14) | 0.277±0.077<br>(n=17) | 0.178±0.075<br>(n=14) | 0.223±0.083<br>(n=17) |
| GX-8/99                     | 28                            | 91   | 84        |                       | 0.177±0.051<br>(n=14) |                       | 0.233±0.070<br>(n=14) |                       | 0.188±0.057<br>(n=14) |
| SPF chickens at the 35 days |                               |      |           |                       | 0.59 (n=6)            |                       | 0.58 (n=6)            |                       |                       |

表 3 IBDV 野毒株在不同批次不同日龄 SPF 鸡的致病性

Table 3 Pathogenicity of IBDV strains in the different batch of SPF chickens at the different age of days

| Strain   | Dilutions of bursa suspension | EID <sub>50</sub> /0.2mL | Challenged at the age of Days | Challenged birds |           |        | Organ/body weight (%) (X±S) |             |
|----------|-------------------------------|--------------------------|-------------------------------|------------------|-----------|--------|-----------------------------|-------------|
|          |                               |                          |                               | Total            | Death (%) | Bursa  | Thymus                      |             |
| GX-8/99  | 1:50                          | 400                      | 28                            | 21               | 19        | 90.50  | 0.265±0.126                 | 0.190±0.083 |
|          | 1:100                         | 200                      | 21                            | 25               | 18        | (72.0) | 0.346±0.101                 | 0.274±0.108 |
|          | 1:100                         | 200                      | 28                            | 30               | 27        | (90.0) | --                          | --          |
| SD-3/98  | 1:20                          | 160                      | 21                            | 16               | 10        | (62.5) | 0.276±0.100                 | 0.259±0.108 |
|          | 1:50                          | 64                       | 32                            | 30               | 16        | (53.3) | 0.443±0.123                 | 0.384±0.143 |
|          | 1:50                          | 64                       | 40                            | 32               | 8         | (25.0) | 0.230±0.133                 | 0.171±0.092 |
|          | 1:50                          | 64                       | 49                            | 33               | 5         | (15.0) | 0.162±0.056                 | 0.148±0.043 |
| SD-1/97  | 1:20                          | 64                       | 28                            | 16               | 2         | (12.5) | 0.285±0.104                 | 0.211±0.067 |
|          | 1:50                          | 160                      | 49                            | 25               | 0         | (0.0)  | 0.118±0.046                 | 0.147±0.045 |
|          | 1:50                          | 160                      | 28                            | 31               | 22        | (71.0) | 0.320±0.096                 | 0.300±0.107 |
|          | 1:50                          | 160                      | 35                            | 27               | 0         | (0.0)  | 0.375±0.135                 | 0.268±0.100 |
|          | 1:50                          | 160                      | 15                            | 17               | 4         | (23.5) | 0.164±0.063                 | 0.243±0.078 |
| JS-30/99 | 1:20                          | 125                      | 28                            | 16               | 2         | (12.5) | 0.285±0.104                 | 0.211±0.267 |
|          | 1:50                          | 50                       | 28                            | 25               | 3         | (12.0) | 0.153±0.085                 | 0.169±0.072 |
|          | 1:50                          | 50                       | 30                            | 25               | 8         | (32.0) | 0.251±0.109                 | 0.134±0.053 |
|          | 1:50                          | 50                       | 35                            | 25               | 9         | (36.0) | 0.236±0.112                 | 0.206±0.061 |
|          | 1:50                          | 50                       | 28                            | 31               | 14        | (45.0) | 0.279±0.285                 | 0.255±0.090 |

2.3 IBDV 对中枢免疫器官的作用

所有毒株在人工感染鸡后, 都能引起中枢免疫器官法氏囊和胸腺不同程度的萎缩。(表 2 和表 3)。

2.4 攻毒死亡鸡与存活鸡免疫器官的差异

将 4 个 IBDV 毒株攻毒 28d 的 SPF 鸡 1~6d 内死亡鸡和第 6d 时剖杀鸡的各项免疫指标分别进行统计, 发现所有毒株剖杀鸡的胸腺和法氏囊都比死亡鸡的胸腺萎缩更严重(表 2)。另外, 所有 4 个毒

株感染后 6d 内死亡鸡的脾脏小于 6d 后剖杀鸡的。

2.5 人工感染不同日龄 SPF 鸡致死率的差异

4 个 IBDV 分离株在不同日龄不同批次的 SPF 鸡上的致死率存在很大差异, 相对来说, 有些毒株对鸡的致死率受攻毒时 SPF 鸡的年龄的影响较大(表 3)。只有 GX-8/99 株保持相对稳定性, 在较大的年龄范围内都有较高的致死率。表 4 列出了不同毒株做人工攻毒实验的次数及其致死率的变动范围。

表 4 不同 IBDV 毒株攻毒 3~6 周龄 SPF 鸡的致死率  
Table 4 Summary of comparisons on pathogenicity of IBDV strains in spf chicken of 3~6 weeks of age

| Strain   | Trials | Total irds | Range of mortality (%) |
|----------|--------|------------|------------------------|
| GX-8/99  | 15     | 1675       | 72~90.5%               |
| SD-3/98  | 7      | 187        | 15~62.5%               |
| SD-1/97  | 5      | 115        | 0~71%                  |
| JS-30/99 | 5      | 123        | 12~45%                 |

2.6 野毒株与参考毒株的 vp2 高变区核苷酸序列比较

vp2 基因高变区的 cDNA 序列和与已知的超强毒参考株 HK46 和疫苗毒 D78 的同源性比较结果表明(表 5), 这 4 个 IBDV 野毒株的 vp2 基因高变区与 vvIBDV 参考株 HK46 相当接近, 为 96.8%~99.5%, 而与疫苗毒 D78 差异较大仅为 91.7%~93.6%。在这 4 个野毒株中, SD1/97、SD3/98 和 JS30/99 更加接近 HK 46, 为 97.7%~99.5%。而我们鉴定出的致病性最高的 GX8/99 则与其他 3 株和 HK46 的同源性相对较低, 只有 96.8%~97.7%。4 个毒株 VP2

高变区核酸序列见 GenBank AY 288047、AY288048、AY288049、AY288050。

2.7 野毒株与参考毒株的 VP2 高变区氨基酸序列比较

图 1 显示了 4 个 IBDV 野毒株的 VP2 基因高变区的氨基酸序列和与已知的超强毒参考株 HK46 和疫苗毒 D78 的同源性比较。结果表明, 4 个 IBDV 野毒株的 VP2 基因高变区氨基酸序列与 vvIBDV 参考株 HK46 相当接近, 而与疫苗毒 D78 差异较大, 有 9-12 氨基酸差异。在强毒株中, SD1/97、SD3/98 和 JS30/99 更加接近 HK 46。SD1/97 与 HK46 只有 2 个氨基酸变异, 而 SD3/98 与 JS30/99 则与 HK46 完全相同, 虽然它们的核酸序列还有一定差异。而我们鉴定出的致病性最高的 GX8/99 则与其他 3 株和 HK46 有 3-5 个氨基酸变异, 看来该超强毒株在 VP2 的高变区已发生了较大的变异。

表 5 野毒株与 HK46 株及 D78 株的 vp2 同源性比较(%)  
Table 5 Homology comparison of vp2 of field strains with the HK46 and D78 (%)

|         | GX8/99 | Hk46 | Sd1/97 | SD3/98 | JS30/99 | D78  |
|---------|--------|------|--------|--------|---------|------|
| GX8/99  |        | 97.7 | 96.8   | 97.7   | 97.2    | 91.7 |
| Hk46    | 2.3    |      | 97.7   | 99.1   | 98.6    | 93.1 |
| Sd1/97  | 3.3    | 2.3  |        | 98.4   | 98.9    | 92.7 |
| SD3/98  | 2.3    | 0.9  | 1.6    |        | 99.5    | 93.6 |
| JS30/99 | 2.8    | 1.4  | 1.2    | 0.5    |         | 93.6 |
| D78     | 8.9    | 7.3  | 7.8    | 6.8    | 6.8     |      |

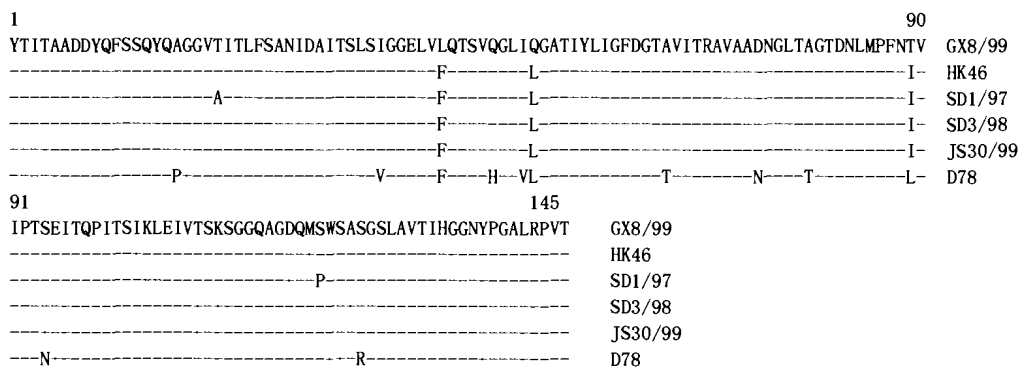


图 1 IBDV 野毒株与 vvIBDV HK46 株及 D78 株 VP2 氨基酸序列比较

Fig.1 amino acid sequence comparison in the variable region of VP2 of field strains with the vvIBDV HK46 and D78 strain

3 讨论

IBDV 的 VP2 是病毒的主要保护性抗原, 可诱

导中和抗体, 从而保护雏鸡免受 IBDV 的攻击。自 Brown and Shinmer<sup>[10]</sup>首先发表了 vvIBDV 株 UK661 的 VP2 基因的全序列以来, 许多国家都分别比较了

各地流行株 VP2 的高变区的系谱关系<sup>[11,15,16,19]</sup>。我国在这方面也有很多的研究<sup>[2,6-8,11]</sup>。这些研究都试图以此来阐明 VP2 高变区的碱基或氨基酸变异与致病性或其它生物学特性的关系。虽然这些研究都显示,在 VP2 高变区的氨基酸序列与致病性间有一定的关系,但 van den Berg<sup>[18]</sup>对不同毒力的大量野毒株的 VP2 高变区序列比较表明,IBDV 的 VP2 高变区只能看作是强毒株或超强毒株在演化系谱中的一种分子标志,而不能作为与致病性相关的标志。

有鉴于此,我们对 4 个 IBDV 野毒株的致病性和它们的 *vp2* 基因高变区序列同时做了比较分析。结果表明,4 个 IBDV 的毒株在致病性程度上存在较大差异,其中有真正的超强毒 GX8/99,其他几个虽然达不到真正超强毒的毒力,但也比经典的标准毒的致死性高得多。在 *vp2* 基因高变区,这 4 个 IBDV 野毒株与超强毒参考株 HK46 同源性很高,在 DNA 水平为 96.8%~99.5%,在氨基酸水平为 96.6%~100%。而与疫苗毒 D78 有很大差异,分别只有 91.7%~93.6 和 91.8%~93.2%。这说明 IBDV 毒株的 *vp2* 基因高变区确实与其致病性有一定关系。特别是 SD-1/98、SD-3/99、JS-30/99 株之间及其与 HK46 的同源性高达 98.4 和 98.6%以上,SD-3/99、JS-30/99 株之间及其与 HK46 的氨基酸同源性为 100%。然而,我们鉴定的一个致病性特别高的 GX8/99 株病毒<sup>[4]</sup>与其他 3 个野毒株及 HK46 在 DNA 和氨基酸水平的同源性相对较低,只有 96.8%~97.2%和 96.6%~97.9%。至于 IBDV 毒株的致病性与 *vp2* 基因高变区的变异的相关性究竟是直接与致病性有关,还是象 van den Berg<sup>[18]</sup>所认为的那样只能看作是强毒株或超强毒株在演化系谱中的一种分子标志,这可能更需要更有力更直接的实验依据。

## 参考文献

- [1] 李德山, 武志强, 陈冠春, 等. 鸡传染性法氏囊病超强毒株的分离和初步鉴定[J]. 中国畜禽传染病, 1991, 6:3-7.
- [2] 曹永长, 毕英佐, 梁志清, 等. 传染性法氏囊病毒 CJ801 VP2 基因 cDNA 的序列分析[J]. 华南农业大学学报, 1997, 8: S65-72.
- [3] 曹永长, 毕英佐, 梁志清, 等. 超强毒传染性法氏囊病毒宿主保护抗原的分子特征[J]. 中国兽医学报, 1998, 18: 521-526.
- [4] 崔治中, 孙淑红, 单忠芳, 等. 鸡传染性法氏囊病超强毒株 GX8/99 株的致病性[J]. 病毒学报, 2002, 18: 162-166.
- [5] 孙建和, 陆 苹, 李 晖, 等. 鸡传染性法氏囊病上海超强毒株 NH99 的分离与鉴定[J]. 中国病毒学, 2002, 17: 252-256.
- [6] 刘小军, 陈 楠, 陈立栋, 等. 鸡传染性法氏囊病毒基因组 A 片段 cDNA 序列分析[J]. 畜牧兽医学报, 2002, 23: 85-88.
- [7] 哈姆斯阿古拉, 张 彤, 张七斤, 等. 鸡传染性法氏囊病毒内蒙古毒株 VP2 基因克隆和序列分析[J]. 生物工程学报, 1996, 12: S71-S78.
- [8] 崔 静, 等. 传染性法氏囊病毒 CJ801 bkf 毒株 VP2 基因 cDNA 基因结构的分析[J]. 病毒学报, 1995, 11: 234-241.
- [9] Brown M D, Green P, Skinner M A. VP2 sequences of recent European "very virulent" isolates of infectious bursal disease virus are closely related to each other but are distinct from those of "classical" strains [J]. J Gen Virol, 1994, 75:675-680.
- [10] Brown M D, Skinner M A. Coding sequences of both genome segments of a European "very virulent" infectious bursal disease virus [J]. Virus Res, 1996, 40:1-5.
- [11] Cao Y C, Yeung W S, Law M B, et al. Molecular characterization of seven Chinese isolates of infectious bursal disease virus: classical, very virulent and variant strains [J]. Avian Dis, 1998, 42:340-351.
- [12] Chen H Y, Zhou Q, Zhang M F, et al. Sequence analysis of the VP2 hypervariable region of nine infectious bursal disease virus isolates from mainland China [J]. Avian Dis, 1998, 42:762-769.
- [13] Chettle N J, Stuart J C, Wyeth, P J. Outbreaks of virulent infectious bursal disease in East Anglia [J]. Veter Record. 1989. 125:271-272
- [14] Lim B L, Cao Y, Yu T, et al. Adaptation of very virulent infectious bursal disease virus to chicken embryonic fibroblasts by site-directed mutagenesis of residues 279 and 284 of viral coat VP2 [J]. J Virol, 1999, 73: 2854-2862.
- [15] Lin Z, Kato A, Otaki Y, et al. Sequence comparison of a highly virulent infectious bursal disease virus prevalent in Japan [J]. Avian Dis, 1993, 37: 315-323.
- [16] To H, Yamaguchi T, Nguyen N T, et al. Sequence comparison of the VP2 variable region of infectious bursal disease virus isolates from Vietnam [J]. J Veter Med Sci. 1999, 61: 429-432.
- [17] Van den Berg T P, Gonze M, Morales D, et al. Acute infectious bursal disease in poultry: immunological and molecular basis of antigenicity of a highly virulent strain [J]. Avian Pathol, 1996, 25:751-768.
- [18] Van den Berg T P. Acute infectious bursal disease in poultry: a review [J]. Avian Pathol, 2000, 29:175-194.
- [19] Yamaguchi T, Ogawa M, Miyoshi M, et al. Sequence and phylogenetic analyses of highly virulent infectious bursal disease virus [J]. Arch Virol, 1997, 142:1441-1458.