

# 鹅细小病毒分离株 HG5/82 的分子特征分析

孔宪刚<sup>1\*\*</sup>, 李桂霞<sup>1,2</sup>, 刘胜旺<sup>1</sup>, 冉多良<sup>2</sup>

(1. 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所兽医生物技术国家重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150001; 2. 新疆农业大学动物医学学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

## Analysis of Molecular Characteristics of Goose Parvovirus Strain HG5/82

KONG Xian-gang<sup>1\*\*</sup>, LI Gui-xia<sup>1,2</sup>, LIU Sheng-wang<sup>1</sup>, RAN Duo-liang<sup>2</sup>

(1. National Laboratory of Veterinary Biotechnology, Institute of Harbin Veterinary Medicine, CAAS, Haerbin, Heilongjiang 150001 China; 2. College of Veterinary Medicine, Xinjiang Agriculture University, Urumchi, Xinjiang 830052 China)

**Abstract:** Non-structural and structural genes of Goose parvovirus (GPV) HG5/82 strain were amplified using polymerase chain reaction (PCR) method and cloned into the pMD18-T vector, respectively. The two fragments were sequenced and analyzed with reference GPV strains and Muscovy duck parvovirus (MDPV) strains. The results showed that the GPV *ns* gene is 1884bp and encoding 627 amino acids. The *vp* gene of HG5/82 strain is 2199bp and encoding 732 amino acids. The identity of partial *V P3* genes between HG5/82 and MDPV is higher than that between GPV and other members of *Parvovirinae*. These results were also proved by the analysis of the *V P3* gene. The high identity between GPV HG5/82 and MDPV indicated that they would be derived from the same ancestor.

**Key words:** Goose Parvovirus; *ns* gene; *vp* gene; Molecular characteristic

**摘要:**本研究应用 PCR 技术扩增得到 GPV 中国分离株 HG5/82 的非结构基因与结构基因, 片段大小分别约为 1.9 kb、2.2kb 的片段。将该片段分别进行克隆及序列测定, 并与 GPV 国内外部分已发表的毒株及番鸭细小病毒 (Muscovy duck parvovirus, MDPV) 的对应序列比较。结果表明: HG5/82 株非结构蛋白 (Non-structure, NS) 基因长为 1884bp, 编码 627 个氨基酸。HG5/82 株结构蛋白基因长为 2199bp, 编码 732 个氨基酸。序列分析结果表明, 我国地方分离株与国内外鹅细小病毒相比, *ns* 基因、*vp* 基因均表现出较高的同源性, 并且具有共同的分子特征。为进一步研究 GPV 的基因功能、遗传变化规律及病毒分子致病机理提供了一定的分子基础。结构基因 *V P3* 间变异较小, 这是目前 GPV 只有一个血清型的分子基础, 为基因工程疫苗的研制提供了可行性。HG5/82 与番鸭细小病毒相应序列比较发现, 与细小病毒其它成员相比两者具有较近的亲源关系, 但这种同源性明显低于鹅细小病毒之间的同源性。

**关键词:** 鹅细小病毒; *ns* 基因; *vp* 基因; 分子特征

**中图分类号:** S852.65 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5125(2005)01-0028-05

鹅细小病毒病是由鹅细小病毒引起的, 鹅和番鸭的一种高度接触性传染病。该病毒主要侵害一月龄以下的雏鹅和雏番鸭, 以急性肠炎及肝、肾和心等实质器官炎症为主要病理变化。该病致病性强, 死亡率高<sup>[1-3]</sup>, 对 10 日龄雏鹅致病率可达到 100%, 有时对较大日龄的易感群动物致病率可达 70% 以上<sup>[4]</sup>。给水禽养殖业造成很大的经济损失, 成为影响世界各国养禽业发展的主要疫病之一<sup>[5,6]</sup>。

鹅细小病毒 (*Goose parvovirus*, GPV) 是细小病毒科 (*Parvoviridae*), 细小病毒属 (*Parvovirinae*) 的成员, 为单链线状 DNA 病毒。病毒无囊膜, 病毒粒子直径为 20-22nm, 呈六面体外观。在提取纯化过程中病毒 DNA 很容易在体外自发形成约 5.0kb 的双链。GPV 基因组包括两个开放阅读框 (Open Read Frame, ORF), 之间间隔 18 个碱基。左侧 ORF 编码非结构蛋白 NS1 和 NS2, 右侧 ORF 编码结构

收稿日期: 2004-06-14, 修回日期: 2004-07-16

\*\* 通讯作者: 孔宪刚 (1955-), 男, 黑龙江哈尔滨籍, 研究员, 博士, 主要从事动物病毒分子生物学和分子免疫学研究。  
Corresponding author. Tel: 0451-2725786-200, E-mail: xgkong@hvri.ac.cn

蛋白 VP1、VP2 和 VP3。非结构蛋白、结构蛋白分别具有共同的羧基端,形成套式结构。NS 蛋白参与 DNA 的复制和转录的调节,对宿主细胞具有毒性作用<sup>[7]</sup>。还可能与病毒 DNA 和蛋白质的有效合成以及病毒的增殖有关<sup>[8]</sup>。vp 基因编码病毒粒子的衣壳蛋白,是刺激机体产生抗体的成分,同时 VP 蛋白与病毒的毒力及致病性有关。目前,有关 GPV 的致病机制及变异性等分子生物学方面的研究报道非常有限。

本实验室 1982 年在黑龙江从某养鹅场采集的病料中分离到鹅细小病毒 GH5/82 株<sup>[9]</sup>,初步研究发现该毒株对 12 日龄雏鹅的致病性弱。本研究对 HG5/82 株的 ns、vp 基因进行了克隆和序列测定,并与国内外分离株进行了比较分析,为进一步研究 GPV 的基因功能、遗传变化规律及病毒分子致病机理提供了一定的基础。同时,将 HG5/82 株与番鸭细小病毒 FM 株相应序列比较发现,与细小病毒其它成员相比,HG5/82 株与番鸭细小病毒 FM 株具有较近的亲缘关系,但低于鹅细小病毒株之间的同源性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

毒株 HG5/82 株由中国农业科学院哈尔滨兽医研究所生物技术三室分离并保存<sup>[9]</sup>。根据已发表的 GPV 基因序列,设计引物,委托上海生工生物工程有限公司合成。克隆载体 pMD18-T、限制性内切酶 Hind、Ex TaqDNA 聚合酶、T<sub>4</sub>DNA 连接酶、蛋白酶 K、Marker(DL2000)购自宝生物工程(大连)有限公司;受体菌 *E. coli* JM83 由本实验室保存;病毒 DNA 小量提取试剂盒、DNA 片段快速纯化/回收试剂盒购自上海生工生物工程有限公司;其它试剂均为进口或国产分析纯。

### 1.2 病毒的增殖与鉴定

将 GPV 国内分离株 HG5/82 经尿囊腔接种 12 日龄鹅胚,37℃ 培养,无菌收取 3~5d 死亡鹅胚尿囊液(弃去 24h 内死亡胚)。将尿囊液 13 000r/min 离心 30min,经 5%磷钨酸负染,电镜鉴定尿囊液中的病毒粒子。

### 1.3 结构蛋白基因与非结构蛋白基因的分子克隆

扩增非结构蛋白基因(ns)的引物序列如下, P1<sub>NS</sub>:5'-ATGGCACTTTCTAGGCCTCTGCA GA-3'; P2<sub>vp</sub>:5'-TTATTGTTCA TTTTCA GCA TCA TCA-3'。扩增结构蛋白基因(vp)的引物序列如下, P1<sub>vp</sub>:5'-ATGTCTACTTTTTTA GATTCA TTCG-

3'; P2<sub>vp</sub>:5'-TTACA GA TTTTGA GTTA GA TA TC TG-3'。按常规的方法<sup>[10]</sup>对结构基因和非结构基因进行分子克隆,将阳性克隆委托上海生物工程公司进行序列测定。

### 1.4 ns、vp 基因的序列比较分析

将 HG5/82 的 NS、VP 基因分别与国内外已发表的 GPV 毒株及番鸭细小病毒的核苷酸及所推导的氨基酸序列进行比较分析。同时,将 HG5/82 vp3 基因及 vp3 基因的 145nt-680nt 与国内外参考毒株的相应序列分别进行序列比较分析。参考毒株 GenBank 登录号见表 1。

表 1 参考毒株及 GenBank 登录号

Table 1 Reference strains and GenBank accession No			
Strains	GenBank accession no.	Origin	virus
B	U25749 or NC_001701	Hungary	GPV <sup>a</sup>
FM	U22967	Hungary	MDPV <sup>b</sup>
89384/ France	Z68272	France	MDPV
GPV- YG	AF416726	China	GPV
H1		China	GPV
SYG <sub>99-5</sub>		China	GPV
HG5/82	AY506546/ AY506547	China	GPV
99-1222	AF166107	Chinese Taiwan	GPV
99-1218	AF166106	Chinese Taiwan	GPV
92-217	AF166105	Chinese Taiwan	GPV
83-24	AF166104	Chinese Taiwan	GPV
82-322	AF166103	Chinese Taiwan	GPV
82-38	AF166102	Chinese Taiwan	GPV

a: GPV = Goose parvovirus; b: MDPV = Muscovy duck parvovirus

## 2 结果

### 2.1 结构蛋白基因与非结构蛋白基因的遗传特点

与参考毒株对应蛋白相比发现, HG5/82 非结构蛋白包括 NS1 和 NS2,它们具有共同的羧基端。NS1 大小为 1884bp,编码 627 个氨基酸,其中含有四个潜在的糖基化位点,分别位于 NS1 的 150~152、225~227、360~362、433~435 位。NS2 大小为 1356bp,由 451 个推导的氨基酸组成。结构蛋白基因长为 2199bp,编码 732 个氨基酸,包括 VP1、VP2、VP3 区域,它们终止于同一密码子,大小分别为 2199bp、1764bp、1605bp,分别编码 732、587、534 个氨基酸。结构蛋白中含有四个潜在的糖基化位点,分别位于 219~221、582~584、700~702、712~714 位。

### 2.2 结构蛋白基因与非结构蛋白基因的变异特征

HG5/82 ns1 基因与 GPV-YG、B 毒株及 MDPV FM 株 ns1 基因相比, HG5/82 与国内分离株 GPV-YG 同源性比国外分离株 B 株同源性高。与 GPV-YG 相比,仅有两个氨基酸发生变化。而与 B 相比有 108 个核苷酸发生变化,其中 17 个核苷酸的

有义突变,导致 14 个氨基酸发生变异。与番鸭 FM 相比有 65 个氨基酸发生变异,主要集中在 NS1 蛋白的羧基端; *vp1* 基因序列与以上毒株相比,与 GPV-YG 的同源性较高。*vp1* 基因与国内分离株 GPV-YG 相应序列相比仅有三个碱基发生变异,导致两个氨基酸变异。与国外 GPV-B 对应区比较发现有 140 个碱基发生变异,其中 32 个碱基的有义突变导致 28 个氨基酸发生变异,主要集中在 *vp1* 基因的 24-50 和 521-580 位氨基酸之间。与 FM 相比有 102 个氨基酸发生变异,主要集中在 VP2 和 VP3 起始密码子之间的 146-198 位氨基酸。见表 2 和 3。

表 2 HG5/82 与参考毒株 *ns* 基因同源性分析

Table 2 Homology analysis of NS1 gene

	FM	HG5/82	GPV-YG	B
	Amino acid identity(%)			
FM	***	89.6	89.6	90.6
HG5/82	81.2	***	99.7	97.9
GPV-YG	81.1	99.8	***	97.9
B	82.9	94.3	94.3	***
Nucleotide identity(%)				

表 3 HG5/82 与参考毒株 *vp1* 基因同源性分析

Table 3 Homology analysis of *vp1* gene

	FM	HG5/82	GPV-YG	B
	Amino acid identity(%)			
FM	***	81.2	81.1	82.9
HG5/82	79.8	***	99.8	94.3
GPV-YG	79.7	99.9	***	94.3
B	81.5	93.6	93.7	***
Nucleotide identity(%)				

### 2.3 主要结构蛋白基因 VP3 序列分析

将 HG5/82 主要结构基因 *vp3* 序列与参考毒

株的相应序列进行比较, HG5/82 与国内分离株 GPV-YG 同源性最高,与 B 同源性相对较低。将 HG5/82 *vp3* 基因的 142nt ~ 681nt 与 GPV 参考毒株的相应序列进行比较,核苷酸序列同源性在 93.3% ~ 99.8% 之间,所推导的氨基酸序列同源性在 97.8% ~ 99.4% 之间。就仅有的毒株序列分析发现, HG5/82 与国内毒株的同源性比与国外毒株同源性高。禽细小病毒中, GPV 之间同源性比 GPV 与 MDPV 之间同源性高,见表 4 和 5。系统发育进化树见图 1 和 2。

表 4 HG5/82 与参考毒株 *vp3* 基因同源性分析

Table 4 Homology analysis of HG5/82 *VP3* gene

	FM	89384/ France	HG5/82	H1	GPV- YG	SYG99-5	B
	Amino acid identity(%)						
FM	***	99.4	89.5	90.3	89.3	88.2	90.4
France	99.7	***	90.1	90.8	89.9	88.8	91.0
HG5/82	80.2	80.4	***	96.4	99.8	97.0	97.0
H1	81.2	81.4	93.2	***	96.3	95.5	98.3
GPV-YG	80.1	80.3	99.9	93.2	***	96.8	96.8
SYG99-5	78.2	78.4	92.2	92.1	92.2	***	96.4
B	81.9	82.1	93.8	98.5	93.8	92.9	***
Nucleotide identity(%)							

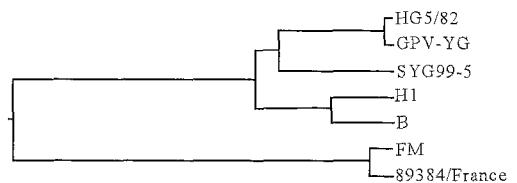


图 1 HG5/82 *vp3* 基因与参考毒株进化树分析

Fig. 1 Phylogenetic tree analysis of *VP3* gene between HG5/82 and reference strains

表 5 HG5/82 部分 *vp3* 基因与参考毒株同源性分析

Table 5 Homology analysis of partial *VP3* gene

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	Amino acid identity(%)												
1	***	98.9	92.7	93.3	92.2	91.6	93.3	93.3	93.3	93.3	93.3	92.2	92.7
2	99.6	***	93.9	94.4	93.3	92.7	94.4	94.4	94.4	94.4	94.4	93.3	93.9
3	83.1	83.4	***	99.4	99.4	97.8	99.4	99.4	99.4	99.4	99.4	98.3	98.9
4	84.2	84.5	94.4	***	98.9	98.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	98.9	99.4
5	82.8	83.2	99.8	94.6	***	98.3	98.9	98.9	98.9	98.9	98.9	97.8	99.4
6	83.4	83.8	96.3	97.0	96.5	***	98.3	98.3	98.3	98.3	98.3	97.2	98.9
7	83.6	84.0	95.9	96.3	95.7	98.1	***	100.0	100.0	100.0	100.0	98.9	99.4
8	83.6	84.0	95.9	96.3	95.7	98.1	100.0	***	100.0	100.0	100.0	98.9	99.4
9	84.5	84.9	93.3	97.2	93.5	95.7	95.3	95.3	***	100.0	100.0	98.9	99.4
10	84.9	85.3	93.5	97.8	93.7	96.3	96.3	96.3	99.1	***	100.0	98.9	99.4
11	83.8	84.1	95.7	96.1	95.5	98.0	99.8	99.8	95.2	96.1	***	98.9	99.4
12	83.4	83.8	95.3	95.7	95.1	97.6	99.4	99.4	94.8	95.7	99.6	***	98.3
13	84.7	85.1	95.0	99.1	95.1	97.6	96.8	96.8	97.8	98.3	96.6	96.3	***
Nucleotide identity(%)													

Strains: 1, FM; 2, France; 3, HG5/82; 4, H1; 5, GPV-YG; 6, SYG99-5; 7, 82-38; 8, 82-322; 9, 83-24; 10, 92-217; 11, 99-1218; 12, 99-1222; 13, B

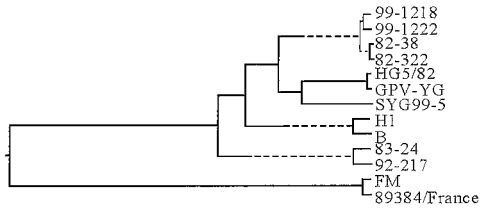


图2 HG5/82 部分  $vp3$  基因与参考毒株进化树分析

Fig.2 Phylogenetic tree analysis of partial  $VP3$  gene between HG5/82 and reference strains

### 3 讨论

1995年,Brown等<sup>[3]</sup>首先发表了GPV基因组的3434个核苷酸序列,这一区域包括GPV的非结构蛋白和结构蛋白的部分编码区。随后Zadoni等<sup>[11]</sup>报道了GPV B株和MDPV FM株的全部基因组序列。国内还未见对GPV全序列研究的报道。本研究对HG5/82株 $ns$ 和 $vp$ 基因进行克隆,发现其两个非结构基因: $NS1$ 和 $NS2$ 大小分别为1884bp和1356bp,分别编码627和451个氨基酸。与国内外已发表的参考毒株对应序列比较发现,HG5/82与国外分离株B株的 $ns$ 基因有108个核苷酸发生变化,其中17个核苷酸的有义突变导致14个氨基酸发生变化。与国内分离株GPV-YG相比,仅有两个氨基酸发生变化。根据Legrand<sup>[12]</sup>和Smith<sup>[13]</sup>对小鼠细小病毒(Minute Virus of Mouse, MVM)和腺联病毒二型(Adeno-Associate virus 2, AAV-2)的研究结果推测,GPV NS1蛋白可能参与病毒对细胞的毒性作用、病毒复制及基因表达。NS2蛋白对细胞毒性作用很小,它能促进NS1蛋白对细胞的毒性作用。NS2蛋白还可能与病毒DNA和蛋白有效合成以及病毒增殖有关<sup>[8]</sup>。现已证明NS1蛋白具有与ATP结合、ATPase活性、解旋酶活性<sup>[14]</sup>等功能。本研究结果进一步表明:GPV不同毒株间的NS蛋白具有很高的同源性,由此推测这可能与GPV复制、转录调节及病毒粒子包装的稳定性有关。

本研究对GPV国内分离株HG5/82的免疫原性基因进行序列分析:三个结构基因 $vp1$ 、 $vp2$ 、 $vp3$ ,其大小分别为2199bp、1764bp和1605bp,分别编码732、587、534个氨基酸。推测三个结构蛋白的分子量分别为81466.44Da、65303.42Da和60040.88Da。将所得结构基因及推导的氨基酸序列,与国内外已发表参考毒株的结构基因 $vp1$ 进行分析比较,发现HG5/82株结构基因与B和GPV-YG对应区域间同源性分别为93.6%和99.9%,所推导氨基酸序列同源性分别为94.3%和99.8%。

与国内分离株GPV-YG相比,HG5/82株的结构基因仅三个碱基发生变异,导致两个氨基酸变异。与国外GPV-B对应区比较发现有140个碱基发生变异,其中32个碱基的有义突变导致28个氨基酸发生变异,主要集中在24~50和521~580位氨基酸之间。由此可见,GPV国内分离株间结构基因的变异小,而与国外分离株间变异程度相对较大。据报道,近年来,小鹅瘟的发病日龄有所增大,超过1月龄的占14.3%<sup>[15]</sup>,这可能是由于GPV毒力增强或病毒变异所致。目前GPV只有一个血清型,这些氨基酸的变异是否会引引起结构蛋白空间构象的改变,影响GPV的致病力而最终导致新的血清型的产生目前尚不清楚。

本研究还将HG5/82株 $vp3$ 基因与参考毒株进行序列比较,发现HG5/82与国内分离株GPV-YG同源性最高,与国外分离株B同源性较低,此现象与 $vp1$ 基因比较结果表现出一致性,据仅有的毒株基因信息分析可见,GPV中国国内毒株间的同源性比与国外毒株高。这一现象是否表明中国流行株来源相同,还是近年来所用疫苗株的变异所致还有待进一步研究。将HG5/82 $VP3$ 基因的142nt~681nt与台湾学者Chang<sup>[2]</sup>报道的6株台湾分离株及其它6株参考毒株的对应序列进行比较,其核苷酸同源性在93.3%~99.8%之间,氨基酸同源性在97.8%~99.4%之间,其中HG5/82株与中国分离株GPV-YG的核苷酸同源性最高。另外,不同毒株间 $vp3$ 基因与 $vp3$ 部分基因片段的系统发育进化树分析也表明,中国分离株之间亲缘关系近。

鹅细小病毒与番鸭细小病毒(Muscovy Duck Parvovirus, MDPV)在病毒大小、形态结构、理化特性、免疫学特性及基因组等方面极为相似<sup>[16,17]</sup>,据报道,GPV B株与MDPV FM株的核苷酸同源性为81.9%<sup>[16]</sup>。有人曾认为MDPV是GPV的变异株,但进一步研究发现两者在宿主感染范围和抗原性上存在着差异<sup>[18]</sup>。我们将GPV HG5/82株 $ns$ 基因与MDPV的 $ns$ 基因进行序列比较,结果表明:核苷酸同源性为81%,氨基酸同源性为89%,有65个氨基酸发生变化,主要集中在NS蛋白的羧基端。比较发现,HG5/82与MDPV FM非结构蛋白NS的糖基化位点位置相同,并且高度保守。同时,在GPV HG5/82株和MDPV NS蛋白中存在着其它细小病毒NS中已知功能保守的区域GPA TT-GKT<sup>[11]</sup>,目前认为此保守序列是ATPase相关酶的ATP结合部位,具有DNA解旋活性,起始病毒DNA的复制<sup>[19]</sup>。该区域位于GPV与MDPV NS

基因的位置也相同。

据程由铨等<sup>[20]</sup>报道 GPV 和 MDPV 在血清学检测时不发生交叉反应,说明 GPV 和 MDPV 在抗原性上存在差异。因此,研究 GPV 和 MDPV 的结构基因及所推导的氨基酸序列的差异,可为进一步研究两者宿主感染范围和抗原性差异提供基础。将 HG5/82 与国外发表的 MDPV FM 株的结构基因进行比较,其核苷酸及氨基酸序列同源性分别为 80%和 85%。其中有 102 个氨基酸发生变异,主要集中在 VP2 和 VP3 起始密码子之间的 146-198 位氨基酸。GPV VP2 起始密码子为不典型的 ACG,而 MDPV VP2 的起始密码子为典型的 ATG。序列比较中发现,GPV 结构基因中的 4 个糖基化位点有三个与 MDPV 相同,而位于结构基因 700-702 位的 NFS 在 MDPV 中变为 NFG。MDPV 结构基因共有 6 个糖基化位点,位于三个结构基因的共同区。GPV 与 MDPV 氨基酸序列在 440-530 位变化较大,其中 GPV 结构基因在 443-445 位为 NFN,而 MDPV 在此为糖基化位点 NFS; GPV 在 493-495 位为 NWN,而 MDPV 为 NWS。糖基化位点与病毒和宿主细胞的吸附有关,是病毒感染宿主的必需区,因此推测这些糖基化位点的差异可能与病毒感染宿主的特异性有关。由 *vp3* 基因及 *vp3* 部分基因片段系统发育进化树可见 GPV 与 MDPV 分为两支,从现有的遗传信息推测 GPV 与 MDPV 间存在一定的亲缘关系,可能二者来源于共同的祖先。

## 参考文献

- [1] Gough R E. Persistence of parvovirus antibody in goose that have survived Derzsy's disease[J]. *Avian Pathology*, 1987, 16:327-330.
- [2] Change P C, Shien J H, Wang M S, *et al.* Phylogenetic analysis of parvovirus isolated in Taiwan from ducks and geese[J]. *Avian Pathology*, 2000, 29:45-49.
- [3] Brown K E, Green S W. Goose parvovirus-An autonomous member of the dependovirus genus [J]. *Virology*, 1995, 210:283-291.
- [4] Takehara K, Nakata T, Takizawa K, *et al.* Expression of goose parvovirus VP1 capsid protein by a baculovirus expression system and establishment of fluorescent antibody test to diagnose goose parvovirus infection[J]. *Arch Virol*, 1999, 144:1 639-1 645.
- [5] 徐建生,李俊宝,董国雄.小鹅瘟单抗的防治效果[J].*中国预防兽医学报*,1997,5:17-19.
- [6] Kisary J. Cross-neutralization tests on parvoviruses isolated from goslings[J]. *Avian Pathology*, 1974, 3:293-296.
- [7] Cotmore S F, Christensen J, Nuesch J P F, *et al.* The NS1 polypeptide of murine parvovirus minute virus of mice to DNA sequences containing the motif [ACCA]2-3 [J]. *J Virol*, 1995, 69:1 652-1 660.
- [8] Young N S. Parvoviruses[A]. In: *Fields Virology*[M], 3rd, Lippincott-Raven publishers. 1996, 2:199-220.
- [9] 李桂霞,刘胜旺,孔宪刚,等.鹅细小病毒 HG5/82 株的分离鉴定及生物学特性的研究[J].*中国预防兽医学报*,2004,已接受.
- [10] 萨姆布鲁克 J, 弗里奇 E F, 曼尼阿蒂斯 T, 等. *分子克隆实验指南*[M]. 第二版, 金冬雁, 黎孟枫, 侯云德, 译. 北京: 科学出版社, 1992, 19-22.
- [11] Zadori Z, Stefancsik R, Rauch T, *et al.* Analysis of the complete nucleotide sequences of goose and muscovy duck parvoviruses indicates common ancestral origin with adeno-associated virus 2[J]. *Virology*, 1995, 212(2):562-573.
- [12] Legendre D, Rommelaere J. Cooperation of oncogenes in cell transformation and sensitization to killing by the parvovirus of minute virus of mice[J]. *J Gen Virol*, 1992, 72:2 003-2 009.
- [13] Smith D H, Wand P, Linden R M. Comparative characterization of REP proteins from the helper-dependent adeno-associated virus type 2 and the autonomous goose parvovirus[J]. *J Virol*, 1999, 73(4):2 930-2 937.
- [14] Pujol A, Deleu L, Nuesch J P, *et al.* Inhibition of parvovirus Minute Virus of Mice replication by a peptide involved in the oligomerization of nonstructural protein NS1 [J]. *J Virol*, 1997, 71:7 393-7 403.
- [15] 周 斌, 苗晋锋. 苏州地区小鹅瘟的诊断分析和防治对策[J]. *中国家禽*, 2001, 23(16):25-26.
- [16] Zadori Z, Erdei J, Nagy J. Characteristics of the genome of goose parvovirus[J]. *Avian Pathology*, 1994, 23:359-364.
- [17] Gall-Recule G L, Jestin V. Biochemical and genomic characterization of muscovy duck parvovirus[J]. *Arch Virol*, 1994, 139:121-131.
- [18] 王明俊, 等. *兽医生物制品学*[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997. 671-674.
- [19] Gough R E, Spackman D, Collins M S. Isolation and characterization of a parvovirus from goslings[J]. *Vet Rec*, 1981, 101:399-400.
- [20] 程由铨, 林天龙, 胡奇林, 等. 番鸭细小病毒的病毒分离与鉴定[J]. *病毒学报*, 1993, 9(3):228-231.