

# H9N2 亚型禽流感病毒复制特性的基因分析

石火英, 孙蕾, 陈素娟, 卢建红, 刘秀梵\*

(扬州大学兽医学院 农业部畜禽传染病学重点开放实验室, 扬州 225009)

**摘要:** 利用反向遗传技术, 通过基因重排方法, 以 A/Chicken/Shanghai/F/98 (H9N2) 禽流感病毒 (Avian influenza virus, AIV) 的 6 个内部基因为骨架, 与 A/Chicken/Guangdong/SS/94 (H9N2) AIV 的 HA 和 NA 基因组合, 产生 3 株 H9N2 亚型重排 AIVs。动物试验发现 A/Chicken/Shanghai/F/98 (H9N2) 和 A/Chicken/Guangdong/SS/94 (H9N2) AIV 主要在呼吸系统复制, A/Chicken/Shanghai/F/98 (H9N2) 株在气管和肺组织的复制能力明显强于 A/Chicken/Guangdong/SS/94 (H9N2) AIV 株。3 株 H9N2 亚型重排 AIVs 的动物试验发现 HA 和 NA 基因对 H9N2 亚型 AIV 在呼吸道的复制特性起主要作用。内部基因对 H9N2 亚型 AIV 在呼吸道的复制也有一定的作用。结果表明 1994 年中国首次分离到的 H9N2 亚型 AIV 经过 4 年的宿主适应和基因进化, 加强了其在呼吸系统的复制能力, 奠定了气溶胶传播的基础。

**关键词:** 禽流感病毒; H9N2 亚型; 复制特性; 反向遗传技术; HA 基因; NA 基因

中图分类号: S852.65<sup>+</sup>.9.5

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2008)02-0189-06

## Analysis of Genes Affecting the Replication Property of H9N2 Avian Influenza A Viruses

SHI Huo-ying, SUN Lei, CHEN Su-juan, LU Jian-hong, LIU Xiu-fan\*

(Key Laboratory of Animal Infectious Diseases of Ministry of Agriculture, College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

**Abstract:** To explore the replicating feature of H9 avian influenza virus (AIV) in chickens, A/Chicken/Guangdong/SS/94(H9N2) (SS) strain, which representing the earlier strain isolated in chickens in Guangdong province in 1994, and A/Chicken/Shanghai/F/98 (H9N2) (F) strain, which was isolated in Shanghai during 1998 pandemic period, were selected as represent strains in this research. Three recombinants were constructed based on 6 genes from F strain and HA, NA genes from SS strain by reverse genetic technique. RF7/SSHA virus was composed of the HA gene from SS strain and the remaining seven genes from F strain, RF7/SSNA virus was composed of the NA gene derived from SS strain and the remaining seven genes from F strain, and RF6/SSHA/SSNA virus was composed of the HA and NA genes of SS strain and the remaining 6 genes from F strain. Then the replicating property of the five H9N2 viruses were compared in SPF chickens. Groups of three 4-week old SPF chickens were inoculated with the AIVs by oral, tracheal and nasal routes. Virus replication was monitored 3 days after inoculation. Virus load in terms of ELD<sub>50</sub>/EID<sub>50</sub> in trachea, lung and intestine were assayed 3 days after inoculation. The results showed that the replicating property of H9N2 subtype AIVs in chickens are determined by HA and NA genes mainly, and also related to internal genes. After 4 year's adaption and gene evolution, F strain isolated in 1998 have stronger replication ability than earlier AIV strain in re-

收稿日期: 2007-04-17

基金项目: 江苏省属高校重大基础研究项目资助 (05KJA23016); 国家自然科学基金项目资助 (30670079)

作者简介: 石火英 (1963-), 江苏丹阳人, 副教授, 博士, 研究方向为分子病毒学, Tel: 86-514-7979274, E-mail: hyshi@yzu.edu.cn

\* 通讯作者: 刘秀梵, Tel: 86-514-7971416, Fax: 86-514-7323112, E-mail: xfliu@mail.yzu.edu.cn

spiratory system, which lay the foundation of aerosol infection.

**Key words:** avian influenza virus; H9N2 subtype; replicating property; reverse genetic technique; HA gene; NA gene

人们在 1975—1985 年对香港活禽市场的禽类进行了长期的流感监测,从外表健康的鸭体内分离到了 H9N2 亚型 AIV,但没有在鸡体内发现 H9N2 亚型 AIV<sup>[1]</sup>。1994 年我国首次报道在广东地区由 H9N2 亚型 AIV 引起鸡的禽流感,随后数年在部分地区的小范围内发生,未造成严重后果。但是 1998 年始发于河北省地区的 H9 亚型禽流感来势凶猛,在几个月的时间内即扩展到包括我国主要养禽地区的 20 多个省、市、自治区,造成了巨大损失。流行病学资料显示 1998 年前后流行的毒株是从类 A/Chicken/Beijing/94 (H9N2) 进化而来<sup>[2-4]</sup>。鉴于我国 H9N2 亚型禽流感流行的特点,有必要了解我国最早发生和形成大流行时期的 H9N2 亚型 AIV 的致病性和复制特性的差异。因此笔者选择我国大陆地区最早分离的 A/Chicken/Guangdong/SS/94 (H9N2) 株和 1998 年大流行时期分离于上海某鸡场的 A/Chicken/Shanghai/F/98 (H9N2) 株为研究对象,对其在 SPF 鸡体内的复制特性作了系统地比较,并利用反向遗传技术,通过基因重排的方法,以 A/Chicken/Shanghai/F/98 (H9N2) 株的 6 个内部基因为骨架,与 A/Chicken/Guangdong/SS/94 (H9N2) AIV 的 HA 和 NA 基因重组,产生 3 株 H9N2 亚型重排 AIVs,探讨中国大陆 H9N2 亚型 AIV 在鸡体内复制特性与基因进化的关系,了解 AIV 传播途径的分子机制,为有效控制流感的流行提供有力的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 病毒和细胞 病毒 A/Chicken/Shanghai/F/98 (H9N2) 株 AIV,缩写为 F 株,由扬州大学农业部畜禽传染病学重点开放实验室分离纯化,经国家流感中心鉴定为 H9N2 亚型<sup>[3]</sup>,全基因序列提交于 GenBank,登录号为 AY253750-AY253756<sup>[4]</sup>。病毒 A/Chicken/Guangdong/SS/94 (H9N2) AIV<sup>[5]</sup>,缩写为 SS 株,由华南农业大学辛朝安教授惠赠。细胞系 COS-1 细胞用含有 10% 犊牛血清的 DMEM 培养。

1.1.2 SPF 鸡胚、SPF 鸡、非免疫鸡胚和血清

SPF 鸡胚种蛋购自山东省 SPF 鸡实验种鸡场,非免疫鸡胚由扬州大学实验动物中心提供。SPF 鸡在本实验室严格隔离条件下孵化,饲养至 4 周龄。1% 鸡红细胞按常规方法自行制备。H9 亚型 AIV 血清和犊牛血清为自制。

1.1.3 试剂 Expand High Fidelity PCR System、dNTPs 和 Agrose Gel DNA Extraction Kit 购自 Roche 公司;AMV 反转录酶、T4 DNA 连接酶和 pGEM-T easy vector 购自 Promega 公司;Lipofectin Reagent 转染试剂购自 Invitrogen 公司;小提质粒试剂盒购自 QIAGEN 公司;DMEM 和胰酶为美国 Sigma 公司产品。

1.1.4 8 质粒病毒拯救系统 pHW2000 和转录/表达载体质粒的构建 8 质粒病毒拯救系统由美国 St. Jude 儿童研究医院的 Robert Webster 博士惠赠<sup>[6]</sup>;在 8 质粒病毒拯救系统 pHW2000 中,插入 F 株的 PB2、PB1、PA、HA、NP、NA、M 和 NS 基因构建 8 个质粒,分别称为 pHW201-PB2、pHW202-PB1、pHW203-PA、pHW204-HA、pHW205-NP、pHW206-NA、pHW207-M 和 pHW208-NS<sup>[7]</sup>;在 8 质粒病毒拯救系统 pHW2000 中,插入 SS 株 HA 和 NA 基因,构建的 2 个质粒分别称为 pHWSS04-HA 和 pHWSS06-NA。

### 1.2 F 株和 SS 株病毒的准备

将 F 株和 SS 株尿囊液的冻干粉用灭菌的 PBS 稀释 1 000 倍,接种同一批 SPF 鸡胚,每胚接种 0.2 mL,收取 70~90 h 死亡鸡胚的尿囊液;混匀后再取其尿囊液稀释 1 000 倍各自接种 10 个 SPF 鸡胚,每胚接种 0.2 mL,收取 70~90 h 死亡鸡胚的尿囊液混匀后,测其血凝效价、按每管 0.5 mL 分装于 1 mL 灭菌指形管中,置 -70℃ 存放备用。

### 1.3 F 株和 SS 株在 4 周龄 SPF 鸡气管、肺和肠道组织中复制能力的比较

试验设计见表 1。9 只 4 周龄的 SPF 鸡分成 3 组,分别为 F 组、SS 组和健康对照组,每组 3 只;用灭菌 PBS 稀释 F 株和 SS 株的尿囊液,接种病毒含量为  $10^7$  EID<sub>50</sub>;F 组接种 F 株,SS 组接种 SS 株,通过气管、口腔和滴鼻途径每只共计接种 0.2 mL,健康对照组接种灭菌 PBS 0.2 mL。接种后第 3 天扑

杀接种组的 3 只鸡, 同样组织等量无菌取其气管、肺和肠道(从小肠到直肠)研磨成匀浆并离心, 分别用 1、1 和 3 mL 双抗灭菌的 PBS 溶解气管、肺和肠道组织, 其溶解产物作为  $10^{-1}$  稀释浓度, 离心取上清经尿囊腔接种非免疫鸡胚, 35 °C 孵育, 每隔 12 h 照

胚 1 次, 弃去 24 h 内死亡的鸡胚, 5 d 后收取鸡胚尿囊液测其血凝效价, 按 Reed-Muench 公式计算 F 株和 SS 株接种后 3 d 的气管、肺和肠道组织内病毒的  $EID_{50}$ 。

表 1 F 株和 SS 株在 SPF 鸡气管、肺和肠道组织中复制能力试验设计 (n=3)  
Table 1 Project for comparison of replication efficiency of F and SS in SPF chickens (n=3)

分组 Groups	接种病毒 Viruses	接种途径 Route of inoculation	接种剂量 Dose	取样组织 Samples
F	F strain	Trachea; Oral; Nasal	$10^7 EID_{50}$	Trachea; Lung; Intestines
SS	SS strain	Trachea; Oral; Nasal	$10^7 EID_{50}$	Trachea; Lung; Intestines
Control	PBS	Trachea; Oral; Nasal	0.2 mL	Trachea; Lung; Intestines

#### 1.4 病毒基因重排组合

1.4.1 F7/SSHA 7+1 质粒组合 把 F 株 7 个基因的相应质粒 (pHW201-PB2、pHW202-PB1、pHW203-PA、pHW205-NP、pHW206-NA、pHW207-M、pHW208-NS) 与 SS 株的 HA 基因 (pHWSS04-HA) 质粒组合, 预期产生 1 个 H9N2 亚型的重组病毒, 命名为 RF7/SSHA。

1.4.2 F7/SSNA 7+1 质粒组合 把 F 株 7 个基因的相应质粒 (pHW201-PB2、pHW202-PB1、pHW203-PA、pHW204-HA、pHW205-NP、pHW207-M、pHW208-NS) 与 SS 株的 NA 基因 (pHWSS06-NA) 质粒组合, 预期产生 1 个 H9N2 亚型的重组病毒, 命名为 RF7/SSNA。

1.4.3 F6/SSHA/SSNA 6+2 质粒组合 把 F 株 6 个基因的相应质粒 (pHW201-PB2、pHW202-PB1、pHW203-PA、pHW205-NP、pHW207-M、pHW208-NS) 与 SS 株的 HA 基因 (pHWSS04-HA)、NA 基因 (pHWSS06-NA) 的质粒组合, 预期产生 1 个 H9N2 亚型的重排病毒, 命名为 RF6/SSHA/SSNA。

#### 1.5 转染质粒的准备和共转染

将 F 株 8 个基因的质粒 (pHW201-PB2、pHW202-PB1、pHW203-PA、pHW204-HA、pHW205-NP、pHW206-NA、pHW207-M 和 pHW208-NS) 和 SS 株的 HA 和 NA 基因质粒 pHWSS04-HA 和 pHWSS06-NA 扩大培养, 按照 1.4 的设计进行病毒拯救。将混合的质粒和转染试剂加入 COS-1 细胞中, 置 37 °C、含 5%  $CO_2$  培养箱中培养 24 h 收取转染细胞接种 10 日龄 SPF 鸡胚; 培养 48 h 后再取尿囊液接种 10 日龄 SPF 鸡胚, 每天观察鸡胚死亡情况, 适时收集鸡胚尿囊液进行病毒鉴定。同时设对照转染孔, 不加转染试剂和质粒, 其它同上<sup>[6]</sup>。

#### 1.6 3 株重组病毒在 4 周龄 SPF 鸡气管和肺组织中的复制能力

试验设计与 1.3 类似, 详见表 2。12 只 4 周龄的 SPF 鸡分成 4 组, 分别为 F7/SSHA 组、F7/SSNA 组、F6/SSHA/SSNA 和健康对照组 (Control), 每组 3 只; 用灭菌 PBS 稀释病毒的尿囊液, 接种病毒含量为  $10^7 EID_{50}$ ; 接种后第 3 天扑杀接种组

表 2 3 株重组病毒在 SPF 鸡气管和肺组织中复制能力试验设计 (n=3)  
Table 2 Project for comparison of replication efficiency of three recombinants in SPF chickens (n=3)

分组 Groups	接种病毒 Viruses	接种途径 Route of inoculation	接种剂量 Dose	取样组织 Samples
F7/SSHA	RF7/SSHA	Trachea; Oral; Nasal	$10^7 EID_{50}$	Trachea; Lung
F7/SSNA	RF7/SSNA	Trachea; Oral; Nasal	$10^7 EID_{50}$	Trachea; Lung
F6/SSHA/SSNA	RF6/SSHA/SSNA	Trachea; Oral; Nasal	$10^7 EID_{50}$	Trachea; Lung
Control	PBS	Trachea; Oral; Nasal	0.2 mL	Trachea; Lung

的 3 只鸡,同样组织等量无菌取其气管和肺研磨成匀浆并离心,分别用 1 和 3 mL 双抗灭菌的 PBS 溶解气管和肺组织,其溶解产物作为  $10^{-1}$  稀释浓度,离心取上清经尿囊腔接种非免疫鸡胚,35℃ 孵育,每隔 12 h 照胚 1 次,弃去 24 h 内死亡的鸡胚,5 d 后收取鸡胚尿囊液测其血凝效价,按 Reed-Muench 公式计算 F7/SSHA 株、F7/SSNA 株和 F6/SSHA/SSNA 株

接种后 3 d 的气管和肺组织内病毒的 EID<sub>50</sub>。

## 2 结果

### 2.1 F 株、SS 株和 3 株 H9N2 亚型重排 AIVs 在体外的生长特性

F 株、SS 株和 3 株 H9N2 亚型重排病毒的半数致死量、半数感染量和血凝效价见表 3。

表 3 5 株 H9N2 禽流感病毒在体外的生长特性

Table 3 Growth property of five H9N2 avian influenza viruses *in vitro*

病毒株 Viruses	病毒半数致死量 Log <sub>10</sub> ELD <sub>50</sub> /0.2 mL	病毒半数感染量 Log <sub>10</sub> EID <sub>50</sub> /0.2 mL	血凝效价 HA titers(2 <sup>n</sup> )
F strain	8.0	11.0	1 024~2 048
SS strain	8.0	10.17	128~256
RF7/SSHA	8.0	8.75	128~256
RF7/SSNA	7.0	8.75	512~1 024
RF6/SSHA/SSNA	8.0	9.25	512~1 024

### 2.2 F 株和 SS 株在 SPF 鸡气管、肺和消化道组织中的复制特性

4 周龄 SPF 鸡接种后 3 d,测得 F 株接种鸡的 3 个气管和肺组织中病毒 log<sub>10</sub>EID<sub>50</sub>/0.2 mL 分别是 5.75、7.5、6.5,其平均 log<sub>10</sub>EID<sub>50</sub>/0.2 mL 是 6.58±0.58;SS 株接种鸡的 3 个气管组织中病毒的 log<sub>10</sub>EID<sub>50</sub>/0.2mL 分别是 5.5、4.5、2.0,其平均 log<sub>10</sub>EID<sub>50</sub>/0.2mL 是 4.0±0.83,SS 株接种鸡的 3 个肺组织中病毒的 log<sub>10</sub>EID<sub>50</sub>/0.2mL 分别是 3.0、2.5、2.0,其平均 log<sub>10</sub>EID<sub>50</sub>/0.2 mL 是 2.5±0.33(表 4)。健康对照组没有分离到病毒。

F 组和 SS 组鸡消化道只能偶尔在个别样品中分离到病毒,没有达到统计的要求,因此无法计算消

化道的 EID<sub>50</sub>。F 株和 SS 株在 SPF 鸡消化道组织中病毒 EID<sub>50</sub>测定中鸡胚感染数见表 5。

### 2.3 3 株重组病毒接种 4 周龄 SPF 鸡气管和肺组织中病毒的 EID<sub>50</sub>

4 周龄 SPF 鸡接种 3 株重组病毒后 3 d,测得 RF6/SSHA/SSNA 株接种鸡在气管和肺组织中病毒的平均 log<sub>10</sub>EID<sub>50</sub>/0.2 mL 分别是 3.91±0.87、1.83±0.50;测得 RF7/SSNA 株接种鸡在气管和肺组织中病毒的平均 log<sub>10</sub>EID<sub>50</sub>/0.2 mL 分别是 3.58±0.75、3.08±0.83;测得 RF7/SSHA 株接种鸡在气管和肺组织中病毒的平均 log<sub>10</sub>EID<sub>50</sub>/0.2mL 分别是 3.41±0.58、3.41±0.83(表 4)。

表 4 5 株 H9N2 禽流感病毒在 4 周龄 SPF 鸡气管和肺组织中病毒的 EID<sub>50</sub>

Table 4 EID<sub>50</sub> of trachea and lung tissues at 3 day after inoculation with 5 H9N2 avian influenza viruses (log<sub>10</sub>EID<sub>50</sub>/0.2 mL)

分组 Groups	鸡 1		鸡 2		鸡 3		平均 EID <sub>50</sub>	
	Sample 1		Sample 2		Sample 3		Mean EID <sub>50</sub>	
	Trachea	Lung	Trachea	Lung	Trachea	Lung	Trachea	Lung
F strain	5.75	5.75	7.5	7.5	6.5	6.5	6.58±0.58	6.58±0.58
SS strain	5.5	3.0	4.5	2.5	2.0	2.0	4.00±0.83	2.50±0.33
RF7/SSHA	5.5	2.5	4.0	2.0	2.25	<1.0	3.91±0.87	1.83±0.50
RF7/SSNA	6.5	4.5	1.75	2.75	2.5	2.0	3.58±0.75	3.08±0.83
RF6/SSHA/SSNA	3.25	4.25	2.0	4.25	5.0	1.75	3.41±0.58	3.41±0.83

表 5 接种后 3 d F 株和 SS 株在 SPF 鸡消化道组织中病毒 EID<sub>50</sub> 测定中鸡胚感染数 (n=4)Table 5 Infection numbers of chicken embryos for intestines tissues at 3 day after inoculation with F or SS in ELD<sub>50</sub>/EID<sub>50</sub> test (n=4)

稀释度 Dilutions	F 组 F group			SS 组 SS group		
	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 1	Sample 2	Sample 3
10 <sup>-1</sup>	1/4	3/4	0	3/4	3/4	0
10 <sup>-2</sup>	0	1/4	0	3/4	1/4	0
10 <sup>-3</sup>	0	0	0	2/4	0	0
10 <sup>-4</sup>	0	0	0	1/4	0	0
10 <sup>-5</sup>	0	0	0	0	0	0

### 3 讨论

我国自 1994 年首次报道从鸡群中分离到 H9 亚型 AIV (Avian influenza virus, AIV) 以来<sup>[1]</sup>, 目前许多省都有 H9 亚型 AI 的流行, 给我国的养禽业造成了巨大的经济损失。郭元吉等<sup>[2]</sup> 比较了 3 个 H9N2 亚型代表株对鸭、鸡、猪和小鼠的致病性和病毒在体内的复制能力, 认为类 A/Chicken/Beijing/94 (H9N2) 等 H9N2 亚型 AIV 的主要传播途径是气溶胶呼吸性传播, 具有很高的传播效率。对 A/Chicken/Guangdong/SS/94 (H9N2) 和 A/Chicken/Shanghai/F/98 (H9N2) 的表面基因 HA 和 NA 的遗传进化分析结果显示, 2 株病毒都属于类 A/Chicken/Beijing/94 (H9N2)<sup>[4]</sup>。本研究首先比较了这 2 个毒株在 SPF 鸡体内的复制特性, 发现 A/Chicken/Shanghai/F/98 (H9N2) 在气管和肺组织中的复制能力都很强, 都达到 (6.58 ± 0.58) log<sub>10</sub> EID<sub>50</sub>/0.2 mL, 而 A/Chicken/Guangdong/SS/94 (H9N2) 的复制能力在气管中要强于在肺组织中, 分别是 (4.00 ± 0.83) log<sub>10</sub> EID<sub>50</sub>/0.2 mL 和 (2.50 ± 0.33) log<sub>10</sub> EID<sub>50</sub>/0.2 mL。2 株病毒在肠道中的复制能力都不强, 只是偶尔分离到病毒。显然 2 株病毒主要在呼吸系统复制, A/Chicken/Shanghai/F/98 (H9N2) 在气管和肺中的复制能力明显要强于 A/Chicken/Guangdong/SS/94 (H9N2), 即 1994 年中国首次分离到的 H9N2 亚型 AIV 经过 4 年的宿主适应和基因进化, 加强了其在呼吸系统的复制能力, 奠定了气溶胶传播的基础。

为研究 A/Chicken/Guangdong/SS/94 (H9N2) 和 A/Chicken/Shanghai/F/98 (H9N2) 复制特性差异的原因, 从分子水平上探讨中国大陆 1998 年 H9N2 亚型禽流感病毒获得气溶胶传播特性的机

制, 本研究利用反向遗传技术, 通过基因重组, 以 A/Chicken/Shanghai/F/98 (H9N2) 禽流感病毒 (avian influenza virus, AIV) 的 6 个内部基因为骨架, 与 A/Chicken/Guangdong/SS/94 (H9N2) AIV 的 HA 和 NA 基因组合, 产生 3 株 H9N2 亚型重排 AIVs。经动物试验发现, 以 A/Chicken/Shanghai/F/98 (H9N2) 为内部基因骨架, 当替换为 A/Chicken/Guangdong/SS/94 (H9N2) 的 HA 基因和/或 NA 基因时, 病毒在鸡气管中的复制能力都低于 A/Chicken/Shanghai/F/98 (H9N2) 在鸡气管中的复制能力, 其中 RF7/SSHA 株与 A/Chicken/Guangdong/SS/94 (H9N2) 的复制滴度最接近, 显示 H9N2 亚型 AIV 在鸡气管中的复制能力与病毒的 HA 基因和 NA 基因都有重要关系; RF7/SSHA 在肺组织中的复制滴度最低, RF7/SSNA 和 RF6/SSHA/SSNA 在肺组织中的复制滴度要高于其表面基因的母本病毒株 A/Chicken/Guangdong/SS/94 (H9N2), 低于其内部基因的母本病毒 A/Chicken/Shanghai/F/98 (H9N2), 表明 HA 和 NA 基因对 H9N2 亚型 AIV 在肺组织的复制特性起主要作用。由 RF6/SSHA/SSNA 在肺组织中的复制滴度高于 A/Chicken/Guangdong/SS/94 (H9N2) 的结果可知, 内部基因对 H9N2 亚型 AIV 在呼吸道的复制也有作用。有报道认为肠道是禽流感病毒复制的主要场所, 而人适应流感病毒株是在呼吸道复制, 不在内脏复制<sup>[8]</sup>。中国大陆自 1994 年在鸡中流行 H9N2 亚型禽流感病毒, 仅仅经过 4 年的进化, 其在呼吸系统复制能力得到了明显的提高, 值得人们重视。

### 参考文献:

- [1] SHORTRIDGE K F. Pandemic influenza: A zoonosis [J]. *Semin Respir Infect*, 1992, 7:11-25.

- [2] GUO Y J, KRAUSS S, SENNE D A, et al. Characterization of the pathogenicity of members of the newly established H9N2 influenza virus lineages in Asia [J]. *Virology*, 2000, 267: 279-288.
- [3] LIU H Q, LIU X F, CHENG J, et al. Phylogenetic analysis of the hemagglutinin genes of twenty-six avian influenza viruses of subtype H9N2 isolated from chickens in China during 1996-2001 [J]. *Avian Dis*, 2003, 47: 116-117.
- [4] LU J H, LIU X F, SHAO W X, et al. Phylogenetic analysis of eight genes of H9N2 subtype influenza virus: A mainland China strain possessing early isolates' genes that have been circulating virus genes [J]. *Virus Genes*, 2005, 31: 163-169.
- [5] GUO X, LIAO M, XIN C. Sequence of HA gene of avian influenza A/Chicken/Guangdong/SS/1994 (H9N2) virus [J]. *Avian Dis*, 2003, 47: 118-121.
- [6] HOFFMANN E, NEUMANN G, KAWAOKA Y, et al. A DNA transfection system for generation of influenza A virus from eight plasmids [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2000, 97: 6108-6113.
- [7] HOFFMANN E, STECH J, GUAN Y, et al. Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses [J]. *Arch Virol*, 2001, 146: 2275-2289.
- [8] HINSHAW V S, WEBSTER R G, NAEVE C W, et al. Altered tissue tropism of human-avian reassortant influenza viruses [J]. *Virology*, 1983, 128: 260-263.

## 《畜牧兽医学报》3 篇论文荣获 第五届中国科协期刊优秀学术论文

第五届中国科协期刊优秀学术论文评选活动,经全国学会主办期刊编辑部推荐和作者自荐、学会专家复评、评审委员会终评,评出特别优秀学术论文 8 篇,优秀学术论文 192 篇。中国畜牧兽医学会主办的期刊共有 4 篇文章获优秀学术论文奖,其中《畜牧兽医学报》占 3 篇。在此编辑部向获奖作者表示热烈的祝贺!向多年来关心、支持本刊的所有作者、审稿专家表示衷心的感谢!编辑部期待国内外畜牧兽医领域的专家、科技工作者继续支持学报的发展,将高质量的论文投向本刊,对于评审优秀的文章,编辑部将考虑优先发表。

中国畜牧兽医学会获第五届中国科协期刊优秀学术论文奖的文章为:

闫贵龙,鲁琳,孟庆翔,等. 氮肥追施量对玉米秸秆营养价值的影响. *畜牧兽医学报*, 2006, 37(8): 785-792.

薛峰,顾敏,彭宜,等. H4 亚型家养水禽流感病毒分离株的表面膜蛋白基因的序列测定和遗传进化分析. *畜牧兽医学报*, 2006, 37(12): 1334-1339.

邹丰才,吴绍强,廖申权,等. 应用 cDNA 微阵列芯片技术筛选猪蛔虫性别差异表达基因的研究. *畜牧兽医学报*, 2006, 37(2): 163-167.

孙铁虎,朴香淑,龚利敏,等. 氨基酸络合铁对生长猪生长性能及有关指标的影响. *动物营养学报*, 2006, 18(1): 12-18.

《畜牧兽医学报》编辑部

2008 年 1 月 15 日