

猪带绦虫 AgB 与猪 CD58 或 IFN- γ 共表达质粒的构建及其在 BHK-21 细胞中的表达

侯俊玲, 景志忠, 郑亚东, 胡志敏, 骆学农, 蒙学莲, 窦永喜, 刘军龙, 才学鹏*

(中国农业科学院兰州兽医研究所 家畜疫病病原生物学国家重点实验室

甘肃省动物寄生虫病重点实验室, 兰州 730046)

摘要: 猪囊尾蚴病是一种重要的人畜共患病, 研制有效、安全、廉价的疫苗是当前主要的研究方向之一。本试验通过 PCR 方法, 从含猪囊尾蚴 B 抗原(AgB)、猪 CD58 和猪 IFN- γ 的重组克隆质粒中扩增出 AgB、CD58 和 IFN- γ 基因, 然后将其克隆到真核表达载体 pBudCE4.1 中。重组表达质粒鉴定后, 在脂质体作用下转染 BHK-21 细胞, 通过间接免疫荧光 (IFA) 或直接免疫荧光试验分别检测 AgB、CD58 和 IFN- γ 在 BHK-21 中的表达。结果显示, AgB、CD58 和 IFN- γ 在 BHK-21 细胞中都成功表达, 这为研制抗猪囊尾蚴 DNA 疫苗奠定了坚实基础。

关键词: 猪囊尾蚴; AgB; CD58; IFN- γ ; 转染; BHK-21 细胞

中图分类号: S855.9; Q786

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2007)07-0694-06

Construction of Co-expressing Plasmids of AgB from *Taenia Solium* with Porcine CD58 or IFN- γ Gene and Expression in BHK-21 Cells

HOU Jun-ling, JING Zhi-zhong, ZHENG Ya-dong, HU Zhi-min, LUO Xue-nong, MENG Xue-lian, DOU Yong-xi, LIU Jun-long, CAI Xue-peng*

(Key Laboratory of Veterinary Parasitology of Gansu Province, State Key Laboratory of Veterinary Etiological Biology, Lanzhou Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730046, China)

Abstract: Cysticercosis is an important zoonosis. The development of efficient, safety and cheap vaccines is one of contemporary major directions. In this study, AgB, CD58 and IFN- γ gene were amplified from the former constructed recombinant plasmids named pGEM-TEasy-AgB, pGEM-TEasy-CD58 and pGEM-TEasy-IFN- γ by PCR and cloned into pBudCE4.1. The acquired recombinant plasmids were transfected into BHK-21 cell with liposome. 48 hours after transfection, the expression of AgB, CD58 and IFN- γ were tested by indirect immunofluorescence assay (IFA) or direct immunofluorescence assay. The results showed that AgB, CD58 and IFN- γ were successfully expressed in BHK-21 cells, providing a solid basis for development of DNA vaccine against cysticercosis.

Key words: Cysticercus cellulosae; AgB; CD58; IFN- γ ; transfection; BHK-21 cell

囊虫病 (Cysticercosis) 是由猪带绦虫 (*Taenia solium*) 的幼虫寄生于人或猪等中间宿主引起的人畜共患寄生虫病。该病在世界各地广泛流行, 特别

是在一些不发达、卫生条件差的国家或地区。虽然药物能有效地治疗该病, 但长期使用驱虫药会导致药物残留, 致使肉品质量低劣, 影响人类健康^[1,2]。

收稿日期: 2006-09-26

基金项目: 国家高技术研究发展计划“863”项目 (2006AA10A207)

作者简介: 侯俊玲 (1977-), 女, 四川阆中人, 硕士, 助理研究员, 主要从事寄生虫疫苗研究, E-mail: zhyd9@yahoo.com.cn

* 通讯作者: 才学鹏, E-mail: caixp@public.lz.gs.cn

疫苗接种是防制动物疫病较好的方法,但是由于寄生虫自身的免疫学特点,使得猪囊虫的免疫预防难度很大。

20 世纪发展起来的基因工程新技术为寄生虫疫苗研究带来了希望,许多猪带绦虫基因被克隆或构建基因文库^[3]。目前在猪囊虫众多免疫相关基因中,将猪囊尾蚴 B 抗原(AgB)作为 DNA 疫苗的候选基因是最佳的选择之一。Landa 等首先从猪囊尾蚴蛋白中分离到 AgB,功能分析发现其具有类似黏蛋白的性质,具有干扰补体和诱导机体产生保护性抗体的功能^[4]。才学鹏等^[5]研制的猪囊尾蚴 AgB DNA 疫苗,可诱导猪对猪囊尾蚴的感染产生良好的免疫保护作用。

CD58 又称淋巴细胞功能相关抗原-3(LFA-3),它是存在于人红细胞和绵羊红细胞上 CD2 的天然配体,可介导绵羊红细胞与人 T 细胞形成玫瑰花环。CD2 与 CD58 结合可介导 T 细胞与其它免疫细胞间的黏附作用,非特异性激活 T 细胞,引起淋巴细胞增殖,使 T 细胞表面 IL-2R 表达量上升,对白细胞介素 2(IL-2)的反应性增强,IL-2 及 IFN- γ 分泌量提高,细胞毒效应加强^[6]。因此,CD58 具有作为 DNA 疫苗免疫佐剂的潜力。

IFN- γ 主要是由活化的 T 淋巴细胞和 NK 细胞产生的一种细胞因子,具有广泛的抗病毒、抗细胞内寄生菌及胞内寄生虫、抗肿瘤和免疫调节作用等多种生物学活性。IFN- γ 能增强细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)和 NK 细胞杀伤靶细胞的能力,诱导细胞表达 IL-2 受体,促进 Th0 向 Th1 分化,抑制 Th2 类细胞因子的产生,从而促进 T 细胞增殖,进一步增强细胞免疫应答^[7~9]。因此,以不同类型的细胞因子或共刺激分子为佐剂可以激发 DNA 疫苗朝着不同的免疫方向发展。

本研究旨在探索用 AgB 和 CD58 或 IFN- γ 构建 DNA 疫苗,即把 AgB 基因和 CD58 或 IFN- γ 基因插入到同一载体(pBudCE4.1)中,构建 DNA 疫苗,以实现抗原-佐剂一体化,在脂质体的作用下将含有目的基因的真核质粒转入 BHK-21 细胞,并在体外进行初步表达和检测。

1 材料与方法

1.1 材料

DH5 α 菌种、BHK-21 细胞、pGEM-Teasy-AgB、pGEM-Teasy-CD58、pGEM-Teasy-IFN- γ 重

组质粒、猪 AgB 阳性血清和兔抗 IFN- γ 阳性血清均由本室保存;哺乳动物细胞表达载体 pBudCE4.1、ZeocinTM、Lipofectamine PlusTM Reagent 和 FITC 标记的鼠抗 V5 单克隆抗体均购自 Invitrogen 公司;限制性内切酶 *Bam*H I、*Hind* III、*Not* I、*Xho* I、*Bgl* II、T4 DNA 连接酶均购自 Promega 公司;DL2000、*Taq* 酶、Agarose Gel DNA Purification Kit、MiniBEST Plasmid Purification Kit 购自 TaKaRa 公司;胎牛血清、DMEM 培养液购自 Hyclone 公司;Ultrapure Plasmid DNA Purification Kit 购自 V-gene 公司;FITC-山羊抗猪 IgG 和 FITC-山羊抗兔 IgG 购自 Bethyl 公司;其他常规试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 引物的设计与合成 参考猪囊尾蚴 AgB 和猪 CD58 或 IFN- γ 基因及哺乳动物细胞表达载体 pBudCE4.1 的核苷酸序列设计了以下引物,引物由上海生工生物工程公司合成,用无菌双蒸水稀释为 50 pmol/ μ L 备用。

AgB 上游引物:5'-CCCAAGCTTGGAAATG-GCTGAATCACAC-3'(*Hind* III);

AgB 下游引物:5'-CGGGATCCCTACAT-GATGCTGGTTGCA-3'(*Bam*H I)。

CD58 上游引物:5'-CCGCTCGAGCGGAAT-GGCCTCGGGGAGAGC-3'(*Xho* I);

CD58 下游引物:5'-GAAGATCTTCTCCGC-TACGACGCGCCAGA-3'(*Bgl* II)。

IFN- γ 上游引物:5'-ATAAGAATGCGGCCG-CAACATGGGTTAT-3'(*Not* I);

IFN- γ 下游引物:5'-CCGCTCGAGTTATT-TTGATGCTCTCTGG-3'(*Xho* I)。

1.2.2 PCR 扩增 猪囊尾蚴 AgB、猪 CD58 和猪 IFN- γ 基因以 pGEM-Teasy-AgB、pGEM-Teasy-CD58 和 pGEM-Teasy-IFN- γ 重组质粒为 DNA 模板,按常规体系进行 PCR 扩增。AgB PCR 程序为 94 $^{\circ}$ C 5 min;94 $^{\circ}$ C 1 min,60 $^{\circ}$ C 50 s,72 $^{\circ}$ C 2 min30 s,共 35 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,4 $^{\circ}$ C 保存。CD58 PCR 程序为 94 $^{\circ}$ C 5 min;94 $^{\circ}$ C 40 s,58 $^{\circ}$ C 50 s,72 $^{\circ}$ C 1 min,共 35 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,4 $^{\circ}$ C 保存。IFN- γ PCR 程序为 94 $^{\circ}$ C 5 min;94 $^{\circ}$ C 40 s,52 $^{\circ}$ C 40 s,72 $^{\circ}$ C 50 s,共 35 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,4 $^{\circ}$ C 保存。

1.2.3 重组真核表达质粒 pBu/CD58 和 pBu/

CD58/AgB的构建 将扩增获得的猪 CD58 基因和载体 pBudCE4.1 分别用 *Bgl* II 和 *Xho* I 双酶切后, 16℃ 过夜连接后, 转化 DH5 α 感受态细胞, 在含有 Zeocin™ 的低盐 LB 平板上随机挑选单个菌落制备质粒, 经 PCR、酶切鉴定后进行测序分析, 将阳性质粒命名为 pBu/CD58 (即首先将猪 CD58 基因插入载体 pBudCE4.1 的 EF-1 α 启动子下游)。然后, 对扩增获得的猪囊尾蚴 AgB 基因和已插入 CD58 的载体 pBu/CD58 进行 *Bam*H I 和 *Hind* III 双酶切, 16℃ 过夜连接后转化 DH5 α 感受态细胞, 在含有 Zeocin™ 的低盐 LB 平板上随机挑选单个菌落制备质粒, 经 PCR、酶切鉴定后进行测序分析, 将阳性质粒命名为 pBu/CD58/AgB。即将猪囊尾蚴 AgB 基因插入载体 pBudCE4.1 的 CMV 启动子下游, 具体操作步骤见《分子克隆》^[10]。

1.2.4 重组真核表达质粒 pBu/IFN- γ 和 pBu/IFN- γ /AgB 的构建 将扩增获得的猪 IFN- γ 基因和载体 pBudCE4.1 分别用 *Not* I 和 *Xho* I 双酶切, 16℃ 过夜连接后, 转化 DH5 α 感受态细胞, 在含有 Zeocin™ 的低盐 LB 平板上随机挑选单个菌落制备质粒, 经 PCR 鉴定后进行测序分析, 将阳性质粒命名为 pBu/IFN- γ (即首先将猪 IFN- γ 基因插入载体 pBudCE4.1 的 EF-1 α 启动子下游)。然后, 对扩增获得的猪囊尾蚴 AgB 基因和已插入 IFN- γ 的载体 pBu/IFN- γ 进行 *Bam*H I 和 *Hind* III 双酶切, 16℃ 过夜连接后转化 DH5 α 感受态细胞, 在含有 Zeocin™ 的低盐 LB 平板上随机挑选单个菌落制备质粒, 经 PCR 鉴定后进行测序分析, 将阳性质粒命名为 pBu/IFN- γ /AgB (即将猪囊尾蚴 AgB 基因插入载体 pBudCE4.1 的 CMV 启动子下游)。具体操作步骤见《分子克隆》^[10]。

1.2.5 重组质粒转染 BHK-21 细胞 首先用 Ultrapure Plasmid DNA Purification Kit 提纯质粒, 纯度 OD_{260/280} 为 1.85~1.95。将重组质粒 DNA 在脂质体作用下转染 BHK-21 细胞。步骤如下: 转染前一天, 在 6 孔细胞培养板的各孔中加入 2 mL 含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液, 并放置一张无菌、洁净的盖玻片, 细胞浓度为 2×10^5 /孔。在 37℃ 5% CO₂ 的条件下培养过夜, 待细胞融合度达到 80%~90% 时, 依照 Lipofectamine Plus™ Reagent 说明将 1 μ g 质粒 DNA 溶于 250 μ L DMEM 培养液中 (无胎牛血清和抗生素), 再加入 10 μ L Plus™ Reagent, 混合后即成为溶液 A, 室温放置 20 min; 另将

10 μ L Lipofectamine Reagent 溶于 250 μ L DMEM 培养液中 (无胎牛血清和抗生素) 作为溶液 B, 室温放置 20 min; 再将溶液 A 和溶液 B 混合, 轻轻混匀, 室温下孵育 20 min; 其它步骤严格按照操作说明书进行。细胞在 37℃ 5% CO₂ 条件下继续培养, 48 h 后收获细胞, 进行检测。同时设空质粒对照组和空白细胞对照组。

1.2.6 表达产物的免疫荧光检测 将 6 孔板中的玻片取出, 用 0.01 mol/L PBS (pH7.2) 漂洗 3 次, 冷丙酮 -20℃ 固定 30 min, PBS 再次洗涤后用于检测。

1.2.6.1 间接免疫荧光检测细胞中猪囊尾蚴 AgB 和 IFN- γ 基因的表达: 将固定好的盖玻片分别浸泡于猪 AgB 阳性血清稀释液和兔抗 IFN- γ 阳性稀释液中, 于 37℃ 湿盒中孵育 50 min, 取出后用 PBS 洗涤 5 次; 将玻片分别浸泡于 FITC 标记的山羊抗猪 IgG 稀释液和 FITC 标记的山羊抗兔 IgG 稀释液中, 37℃ 湿盒中作用 50 min, 取出后再用 PBS 洗涤 5 次, 自然干燥后滴加 50% 甘油 PBS 液封片, 于荧光显微镜下观察结果。

1.2.6.2 直接免疫荧光检测细胞中猪 CD58 基因的表达: 将固定好的盖玻片分别浸泡于含 10% 胎牛血清的 0.01 mol/L PBS (pH7.2) 封闭液中, 于 37℃ 湿盒中孵育 20 min, 然后将玻片浸泡于 FITC 标记的鼠抗 V5 单克隆抗体稀释液中, 37℃ 湿盒中作用 1 h, 取出后用 PBS 洗涤 5 次, 自然干燥后滴加 50% 甘油 PBS 液封片, 于荧光显微镜下观察结果。

2 结果

2.1 重组质粒 pBu/CD58 的 PCR 和酶切鉴定

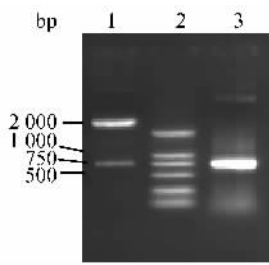
重组质粒用 *Bgl* II 和 *Xho* I 双酶切后出现了约 750 bp 的条带, 与预期的片段大小相符, 经酶切鉴定为阳性的质粒 DNA, 1:10 稀释后作为模板 PCR 扩增出约 750 bp 的片段 (见图 1), 证明 CD58 已定向插入载体 pBudCE4.1 中。

2.2 重组质粒 pBu/CD58/AgB 的 PCR 和酶切鉴定

重组质粒用 *Bam*H I 和 *Hind* III 双酶切后出现了约 2.6 kb 的条带, 与预期的片段大小相符, 经酶切鉴定为阳性的质粒 DNA, 1:10 稀释后作为模板 PCR 扩增出约 2.6 kb 的片段 (见图 2), 证明 AgB 已定向插入载体 pBu/CD58 中。

2.3 重组质粒 pBu/IFN- γ 的 PCR 鉴定

重组质粒 DNA 以 1:10 稀释后作为模板 PCR

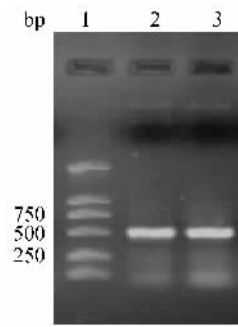


1. 重组质粒 pBu/CD58 的酶切产物; 2. DL2000 分子量标准; 3. 重组质粒的 PCR 产物

1. pBu/CD58 digested with *Bgl* II and *Xho* I ; 2. DL2000 marker; 3. PCR product of pBu/CD58

图 1 重组质粒 pBu/CD58 的 PCR 及酶切鉴定

Fig. 1 Identification of recombinant plasmid by enzyme digestion and PCR

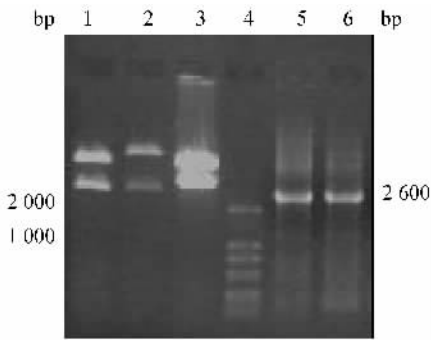


1. DL2000 分子量标准; 2、3. 重组质粒 pBu/IFN- γ 的 PCR 产物

1. DL2000 Marker; 2, 3. PCR product of pBu/IFN- γ

图 3 重组质粒 pBu/IFN- γ 的 PCR 鉴定

Fig. 3 Identification of recombinant plasmid by PCR



1、2. 重组质粒 pBu/CD58/AgB 的酶切产物; 3. 构建的重组质粒; 4. DL2000 分子量标准; 5、6. 重组质粒的 PCR 产物

1, 2. pBu/CD58/AgB digested with *Bam*H I and *Hind* III ; 3. Recombinant plasmid; 4. DL2000 marker; 5, 6. PCR product of pBu/CD58/AgB

图 2 重组质粒 pBu/CD58/AgB 的酶切和 PCR 鉴定

Fig. 2 Identification of recombinant plasmid by enzyme digestion and PCR

扩增出约 500 bp 的片段(见图 3), 证明 IFN- γ 已定向插入载体 pBudCE4.1 中。

2.4 重组质粒 pBu/IFN- γ /AgB 的 PCR 鉴定

重组质粒 DNA 以 1 : 10 稀释后作为模板 PCR 扩增出约 2.6 kb 的片段(图略), 证明 IFN- γ 已定向插入载体 pBu/IFN- γ 中。

2.5 重组质粒中 CD58、IFN- γ 和 AgB 基因的序列测定

对 pBu/CD58、pBu/CD58/AgB、pBu/IFN- γ 和 pBu/IFN- γ /AgB 中经酶切、PCR 鉴定为阳性的克隆进行测序, 并与已知基因序列相比较, 结果表明插

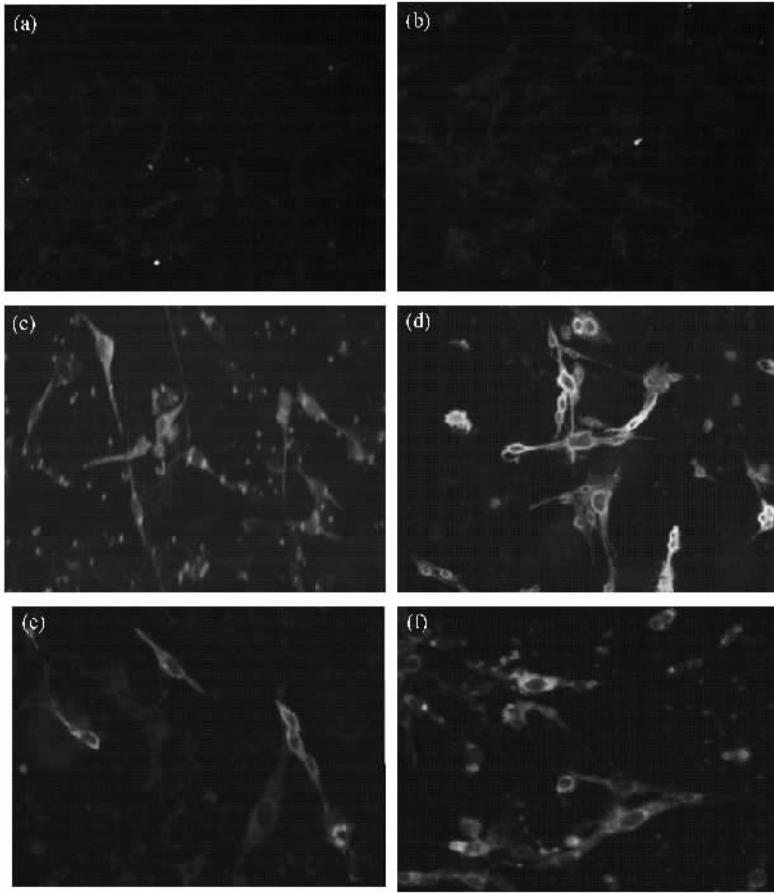
入的目的基因完全正确, 克隆过程中无碱基突变、缺失或插入。

2.6 转染细胞中 AgB、CD58 和 IFN- γ 蛋白表达的检测

将分别转染 pBu/CD58/AgB、pBu/IFN- γ /AgB、空质粒和未转染的细胞飞片经荧光染色后, 经观察发现, 转染重组真核表达质粒的细胞中出现了特异性荧光, 而转染了空质粒和未转染的细胞中则无明显荧光(见图 4), 表明构建的 pBu/CD58/AgB 重组阳性质粒在 BHK-21 细胞中可成功表达 AgB 和 CD58 蛋白。

3 讨论

猪囊尾蚴 B 抗原(AgB)与扁形动物门寄生虫的主要抗原成分——副肌球蛋白(Paramyosin)是同源蛋白。AgB 是多种无脊椎动物肌肉组织的主要结构蛋白, 它还存在于虫体的皮下、消化道、生殖道和部分寄生虫的体表, 可分泌到体外。Laclette 等^[11] 研究猪带绦虫 AgB 和曼氏血吸虫副肌球蛋白, 发现二者在生化和免疫学特性方面有许多共同之处。曼氏血吸虫副肌球蛋白全长 cDNA 克隆的推导翻译产物所包含的序列与 AgB 的翻译产物具有高度的同源性, 副肌球蛋白的氨基酸组分和等电点与 B 抗原的几乎相同; 重组曼氏血吸虫副肌球蛋白在大肠杆菌中表达的融合蛋白, 能被猪带绦虫 AgB 抗血清所识别。据此认为, 曼氏血吸虫副肌球蛋白和猪囊虫 AgB 是同源蛋白。Jose 等^[12] 研究证明猪囊虫 AgB 的片段也可诱发机体产生较强的免疫保护。



a. 未转染细胞; b. 转染了空载体 pBudCE4.1 的细胞; c. 重组质粒 pBu/CD58/AgB 转染细胞后 AgB 的检测结果; d. 重组质粒 pBu/CD58/AgB 转染细胞后 CD58 的检测结果; e. 重组质粒 pBu/IFN- γ /AgB 转染细胞后 AgB 的检测结果; f. 重组质粒 pBu/IFN- γ /AgB 转染细胞后 IFN- γ 的检测结果

a. BHK-21 cells; b. BHK-21 cells transfected with pBudCE4.1; c. Expression of AgB protein, BHK-21 cells transfected with pBu/CD58/AgB; d. Expression of CD58 protein, BHK-21 cells transfected with pBu/CD58/AgB; e. Expression of AgB protein, BHK-21 cells transfected with pBu/IFN- γ /AgB; f. Expression of IFN- γ protein, BHK-21 cells transfected with pBu/IFN- γ /AgB

图 5 重组质粒 pBu/CD58/AgB 和 pBu/IFN- γ /AgB 在 BHK-21 细胞中的表达

Fig. 5 Expression of recombinant plasmid pBu/CD58/AgB and pBu/IFN- γ /AgB in transfected BHK-21 cells

他们用猪囊虫 AgB 3 种不同截断形式重组片段 (AgB 氨基端、AgB 中段、AgB 羧基端) 的重组蛋白免疫 BALB/c 小鼠, 结果发现 AgB 的氨基端具有强免疫原性, 而羧基端具有强反应原性。

本研究采用的是哺乳动物细胞表达载体 pBudCE4.1, 该载体具有 2 个高效启动子 CMV 和 EF-1 α , 可在同一个载体内同时独立地表达 2 种蛋白, 且这 2 个外源基因的表达量可能相同, 这样就避免了单启动子下 2 个或多个基因同时表达时, 几种蛋白间在空间结构上的相互影响。在检测 CD58 蛋白时, 由于本室没有获得抗猪 CD58 的阳性血清, 故在设计 CD58 下游引物时不设终止密码子, 即 CD58

与载体 pBudCE4.1 上的 V5(Gly-Lys-Pro-Asn-Pro-Leu-Leu-Gly-Leu-Asp-Ser-Thr) 肽段融合表达, 检测时用抗 V5 的抗体即可检测到 CD58 蛋白, 由试验结果可知, 这一设想是可行的。

本研究在体外通过脂质体介导将重组质粒转染 BHK-21 细胞, 通过间接和直接免疫荧光检测表达产物, 结果表明, 转染重组质粒的细胞出现特异性绿色荧光, 说明构建的真核表达载体可以在体外进行表达, 为 DNA 疫苗的动物试验奠定了基础。

参考文献:

[1] 公茂庆, 高永娥, 赵中平. 猪带绦虫和囊虫病研究进

- 展[J]. 中国寄生虫病防治杂志,1996,9(2):142.
- [2] Sciuotto E, Fragoso G, Fleury A, *et al.* *Taenia solium* disease in humans and pigs; an ancient parasitosis disease rooted in developing countries and emerging as a major health problem of global dimensions [J]. *Microbes Infect*, 2000,2(15):1 875~1 890.
- [3] 景志忠,郭爱疆,海 岗,等. 猪带绦虫六钩蚴 cDNA 文库的构建及免疫原基因的筛选与克隆[J]. 畜牧兽医学报,2005,36(4):391~396.
- [4] Landa A, Lilette J, Well S. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloro-extraction[J]. *Mol Biochem Parasitol*, 1993, 60(2):343~348.
- [5] Cai X P, Chai Z W, J Z Z, *et al.* Studies on the development of DNA vaccine against *cysticercus cellulosae* infection and its efficacy[J]. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*,2001, 32(Suppl 2):105~110.
- [6] 王爱华,靳亚平,肖俊杰,等. 淋巴细胞功能相关抗原-3 对鸡新城疫免疫促进作用[J]. 中国兽医科技, 1997,27(2):25~26.
- [7] 孙卫民,王惠琴. 细胞因子研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1999. 573.
- [8] 周光炎. 免疫学原理[M]. 上海:上海科学技术文献出版社,2000. 87~88.
- [9] 邢同京,章 廉. 极化群体的基础与临床[M]. 北京:军事医学科学出版社,2002. 11~12.
- [10] 萨姆布鲁克 J, 弗里奇 E F, 曼尼阿蒂斯 T. 分子克隆[M]. 第 2 版. 北京:科学出版社,1999.
- [11] Lacleite J P, Landa A, Arcos L, *et al.* Paramyosin is the *schistosoma mansoni* (Trematoda) homologue of antigen B from *Taenia solium* (Cestoda)[J]. *Mol Biochem Parasitol*,1991, 44(2): 287~295.
- [12] Jose V T, Carlos F S, Luis I T, *et al.* Characterization and protective potential of the immune response to *Taenia solium* paramyosin in a murine model of cysticercosis[J]. *Infect Immun*, 2001,69 (9):5 412~5 416.

动物疫情速递

英国发生低致病性禽流感

2007 年 6 月 15 日,英国首席兽医官 Debby Reynolds 博士向 OIE 报告了家禽禽流感疫情。病原是 H7N2 亚型低致病性禽流感病毒,其脑内致病指数(ICPI)为 0.13。疫情始于 2007 年 6 月 8 日,于同日确认。诊断方法为实验室检查,系对当前威尔士低致病性禽流感(H7N2)进行市场回溯中发现的。疫区位于英格兰 Merseyside 省 St Helens 的养殖场,感染动物是家禽,为一个由 19 只蛋鸡和若干鸭、孔雀组成的群体,有 34 例易感动物,已经全部销毁。感染来自合法的动物移动和引进活体动物。实验室诊断在 OIE 参考实验室 VLA Weybridge 进行,所用方法包括 ICPI 试验和血凝抑制试验(HIT),ICPI 呈阴性,HIT 呈阳性。英国采取的控制措施有国内限制移动、筛选、设施及设备消毒和扑杀,并且禁止免疫。英国上一次发生禽流感是在 2006 年 8 月 4 日。

智利发生禽伤寒

2007 年 6 月 18 日,智利向 OIE 报告了禽伤寒疫情。病原是鸡沙门氏菌。疫情始于 2007 年 5 月 8 日,于 2007 年 6 月 15 日确认,属于临床病例。诊断方法为临床诊断、实验室检查和尸体剖解。疫区位于 MAULE 省 Cauquenes 地区 San Pedro de Armengol 亚区 Cauquenes 的养殖场,感染动物是家禽,有 282 例易感动物,116 例病例,死亡 114 例。感染来源尚不清楚。实验室诊断在 Instituto de Salud Pública (ISP) y Lo Aguirre (Servicio Agrícola y Ganadero, SAG)进行,所用方法为 serotipificación,结果呈阳性。智利已采取检疫措施,即将采取设施及设备消毒和扑杀措施,未对动物进行治疗,也未禁止免疫。智利上一次发生禽伤寒是在 1991 年。