

# 对虾白斑综合征病毒(WSSV)致病相关基因研究进展

于洪涛<sup>1,2</sup>, 黄健\* 张士瑾 (1. 中国海洋大学生命科学与技术学院, 山东青岛266003; 2. 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东青岛266071)

**摘要** 介绍了最近几年白斑综合征病毒 WSSV 致病相关基因的研究进展, 包括病毒囊膜蛋白基因、核衣壳蛋白基因、病毒复制过程的关键酶基因、细胞因子受体基因、潜伏相关基因和抑制宿主细胞凋亡机制的基因等。

**关键词** 白斑综合征病毒; 致病; 相关基因

中图分类号 S945.4 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)18-07712-04

Review of the Nosogenesis-related Gene of White Spot Syndrome Virus(WSSV)

YU Hong-tao et al (Department of Life Science and Technology, Ocean University of China, Qingdao, Shandong 266003)

**Abstract** The whitespot syndrome virus(WSSV) is the major pathogen which causes the fulminant epidemic in farmed shrimp. So far, the research on WSSV has been focused on the analysis of the structural and functional gene and molecular mechanism of nosogenesis. In this paper recent research on the nosogenesis-related gene of WSSV was mainly presented, including the envelope protein gene, nucleocapsid protein gene, key enzyme gene of replication, putative cytokine receptor gene, latency-related gene and anti-apoptosis gene and so on, which aimed at providing a reference for more efficient method for the control of WSSV at molecular level.

**Key words** WSSV; Nosogenesis-related; Gene

白斑综合征病毒(White Spot Syndrome Virus, WSSV)是引起养殖对虾暴发性流行病的主要病原。20世纪90年代最先暴发于我国台湾地区,此后迅速传播至整个亚洲及欧美的主要对虾养殖地区,给对虾养殖业造成了极大损失<sup>[1-2]</sup>,并且威胁整个海洋生态系统的平衡<sup>[3]</sup>。

白斑综合征病毒是一种大型的双链DNA病毒,具有双层囊膜,不能形成包涵体,隶属于线头病毒科(Nimaviridae),是该科的唯一成员<sup>[4]</sup>。该病毒侵染性和复制能力很强,宿主死亡率可达100%,可侵染对虾的多种组织<sup>[5]</sup>,且宿主范围很广,对虾、螯虾、蟹类、淡水甲壳类及轮虫都可以被其感染<sup>[6-9]</sup>。

到目前为止,共有3个WSSV基因组全序列在Genbank上公布,分别为泰国株(AF369029)<sup>[5]</sup>、中国台湾株(AF440570)<sup>[10]</sup>和中国大陆株(AF332093)<sup>[11]</sup>。其大部分开放阅读框与Genbank上已有的基因序列无同源性,近年来各国学者对该病毒的分子致病机理作了大量研究。迄今为止,WSSV已确认的与致病有关的基因主要有:编码囊膜蛋白基因、编码核衣壳蛋白基因、编码病毒复制过程关键酶基因、与病毒潜伏相关的基因和阻止宿主细胞凋亡的基因等。

WSSV在Genbank上公布的3个全序列各自具有不同的开放阅读框编码系统,泰国株全序列共有184个开放阅读框,中国大陆株和中国台湾株各自有531个开放阅读框,笔者所提到的开放阅读框名称主要采用中国大陆株的命名方法<sup>[11]</sup>。

## 1 囊膜蛋白基因

1.1 VAP1基因 VAP1蛋白其理论推算的分子量为31 kD,基因编码蛋白无跨膜区域,有多个蛋白激酶C、酪蛋白激酶磷酸化位点和糖基化位点,根据基因序列推算其氨基酸序列中有一细胞吸附序列(Cell Attachment Sequence)精氨酸甘氨酸

天冬氨酸(RGD)基序(Arg2 Gly2 Asp),RGD一般为细胞外基质蛋白中细胞整合素蛋白(Integrin)家族受体上的识别位点,在细胞吸附中起作用,提示VAP1可能在病毒吸附中会发生一定的作用。刘庆慧等通过研究地高辛(DIG)标记的虾组织细胞膜与表达的VAP1进行吸附活性的Western-blot分析,结果表明,表达的VAP1与对虾细胞膜具有明显的结合活性,说明VAP1在WSSV侵染对虾过程中为一重要的黏附蛋白<sup>[12]</sup>。

1.2 VP19基因 VP19基因全长366 bp,共编码121个氨基酸,它主要具有2个跨膜结构域,通过这2个结构域锚定在囊膜上。目前VP19囊膜蛋白是否与对虾白斑综合征的系统感染有关还未见报道。贾启军等研究表明,注射Tx-VP19可以提高螯虾个体抗WSSV感染力的能力,这进一步证实了WSSV的结构蛋白可以被螯虾免疫系统识别<sup>[13]</sup>。

1.3 VP28基因 该基因由ORF421编码。Yoganandhan等用WSSV印度株感染不同的甲壳类动物,发现在不同宿主中VP28基因起始表达的时间早晚与死亡率达到100%时的时间早晚成正比<sup>[14]</sup>。刘非等通过细胞吸附试验表明,重组的VP28蛋白可独立地与宿主细胞表面发生结合,因而可以推断这个蛋白极可能参与WSSV侵染宿主的初始阶段<sup>[15]</sup>。其他学者的研究也证明了VP28的抗血清可以中和WSSV的感染,并证实VP28定位于病毒粒子的表面,在病毒感染的起始阶段起一定的作用<sup>[16-19]</sup>。

1.4 VP26基因 VP26曾一度被认为是核衣壳蛋白,Zhang等经免疫胶体金抗体证明其是囊膜蛋白,它与VP28具有很高的同源性,可能来源于一个共同的基因拷贝,二者具有相似的跨膜结构域,重组的VP26在体外细胞吸附试验与对虾细胞表面发生了特异性吸附,证明VP28与VP26可能执行相似的功能<sup>[20]</sup>。Xe等证明VP26能与宿主的肌动蛋白质作用,它可能在病毒穿过宿主细胞膜后协助核衣壳向细胞核运动<sup>[21]</sup>。

1.5 VP24基因 由WSV02编码,从前被认为是核衣壳蛋白,谢希贤等用Western-blot和免疫胶体金抗体试验证明VP24蛋白质是一个囊膜蛋白,它的主体可能存在于病毒的

基金项目 国家重点基础研究发展计划(2006CB101801);国家海洋局我国近海海洋综合调查与评价专项(908-01-ZH3)。

作者简介 于洪涛(1982-),男,山东青岛人,硕士研究生,研究方向:病毒分子流行病学研究。\*通讯作者,E-mail:huangjie@ysfri.ac.cn。

收稿日期 2008-04-07

囊膜和核衣壳之间<sup>[22]</sup>。其在病毒感染周期中的作用还不清楚。

**1.6 VP41 基因** 该蛋白质由病毒基因组上的 WSV242 开放阅读框 (ORF) 所编码, 分子量为 41 kD, 丁琦等研究发现 VP41 蛋白质完全存在于病毒 WSSV 囊膜部分。通过 Far-Western 方法发现 VP41 具有蛋白聚合作用<sup>[23]</sup>。

**1.7 VP281( VP37) 基因** 由阅读框 WSV254 编码, 其分子量约为 37 kD, 在其氨基酸序列中有 RGD 吸附序列, 它在介导病毒侵染宿主过程中起着很重要的作用<sup>[24]</sup>。Wu 等通过中和试验证明抗 VP281 的抗体能显著减缓或压制 WSSV 的感染<sup>[25]</sup>。张莉等通过酵母双杂交系统成功筛选了 VP37 相关蛋白的 cDNA 片段, 为研究 WSSV 的入侵以及感染致病的机制等提供了新线索<sup>[26]</sup>。

**1.8 VP31 基因** VP31 蛋白由阅读框 WSV340 编码, 该阅读框包含 783 个核苷酸, 编码 261 个氨基酸, Li 等通过 Western-Blot 和免疫电镜确认 VP31 专一存在于病毒囊膜中, 中和试验显示 VP31 可能在 WSSV 感染宿主的过程中起重要作用<sup>[27]</sup>。

**1.9 VP187 基因** 由开放阅读框 WSV209 编码, 包含 4 818 bp, 编码 1 606 个氨基酸。该基因编码的蛋白经 SDS-PAGE 确定为 187 kD, 是一个晚期基因, 其产物经 Western-Blot 和免疫电镜分析确定是位于病毒粒子中的囊膜蛋白, 计算机辅助分析表明, VP187 基因编码的蛋白含有 N 连接糖基化位点和磷酸化位点, 质谱分析表明, VP187 具有氧化和 carboxymethyl 位点, 像其他许多已知囊膜蛋白一样具有潜在的突出跨膜结构域, 并且存在 RGD 序列, 该吸附结构域显示它在介导 WSSV 感染宿主细胞过程中起重要作用<sup>[28]</sup>。

**1.10 VP124 基因** Zhu 等通过 SDS-PAGE 发现一个新的蛋白, 经确认与 WSSV 基因组中的一个 ORF 匹配, 该 ORF 包含 3 582 nt, 编码 1 194 个氨基酸, 被命名为 VP124 基因, 实时转录分析揭示 VP124 是一个晚期基因, 经免疫电镜确认 VP124 是定位于病毒粒子中的囊膜蛋白<sup>[29]</sup>。

此外, VP68 和 VP466 也是 WSSV 的重要囊膜蛋白, Wu 等通过中和抗体试验证明抗这 2 种蛋白的抗体可以显著减缓 WSSV 的感染, 由此得出, 这 2 种蛋白在 WSSV 感染宿主的起始过程中发挥着重要作用<sup>[25]</sup>。刘庆慧等通过比对 WSSV 另一结构蛋白 VP39 的蛋白序列时发现它与 VP37 具有较高的同源性, 因此, 推测 VP39 在 WSSV 侵染宿主的过程中可能有与 VP37 相似的作用<sup>[30]</sup>。

## 2 核衣壳蛋白基因

**2.1 VP664 基因** VP664 是至今知道的分子量最大的结构蛋白, 全长 18 234 bp, 预计编码 6 077 个氨基酸。熊生良等研究证明 VP664 所编码的蛋白在完整病毒颗粒上定位于核衣壳, 是核衣壳上最大的蛋白, 推测其功能与病毒的组装和形态发生有关<sup>[31]</sup>。

**2.2 WSV308 基因** 该基因编码是分子量为 51 kD 的蛋白, 预测开放阅读框的全长为 1 398 bp, 有多聚 A 加尾信号, 编码 466 个氨基酸。吴成林等研究证明, WSV308 所编码的蛋白在完整病毒颗粒上定位于核衣壳, 其整体结构是疏水的, 从而推测该蛋白可能处于该病毒核衣壳的外表面<sup>[32]</sup>。

**2.3 VP35 基因** 由阅读框 WSV493 编码, 泰国株为 ORF5, 长度 687 bp。Chen 等用昆虫细胞表达该基因得到的蛋白表观分子量为 35 kD, 定位于细胞核, 有 2 个核定位信号 (NLS), 但其中只有一个对于 VP35 在核中的定位是至关重要的, 其 N 端的 4 个残迹 KRKR 对于 VP35 核定位信号的功能是最关键的<sup>[33]</sup>。

## 3 病毒复制关键酶基因

该类基因是 WSSV 基因组中为数不多的与 Genbank Database 中已有的其他物种序列具有同源性的基因, 主要包括蛋白激酶基因、DNA 聚合酶基因、胸腺嘧啶合成酶基因、dUTP 酶、核糖核酸还原酶基因、核酸内切酶基因、胸腺嘧啶核苷酸胸腺嘧啶激酶等。该类基因多是病毒核酸及蛋白合成代谢过程中的关键基因<sup>[34]</sup>。

**3.1 胸腺嘧啶合成酶 (Thymidylate Synthase, TS) 基因** 在所有的真核、原核生物以及病毒中, TS 基因是胸腺嘧啶核苷酸 dTMP 合成途径的一个关键酶, dTMP 是 dUMP 的甲基化产物, 在 dTMP 的合成过程中, TS 催化 dUMP 的甲基化生成 dTMP。它几乎存在于所有的真核以及原核生物中, 不过在病毒中却很少发现, 目前只在几个大的 DNA 病毒, 如疱疹病毒中发现, 李钦等通过 GenBank TM 数据库和 DNAMAN 分析系统, 对不同生物来源的胸腺嘧啶核苷酸合成酶进行了同源性比较, 并构建了该基因的系统发育进化树, 结果发现 WSV-TS 的氨基酸序列与来自高等生物, 特别是同哺乳动物有着很高的同源性, 而与多种病毒的同源性较低<sup>[35]</sup>。WSV-ts 基因是 WSSV 基因组中最为保守的基因, 它与核糖核酸还原酶和胸腺嘧啶核苷酸胸腺嘧啶激酶构成了一个完整的由 dUMP 合成 dTTP 的途径。该系统独立于宿主的转录系统之外, 利用宿主本身的 dUMP 来迅速大量合成复制所需的 dTTP, 这可能是造成对虾代谢紊乱而导致对虾迅速死亡的原因之一。

**3.2 非特异性核酸酶基因** WSV191 编码的产物, 与其他物种的非特异性核酸酶具有同源性, Li 等的研究表明, 重组的 WSSV 非特异性核酸酶既可以水解 DNA, 也可以水解 RNA, 并且 WSV191 基因真正的翻译起始点在第 2 个 ATG 处<sup>[36]</sup>。

**3.3 dUTP 酶基因** 阅读框 WSV112 编码一个 N 端有 5 个保守 motif 的蛋白, 该蛋白被认为是 WSSV 可能的 dUTP 酶, 但其 C 端与已知的 dUTP 酶和其他蛋白质同源性很低, Liu 等将此基因的 5' 端 528 bp 进行了重组表达, 发现得到的 23 kD 蛋白可促进 dUTP 水解为 dUMP, 并且此酶为三聚体<sup>[37]</sup>。

**3.4 核糖核酸还原酶 (Ribonucleotide Reductase, RR) 基因** 核糖核酸还原酶由大小 2 个亚基组成, 分别由 WSV172 和 WSV188 编码, 各自编码 848 和 413 个氨基酸, 这 2 个基因从病毒感染后 4~6 h 开始转录, 持续转录至少 60 h, 是 WSSV 的早期基因<sup>[10]</sup>。Lin 等研究表明, 当 WSSV 感染后这 2 个基因无论是在 RNA 水平还是蛋白质水平都显著增加, 这 2 个亚基的蛋白 (RR1 和 RR2) 主要集中在细胞核周围, 但只有 RR1 出现在核内, 这暗示着 WSSV 核糖核酸还原酶参与了 WSSV 的感染过程<sup>[38]</sup>。

**3.5 DNA 聚合酶基因** 该基因由 WSV514 编码, 与已知种类的 DNA 聚合酶同源性较低且分子量较大, 共有 2 351 个氨基酸残基, 转录成一个 7.5 kb 的转录本, 转录起始点位于

TATA 框下游27 个核苷酸处,该基因在感染6 h 后转录开始增加。对该基因的系统发生学研究表明,WSSV 不属于之前确认的任何一个病毒属<sup>[39]</sup>。

#### 4 其他基因

**4.1 细胞因子受体基因** 解云礼等在 WSSV 基因组中发现一个具有细胞因子受体特征的开放阅读框 ORF220 并将其成功表达。该基因全长2 022 个核苷酸,编码674 个氨基酸,重组表达的蛋白质经 SDS PAGE 电泳确定分子量为 76 kD,该基因中含有真核生物细胞因子 gp130 受体特征序列<sup>[40]</sup>。

**4.2 基因组同源重复区结合蛋白基因** WSSV 基因组中分布有与昆虫杆状病毒类似的9 个同源重复区,很可能有参与病毒复制起始或转录调控的功能。朱艳冰等利用 WSSV 基因组噬菌体展示库,经过5 轮淘选出一个可与 DNA 特异结合的重组噬菌体克隆,包含的外源 DNA 片断长度为 306 bp。通过与 WSSV 基因组序列对比,发现该序列为 WSSV 的 ORF 中 WSV 021 的5 端部分,以此推测 WSV 021 是一个可能与病毒复制或调控相关重要功能基因<sup>[41]</sup>。

**4.3 类锌指蛋白基因** WSSV 基因组中有3 个编码类锌指蛋白的基因 WSV063、WSV069 和 WSV477,它们预测的锌指基序的氨基酸序列与锌指蛋白的典型序列并不完全一致,推测它们是类锌指蛋白,作为调控因子通过蛋白质与核酸或蛋白质与蛋白质相互作用参与病毒的转录和复制等过程<sup>[11,42]</sup>。

**4.4 潜伏相关基因** ORF427、ORF 151 和 ORF 366 被确定是 WSSV 的潜伏相关基因。ORF 151 在泰国株全序列 (AF369029) 中的位置是 ORF89,ORF89 基因转录成一个4 436 个核苷酸的非拼接的 mRNA,编码的蛋白质含有1 437 个氨基酸,ORF89 在 Sf9 细胞中的表达产物分子量约为 165 kD,定位于细胞核中,它的第678 ~683 个氨基酸对于其在核中的定位是必须的。共感染试验表明,ORF89 蛋白会抑制自身的启动子,实时定量 PCR 显示抑制发生在转录水平<sup>[43]</sup>。Lu 等通过酵母双杂交系统发现一种对虾的蛋白磷酸化酶可与 ORF427 相互作用,可能参与 WSSV 生命循环的调控<sup>[44]</sup>。

**4.5 抑制宿主细胞凋亡机制基因** 细胞凋亡机制是宿主细胞对抗病毒入侵的一种重要手段,为抑制病毒感染,最先被感染的细胞死亡可明显限制病毒扩增,减少或排除子代病毒在宿主体内的散播。Wang 等研究发现 WSSV 的感染可阻止放线菌素 D 诱导的细胞凋亡,进一步研究确认 WSSV ORF390 基因是抗细胞凋亡的基因,将该 ORF 克隆到 pIE1 载体并将重组载体转入 Sf9 细胞后,发现 Sf9 细胞被感染后没有表现出明显的细胞凋亡特征,此结果暗示 ORF390 基因有阻遏宿主细胞凋亡的功能<sup>[45]</sup>。

#### 5 结论

自白斑综合征20 世纪90 年代初暴发以来,各国学者从多个方向对白斑综合征病毒进行了大量研究,在病原学、流行病学、诊断学、感染机理等方面的研究早已深入到了分子水平<sup>[46-49]</sup>,目前的研究热点集中在 WSSV 结构和功能基因的分析及探明分子水平致病机理,寻找预防和控制白斑综合征感染的有效方法上。确定哪些基因与 WSSV 的致病性有关,以及这些致病相关基因的致病机理是首先要解决的问题。白斑综合征病毒是一种全新的病毒,它的大部分基因与

已知病毒的基因没有同源性,许多基因的功能是未知的,只能通过序列分析和生物软件辅助来推测部分基因的功能,因此,在 WSSV 致病相关基因的研究中生物信息学方法已成为一种重要的分析手段。

对于经过研究已确定的致病相关基因在预防和控制白斑综合征病毒感染的应用上,采用囊膜蛋白中和抗体削弱 WSSV 的致病力与重组囊膜蛋白作为疫苗是2 个较为可行的方法。WSSV 侵入宿主细胞是通过病毒囊膜与宿主细胞膜融合来实现的,WSSV 的囊膜蛋白能够特异性识别和结合宿主细胞膜上的受体,许多学者的研究结果证明,给试验对象注射 WSSV 主要囊膜蛋白的抗血清可以削弱甚至中和 WSSV 的感染<sup>[17,25,50]</sup>。另外,一些学者的研究证明用重组表达的 WSSV 囊膜蛋白和核衣壳蛋白投喂对虾可使其产生对 WSSV 的抗病保护作用<sup>[51-53]</sup>。这些研究结果表明,使用 WSSV 致病相关结构蛋白基因表达产物的中和抗体,或直接表达产物作为疫苗是预防和控制 WSSV 感染的有效手段。

此外,对 WSSV 的一些保守基因,如胸腺嘧啶合成酶基因进化树的构建有助于理解 WSSV 的进化地位,而对 WSSV 复制过程中的一些关键酶基因的研究为控制病毒 DNA 复制,控制病毒的增殖提供了一个新的思路<sup>[35]</sup>。

目前,还有许多 WSSV 结构基因的功能尚未确认,对该病毒致病相关基因的研究还在进行中。

#### 参考文献

- [1] 蔡生力,黄经,王崇明,等.1993 ~1994 年对虾爆发病的流行病学研究[J].水产学报,1995,19(2):112-117.
- [2] FLEGEL T W. Major viral diseases of the black tiger prawn (*Penaeus monodon*) in Thailand[J]. Microbiol Biotechnol,1997,13:433-442.
- [3] JORY D E, DIXON H M. Shrimp white spot virus in the western hemisphere[J]. Aquac,1999,25:83-91.
- [4] MAYO M A. A summary of taxonomic changes recently approved by ICTV[J]. Arch Virol,2002,147:1655-1663.
- [5] VAN HULTEN M C W, WITTEVELDT J, PETERS S, et al. The white spot syndrome virus DNA genome sequence[J]. Virology,2001,286:7-22.
- [6] LO C F, HO C H, PENG S E, et al. White spot syndrome baculovirus (WSBV) detected in cultured and captured shrimp crabs and other arthropods[J]. Dis Aquat Org,1996,27:215-225.
- [7] MAEDA M, ITAMI T, MIZUKI E, et al. Red swamp crayfish (*Procambarus dalki*) : An alternative experimental host in the study of white spot syndrome virus[J]. Aqa Virol,2000,44(6):371-374.
- [8] HAMEED A S, BALASUBREMANIAN G, MUSTHAQ S S, et al. Experimental infection of twenty species of Indian marine crabs with white spot syndrome virus (WSSV)[J]. Dis Aquat Organ,2003,57(1/2):157-161.
- [9] YAN D C, DONG S L, HUANG J. White spot syndrome virus (WSSV) detected by PCR in reefers and reifer resting eggs from shrimp pond sediments[J]. Diseases of Aquatic Organisms,2004,59(1):69-73.
- [10] TSAI M F, LO C F, VAN HULTEN M C, et al. Transcriptional analysis of the ribonucleotide reductase genes of shrimp white spot syndrome virus[J]. Virology,2000,277(1):92-99.
- [11] YANG F, HE J, LIN X H, et al. Complete genome sequence of the shrimp white spot bacilliform virus[J]. Virol,2001,75:11811-11820.
- [12] 刘庆慧,韩文君,黄经,等. WSSV VAP1 基因克隆及在毕赤酵母中的表达[J].高技术通讯,2005,15(5):67-70.
- [13] 贾启军,孟小林,徐进平,等.对虾白斑综合症病毒囊膜蛋白 VP19 的融合表达及其抗病毒感染作用[J].中国病毒学,2006,21(6):585-588.
- [14] YOGANANDHAN K, MUSTHUQS S, SUDHAKARAN R, et al. Temporal analysis of VP28 gene of Indian white spot syndrome virus isolate (WSSV) in different crustacean hosts[J]. Aquaculture,2006,253:71-81.
- [15] 刘非,寸树健,杨凯,等.对虾白斑综合症病毒(WSSV)结构蛋白 VP28 与 VP26 的功能分析[J].中山大学学报:自然科学版,2006,45(4):83-86.
- [16] 龙燕,徐进平,王健,等.对虾白斑综合症病毒囊膜蛋白 VP28 的表达及其抗病毒感染作用[J].中国病毒学,2006,21(2):178-180.
- [17] VAN HULTEN M C W, WITTEVELDT J, SNIPPE M, et al. White spot syndrome

- virus envelope protein VP28 is involved in the systemic infection of shrimp[J]. *Virology*, 2001, 285: 228-233.
- [18] MUSTHAQS S, YOGANANDHAN K, SUDHAKARAN R, et al. Neutralization of white spot syndrome virus of shrimp by antiserum raised against recombinant VP28[J]. *Aquaculture*, 2006, 253: 98-104.
- [19] ROBALINO J, PAYNE G, PAMELL P, et al. Inactivation of white spot syndrome virus (WSSV) by normal rabbit serum: implications for the role of the envelope protein VP28 in WSSV infection of shrimp[J]. *Virus Research*, 2006, 118: 55-61.
- [20] ZHANG X B, HUANG C H, XU X, et al. Identification and localization of a prawn white spot syndrome virus gene that encodes an envelope protein[J]. *Gen Virol*, 2002, 83: 1069-1074.
- [21] XIE X X, YANG F. Interaction of white spot syndrome virus VP26 protein with actin[J]. *Virology*, 2005, 336: 93-99.
- [22] 谢希贤, 杨丰. 对虾白斑综合征病毒结构蛋白质VP24 的定位研究[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2006, 45(3): 415-418.
- [23] 丁琦, 杨丰. 对虾白斑综合征病毒结构蛋白质VP41 的研究[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2006, 45(4): 549-552.
- [24] HUANG C H, ZHANG X B, LIN Q S, et al. Characterization of a novel envelope (VP28) of shrimp white spot syndrome virus by mass spectrometry[J]. *General Virology*, 2002, 83: 2385-2392.
- [25] WU W L, WANG L, ZHANG X B. Identification of white spot syndrome virus (WSSV) envelope proteins involved in shrimp infection[J]. *Virology*, 2005, 332: 578-583.
- [26] 张莉, 黄经, 戴继勋. 酵母双杂交系统用于 WSSV 粘附蛋白 VP37 相关蛋白基因的研究[J]. 海洋水产研究, 2005, 26(2): 73-78.
- [27] LI L, XIE X X, YANG F. Identification and characterization of a prawn white spot syndrome virus gene that encodes an envelope protein VP31[J]. *Virology*, 2005, 340: 125-132.
- [28] LI H Y, ZHU Y B, XIE X X, et al. Identification of a novel envelope protein (VP187) gene from shrimp white spot syndrome virus[J]. *Virus Research*, 2006, 115: 76-84.
- [29] ZHU Y B, XIE X X, YANG F. Transcription and identification of a novel envelope protein (VP124) gene of shrimp white spot syndrome virus[J]. *Virus Research*, 2005, 113: 100-106.
- [30] 刘庆慧, 韩文君, 杨冰, 等. WSSV VP39 基因克隆与结构分析[J]. 海洋水产研究, 2007, 28(5): 36-41.
- [31] 熊生良, 杨丰. 对虾白斑综合征病毒核衣壳蛋白 VP664 的鉴定研究[J]. 台湾海峡, 2007, 26(1): 46-52.
- [32] 吴成林, 杨丰. 对虾白斑综合征病毒核衣壳蛋白 WSV308 的鉴定[J]. 台湾海峡, 2007, 26(1): 53-60.
- [33] CHEN L L, LEU J H, HUANG C J, et al. Identification of a nucleocapsid protein (VP35) gene of shrimp white spot syndrome virus and characterization of the motif important for targeting VP35 to the nuclei of transfected insect cells[J]. *Cells Virology*, 2002, 293: 44-53.
- [34] MARKS H, GOLDBACH R W, VLAK J M, et al. Genetic variation among isolates of white spot syndrome virus[J]. *Arch Virol*, 2003, 149: 673-697.
- [35] 李, 杨丰, 张景海, 等. 对虾白斑综合征病毒胸腺核苷酸合成酶基因的系统进化分析[J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(2): 145-155.
- [36] II L, LIN S M, YANG F. Functional identification of the non-specific nuclease from white spot syndrome virus[J]. *Virology*, 2005, 337: 399-406.
- [37] LIU X Q, YANG F. Identification and function of a shrimp white spot syndrome virus (WSSV) gene that encodes a dUTPase[J]. *Virus Research*, 2005, 110: 21-30.
- [38] LIN S T, CHANG Y S, WANG H C, et al. Ribonucleotide reductase of shrimp white spot syndrome virus (WSSV): Expression and enzymatic activity in a baculovirus/insect cell system and WSSV-infected shrimp[J]. *Virology*, 2002, 304: 282-290.
- [39] CHEN L L, WANG H C, HUANG C J, et al. Transcriptional analysis of the DNA polymerase gene of shrimp white spot syndrome virus[J]. *Virology*, 2002, 301: 136-147.
- [40] 解云礼, 黄茹, 石正丽. 对虾白斑综合征病毒的细胞因子受体基因的分析与表达[J]. 中国病毒学, 2003, 18(4): 362-366.
- [41] 朱艳冰, 杨丰. 对虾白斑综合征病毒基因组同源重复区结合蛋白的筛选[J]. 台湾海峡, 2006, 25(3): 318-323.
- [42] 朱艳冰, 杨丰. 对虾白斑综合征病毒类锌指蛋白基因 (WSV063、WSV069 和 WSV477) 的表达和纯化[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2005, 44(5): 697-700.
- [43] HOSSAIN M S, KHADJAH S, KWANG J. Characterization of ORF89: A latency-related gene of white spot syndrome virus[J]. *Virology*, 2004, 325: 106-115.
- [44] LUL Q, KWANG J. Identification of a novel shrimp protein phosphatase and its association with latency-related ORF427 of white spot syndrome virus[J]. *FEBS Letters*, 2004, 577: 141-146.
- [45] WANG Z M, HU L B, YI G H, et al. ORF390 of white spot syndrome virus genome is identified as a novel anti-apoptosis gene[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2004, 325: 899-907.
- [46] CHOU H Y, HUANG C Y, WANG C H, et al. Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan[J]. *Dis Aquat Organ*, 1995, 23: 165-173.
- [47] DIEU B T M, MARKS H, SEBENGA J J, et al. Molecular epidemiology of white spot syndrome virus within Vietnam[J]. *Journal of General Virology*, 2004, 85: 3607-3618.
- [48] SRITUNYALUCKSANA K, SRISALA J, MCCOLL K, et al. Comparison of PCR testing methods for white spot syndrome virus (WSSV) infections in penaeid shrimp[J]. *Aquaculture*, 2006, 255: 95-104.
- [49] PEINADO GUEVARA L I, LOPEZ MEYER M. Detailed monitoring of white spot syndrome virus (WSSV) in shrimp commercial ponds in Sinaloa, Mexico by nested PCR[J]. *Aquaculture*, 2006, 251: 33-45.
- [50] LI H X, MENG X L, XU J P, et al. Protection of crayfish, *Cambarus clarkii*, from white spot syndrome virus by polyclonal antibodies against a viral envelope fusion protein[J]. *Fish Dis*, 2005, 28(5): 285-291.
- [51] 许雅香. 对虾白斑综合征病毒囊膜蛋白基因克隆、表达及表达产物抗病效果的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2003.
- [52] NAM KOSH A, WU J L, YAMASHITA T, et al. Vaccination trials with *Penaeus japonicus* to induce resistance to white spot syndrome virus[J]. *Aquaculture*, 2004, 229: 25-35.
- [53] 魏克强, 许梓荣. 家蚕蛹表达的重组 VP28 疫苗对克氏原螯虾的抗病毒保护效应[J]. 实验生物学, 2005, 38(3): 190-198.
- [34] MCDANIEL T K, KAPER J B. A cloned pathogenicity island from enteropathogenic *Escherichia coli* confers the attaching and effacing phenotype on *E. coli* K12[J]. *Mol Microbiol*, 1997, 23: 399-407.
- [35] GOPHNA U, OELSCHLAEGER T A, HACKER J, et al. *Yersinia* HPI in septicemic *Escherichia coli* strains isolated from diverse hosts[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2001, 196: 57-60.
- [36] YU J, KAPER J B. Cloning and characterization of the *eae* gene of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7[J]. *Mol Microbiol*, 1992, 6: 411-417.
- [37] LA L C, WAINWRIGHT L A, STONE K D, et al. A third secreted protein that is encoded by the enteropathogenic *Escherichia coli* pathogenicity island is required for transduction of signals and for attaching and effacing activities in host cells[J]. *Infect Immun*, 1997, 65: 2211-2217.
- [38] CHENG D R, SUN H C, XU J S, et al. PCR detection of virulence factor genes in *Escherichia coli* isolates from weaned piglets with edema disease and/or diarrhea in China[J]. *Vet Microbiol*, 2006, 115(4): 320-328.
- [39] MANI L G, JACQUEMINE P, POHL P, et al. DNA sequences coding for the F18 fimbriae and AIDA adhesin are localised on the same plasmid in *Escherichia coli* isolates from piglets[J]. *Vet Microbiol*, 2002, 86(4): 303-311.
- [40] ZHAO L, CHEN X, XU X, et al. Analysis of the AIDA1 gene sequence and prevalence in *Escherichia coli* isolates from pigs with post-weaning diarrhoea and oedema disease[J]. *Vet Microbiol*, (2007) (已录用).
- [41] 成大荣, 徐建生, 孙怀昌, 等. 大肠杆菌 F18 菌毛及其亚型的 PCR 鉴定[J]. 微生物学报, 2004, 44(5): 683-685.
- [42] OSEK J. Clonal analysis of *Escherichia coli* strains isolated from pigs with post-weaning diarrhea by pulsed-field gel electrophoresis[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2000, 186: 327-331.
- [43] YOKOYAMA H, HASHI T, UMEDA K. Effect of oral egg antibody in experimental F18<sup>+</sup> *Escherichia coli* infection in weaned pigs[J]. *Vet Med Small Anim Clin*, 1997, 92: 19-21.
- [44] ZUNGA A, YOKOYAMA H, RIPPENGER P A, et al. Reduced intestinal colonization with F18<sup>+</sup> positive enterotoxigenic *Escherichia coli* in weaned pigs fed chicken egg antibody against the fimbriae[J]. *Immunology and Medical Microbiology*, 1997, 18: 153-167.
- [45] FRYDENDAHL K, JENSEN T K, ANDERSEN J S, et al. Association between the porcine *Escherichia coli* F18 receptor genotype and phenotype and susceptibility to colonization and postweaning diarrhea caused by *E. coli* O138:F18[J]. *Vet Microbiol*, 2003, 93: 39-51.
- [46] SNOECK V, VERDONCK F, COXA E. Inhibition of adhesion of F18<sup>+</sup> *Escherichia coli* to piglet intestinal villous enterocytes by monoclonal antibody against blood group H2 antigen[J]. *Vet Microbiol*, 2004, 100: 241-246.
- [47] 徐建生, 成大荣. 选择优良菌用于仔猪水肿病疫苗的改进[J]. 中国预防兽医学报, 2002, 24(4): 297-300.
- [48] ZUREK L, SCHAL C. Evaluation of the German cockroach (*Blattella germanica*) as a vector for verotoxigenic *Escherichia coli* F18 in confined swine production[J]. *Vet Microbiol*, 2004, 101: 263-267.

(上接第7666页)