

山东五大地方鸡禽白血病毒主要流行亚型鉴定及其分离株 *gp85* 基因的分子特征分析

陈 静^{1,2}, 王 波¹, 王海明¹, 程合刚¹, 武星辰¹, 孙淑红^{1*}

(1. 山东农业大学动物医学院, 泰安 271018; 2. 江苏省动物预防医学重点实验室, 扬州 225009)

摘 要: 通过对山东五大地方鸡(寿光鸡、芦花鸡、百日鸡、琅琊鸡、鲁西斗鸡)不同亚型禽白血病毒(ALV)分离株鉴定及 *gp85* 基因序列分析, 探究山东五大地方鸡 ALV 的主要流行亚型及 *gp85* 基因分子特征。分别将寿光鸡、百日鸡、芦花鸡的无菌抗凝血和琅琊鸡、鲁西斗鸡的卵白接种 CEF 培养 9~10 d, 常规方法提取感染细胞的 cDNA, 用针对 J 亚型 ALV(ALV-J) *gp85* 基因(924 bp)的引物和 A~J(含囊膜蛋白 *env* 基因, 2 400 bp)的群引物进行 PCR 扩增、克隆、测序并分析其特点。本研究发现, 2009—2011 年间, 山东五大地方鸡均存在 ALV-J 感染, 5 个 ALV-J 分离株 *gp85* 基因之间的相似性为 98.4%~99.9%, 与原型毒株 HPRS-103 相似性为 97.8%~98.3%; 均扩出内源性 ALV(ALV-E)片段, 与不能产生传染性病毒粒子的 ev-1、ev-3、ev-6 毒株相似性最高, 推测为鸡基因组所携带; 同时还发现, 琅琊鸡、芦花鸡存在 A 亚型 ALV(ALV-A)的感染。研究结果表明, 2009—2011 年间的山东五大地方鸡已经普遍存在 ALV-J, 两大品系中存在 ALV-A 和 ALV-J 共感染, 同时 ALV-E 的片段广泛存在, 这一结论揭示出山东地方鸡的禽白血病毒净化工作更加具有挑战性。

关键词: 地方鸡; 禽白血病毒(ALV); *gp85* 基因; 分子特征

中图分类号: S852.659.3

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2014)03-0451-07

Identification of Main Epidemic Subtypes of Avian Leukosis Virus in Five Local Breeds in Shandong Province and Molecular Characteristics of Their *gp85* Gene

CHEN Jing^{1,2}, WANG Bo¹, WANG Hai-ming¹, CHENG He-gang¹, WU Xing-chen¹, SUN Shu-hong^{1*}

(1. College of Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China;
2. Key Lab of Preventive Veterinary Medicine of Jiangsu Province, College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: In order to identify different subtypes of avian leukosis virus (ALV) and analyze the sequence of *gp85* gene, five ALV strains isolated from local chicken breeds in Shandong Province (Shouguang Chicken, Luhua Chicken, Bairi Chicken, Langya chicken, Luxi cock fighting) were amplified and sequenced. The prevailing subgroup of ALV and molecular characteristic of *gp85* gene were identified. The sterile anticoagulant blood of Shouguang Chicken, Luhua Chicken, Bairi Chicken and the egg albumen from Langya chicken, Luxi cock fighting were inoculated onto CEF to culture nine to ten days. Proviral DNA was processed routinely. The *gp85* and *env* genes were amplified by using primers subgroup J of ALV (ALV-J) *gp85* (924 bp) and A-J group primers (encoding envelope protein containing *env* gene, 2 400 bp). The specific products of PCR amplification were cloned, sequenced and analyzed. The study found that the five groups of local chickens from Shandong Province were infected with ALV-J during 2009 and 2011. The homology of the

收稿日期: 2013-09-25

基金项目: 国家公益性行业(农业)科技专项(201203055); 江苏省动物预防医学重点实验室开放课题

作者简介: 陈 静(1987-), 女, 河北唐山人, 硕士生, 主要从事家禽肿瘤病研究, E-mail: jingxiaying2006@163.com

* 通信作者: 孙淑红, E-mail: sunshuhong@sdau.edu.cn

five ALV-J isolates was between 98.4% and 99.9%. Comparing with prototype strains HPRS-103, the homology was ranged from 97.8% to 98.3%. All of the five endogenous ALV (ALV-E) fragments were amplified, which has a great agreement with ev-1, ev-3, and ev-6 strains that cannot produce infectious virion. It is presumed that these fragments come from the chicken genome. Meanwhile, we also found that Langya and Luhua chicken were infected with subgroup A of ALV (ALV-A). This study showed that ALV-J existed in five groups of local chicken breeds in Shandong Province from 2009 to 2011. The co-infection of ALV-A and ALV-J was discovered in Langya chicken and Luhua chicken, while ALV-E fragments existed in all lines of five local chickens, which reveals that the purification work of ALV for local chicken breeds in Shandong Province will face more challenge.

Key words: local chicken breeds; avian leukosis virus (ALV); *gp85* gene; molecular characteristic

禽白血病毒 (avian leukosis virus, ALV) 属于反转录病毒科 α 反转录病毒属。根据干扰模式、宿主类型、病毒中和作用, ALV 可划分为 10 大亚型, 其中能感染家禽的只有 6 大亚型, 分别为 A、B、C、D、E、J^[1]。A 亚型 ALV (ALV-A)、B 亚型 ALV (ALV-B) 均为经典的 ALV, 引发淋巴细胞瘤。J 亚型 ALV (ALV-J) 于 20 世纪 80 年代末在肉用型鸡中分离得到^[2]。ALV-J 的致病性与传染性均高于其他亚型, 在引起禽的肿瘤病的同时, 造成感染鸡群生产性能下降、免疫抑制等情况, 给全球养禽业造成了重大经济损失。近些年, 虽然分离得到的 ALV-A、ALV-B 相对较少, 以 ALV-J 居多, 但由于中国地方品系鸡种类繁多, 经典 ALV 在地方品系中仍存在, 并威胁着地方品系鸡的发展。目前, 中国各种类型鸡群中普遍存在着不同亚型 ALV 感染^[3-4]。ALV 为 RNA 病毒, 由于基因组二聚体结构和反转录酶活性的作用, 反转录病毒通常有很高的突变频率和重组率, 重组能够发生在外源性病毒之间、外源性病毒和内源性病毒之间以及外源性病毒和非同源的细胞基因组之间^[5]。ALV-J 与其它亚型共感染以及 ALV-J 与其它肿瘤病共感染的病例也不断出现^[6-7]。

近些年, 中国地方品系鸡种的保护工作也逐渐受到重视, 寿光鸡、芦花鸡、百日鸡、琅琊鸡、鲁西斗鸡为山东五大地方品系鸡, 早已收录进中国地方名鸡库, 同样面临着保种的问题。本研究拟通过对 2009—2011 年间山东五大地方鸡 ALV 分离株进行 PCR 扩增、克隆、测序, 探究 ALV 的主要流行亚型及 *gp85* 基因分子特征, 补充其流行病学资料, 更好地为山东地方名鸡的保种工作提供技术保障。

1 材料与方法

1.1 病毒分离培养

2009—2011 年, 收集鲁西斗鸡 (DJ146)、琅琊鸡 (LYJ15) 的卵白, 百日鸡 (BR170)、芦花鸡 (LH091101) 和寿光鸡 (SG-1) 的无菌抗凝血, 无菌接种单层的鸡胚成纤维细胞 (CEF), 培养 9~10 d^[8]。

1.2 主要仪器和试剂

胰酶购自德国 MERCK 公司; 凝胶回收试剂盒为北京全式金公司产品; *Taq* DNA 聚合酶、dNTPs、DL2000 Marker、pMD18-T 载体等均购于 TaKaRa 公司; 其它常规试剂均为国产分析纯。

1.3 前病毒 DNA 的提取

将同一批扩毒培养的细胞, 用 PBS 清洗 1~2 遍, 加 500 μ L 组织抽提液, 5 μ L 蛋白酶 K, 55.5 $^{\circ}$ C 过夜消化。用常规方法提取 DNA^[9], 20 μ L ddH₂O 溶解, -20 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.4 ALV 的 PCR 扩增、克隆和测序

根据已发表的 ALV 引物^[10-11] (表 1) 进行 PCR 扩增。J-gp85 引物扩增目的条带为 924 bp, A~J 群引物扩增条带约为 2 400 bp。25 μ L 体系进行 PCR 扩增。J-gp85 引物反应条件: 预变性 95 $^{\circ}$ C 8 min; 95 $^{\circ}$ C 45 s, 50 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 45 s, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min。A-J 群引物扩增反应条件: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 95 $^{\circ}$ C 1 min, 57 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 2 min 40 s, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min。按胶回收试剂盒说明书进行胶回收, 凝胶电泳鉴定后, 与 Trans1-T1 连接, 挑取白色菌落, 摇菌 6 h 后进行 PCR 克隆鉴定。经鉴定阳性后送铂尚生物技术 (上海) 有限公司测序。每个品种送 5 个样品以保证测序的准确性。

表1 引物序列

Table 1 Sequences of primers

引物 Primers	上游引物 Forward primer	下游引物 Reverse primer	目的片段/bp Targeted fragment
J-gp85 引物 Primer of J-gp85	5'-GGGAGTTCATCTATT GCAACAACCAG-3'	5'-AGCGCCTG CTACGGTGGTGACC-3'	924
A~J 群引物 Group of primer to A-J	5'-CGAGAGTGGCTCGC GAGATGG-3'	5'-ACACTACATTTCCCCC TCCCTAT-3'	2 400

1.5 五大地方鸡 ALV 分离株与参考株的同源性、遗传进化树分析

用 DNASTar 5.0、CLUSTALW 1.8.3 对序列

进行剪切、同源性比对以及基因进化树分析。自 GenBank 上选取相关病毒基因序列(表2)与五大地方鸡 ALV 分离株序列进行分析比对。

表2 ALV 参考株序列

Table 2 References of ALV strains

毒株 Strains	年份 Origin year	病毒来源 Country	亚型 Subtype	登录号 Accession number
HPRS-103	1995	美国 USA	J	Z45390
ADOL-7501	2001	美国 USA	J	AY027920
NX0101	2001	中国 CHINA	J	AF307952
SD07LK1	2007	中国 CHINA	J	FJ215405
RAV-1	2005	法国 FRANCE	A	M37980
SDAU09E1	2009	中国 CHINA	A	HM452341
SDAU09E2	2009	中国 CHINA	A	HM452342
MAV-1	1993	法国 FRANCE	A	L10922
RSV-Schmidt Ruppin B	1998	美国 USA	B	AF052428
RAV-2	1985	美国 USA	B	M14902
RSV Pr-C	1985	美国 USA	C	V01197
SR-RSV-D	1992	日本 JAPAN	D	D10552
ev-1	2000	美国 USA	E	AY013303
ev-3	2001	美国 USA	E	AY013304
ev-6	2001	美国 USA	E	AY013305
RAV-0(ev-2)	1985	美国 USA	E	M12172
SG-1	2011	中国 CHINA	J	KF20128958
DJ146	2010	中国 CHINA	J	KF20128959
LH091101	2009	中国 CHINA	J	KF291259
BR170	2011	中国 CHINA	J	KF575331
LYJ15	2010	中国 CHINA	J	KF201290
LYJ15A	2010	中国 CHINA	A	KF575330
LH091101A	2009	中国 CHINA	A	KF375329
SG-1E	2011	中国 CHINA	E	KF575327
DJ146E	2010	中国 CHINA	E	KF575326
LYJ15E	2010	中国 CHINA	E	KF575328
LH091101E	2009	中国 CHINA	E	KF575325
BR170E	2011	中国 CHINA	E	KF612340

2 结果

2.1 山东五大地方鸡群中不同亚型 ALV 的鉴定

鲁西斗鸡(DJ146)、百日鸡(BR170)、寿光鸡(SG-1)、琅琊鸡(LYJ15)和芦花鸡(LH091101)均存在 ALV-J 感染,并同时扩增出约 2 400 bp 的 ALV-E 的片段。琅琊鸡(LYJ15)和芦花鸡(LH091101)均为 ALV-A 与 ALV-J 共感染,结果见表 3。

2.2 五大地方鸡 ALV 分离株与参考株的同源性、遗传进化树分析

结果见表 4、图 1。经同源性比较发现,五大地方鸡 ALV-J *gp85* 基因与白羽肉鸡 HPRS103 相似性为 97.8%~98.3%,而与海兰褐蛋鸡分离株 SD07LK1 相似性为 92.3%~93.2%。结果表明,五大 ALV-J 分离株虽属蛋鸡品系,但与白羽肉鸡 HPRS-103 同源性最近。LH091101A、LYJ15A

与 ALV-A 参考株(MAV-1、SDAU09E2)同源性最近,序列相似性分别为 95.5%、94.0%。

表 3 五大地方鸡感染不同亚型 ALV 的鉴定结果

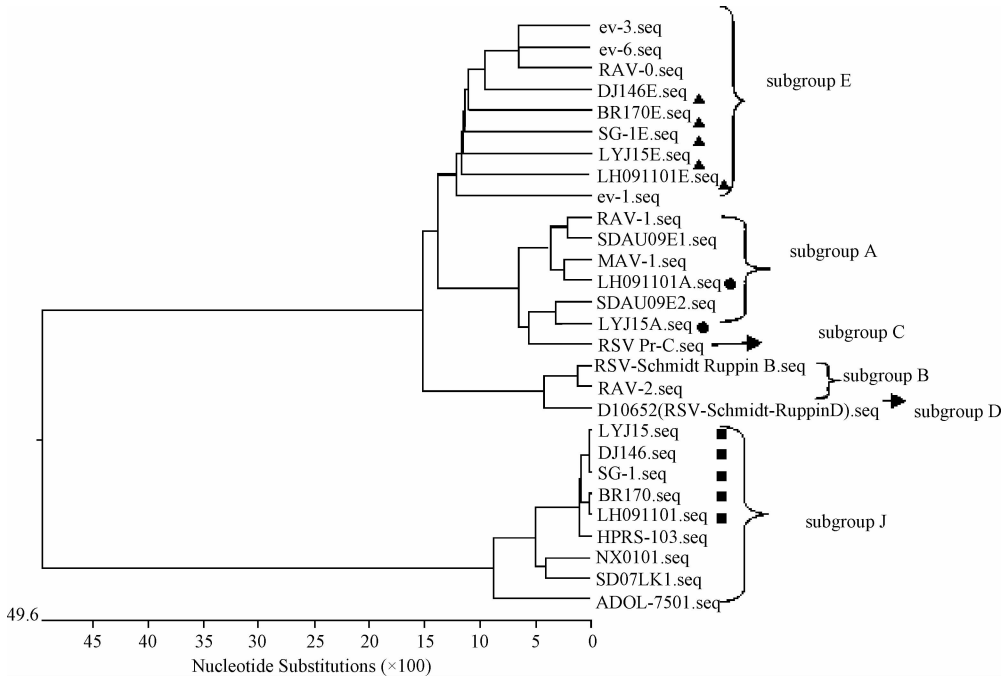
Table 3 The results of ALV infection in five local chicken breeders

品系 Strain	ALV-A	ALV-E	ALV-J
琅琊鸡(LYJ15) Langya chicken	+	+	+
鲁西斗鸡(DJ146) Luxi cock fighting	-	+	+
芦花鸡(LH091101) Luhua chicken	+	+	+
寿光鸡(SG-1) Shouguang chicken	-	+	+
百日鸡(BR170) Bairi chicken	-	+	+

表 4 不同 ALV 分离株与参考株的相似性分析

Table 4 Homology analysis between ALV isolates and reference strains

	SG-1	DJ146	BR170	LYJ15	LH091101	LYJ15A	LH091101A	SG-1E	DJ146E	LYJ15E	LH091101E	BR170E	%
RAV-1	50.2	50.3	50.2	50.0	50.2	87.1	92.3	93.3	93.2	93.4	93.4	93.2	
SDAU09E1	50.3	50.4	50.3	50.3	50.3	88.2	93.1	93.9	93.9	94.0	94.0	94.0	
SDAU09E2	49.9	49.8	49.9	49.9	49.9	94.0	90.4	89.5	89.4	89.5	89.5	89.4	
MAV-1	50.4	50.5	50.7	50.4	50.7	89.5	95.5	91.8	91.8	91.8	91.8	91.8	
R-S-R B	50.2	50.1	50.3	50.1	50.3	87.3	88.2	90.5	90.5	90.5	90.5	90.5	
RAV-2	50.2	50.1	50.1	50.1	50.1	84.9	85.4	88.3	88.5	88.3	88.3	88.5	
RSV Pr-C	50.1	50.0	50.3	50.1	51.3	90.0	89.0	91.2	91.2	91.2	91.2	91.2	
SR-RSV-D	51.8	51.7	51.9	51.7	51.9	87.7	88.8	91.5	91.4	91.5	91.5	91.4	
ev-1	51.1	51.2	51.4	51.1	51.4	87.0	92.1	99.4	99.3	99.4	99.4	99.3	
ev-3	51.0	51.1	51.2	51.0	51.2	87.0	92.2	99.3	99.3	99.3	99.3	99.3	
ev-6	50.7	50.8	50.9	50.7	50.9	87.0	92.0	99.2	99.9	99.2	99.2	99.9	
RAV-0(ev-2)	51.0	51.1	51.2	51.0	51.2	87.7	87.2	99.1	99.4	99.1	99.1	99.4	
HPRS-103	97.9	98.2	98.1	98.3	97.8	51.7	51.8	51.6	51.4	51.6	51.6	51.4	
ADOL-7501	87.2	87.4	87.1	87.5	85.9	48.7	49.1	49.8	49.3	49.8	49.8	49.3	
NX0101	93.4	93.5	93.7	93.7	93.7	50.3	50.9	51.1	51.5	51.1	51.1	51.1	
SD07LK1	92.9	93.1	92.5	93.2	92.3	50.3	50.4	50.7	49.6	50.7	50.7	50.5	



▲代表 ALV-E 分离株, ●代表 ALV-A 分离株, ■代表 ALV-J 分离株
 ▲ stands for ALV-E isolates, ● refers to ALV-A isolates, ■ stands for ALV-J isolates

图 1 五大地方鸡 ALV 分离株基因进化树
 Fig. 1 Phylogenetic tree of ALV isolates from five local chicken breeds

2.3 五大地方鸡 ALV-J 分离株 *gp85* 基因序列变异情况分析

山东五大地方鸡中均分离出了 ALV-J。为探究 ALV-J *gp85* 基因的变异情况,对 *gp85* 基因及

相对变异性高的区域 hr1、hr2 的 NS/S 比值进行了分析。5 个 ALV-J 分离株的 *gp85* 基因、hr1、hr2 的 NS/S 比值介于 0~1, 小于 2.5, 不存在免疫选择压作用^[12], 结果见图 2、表 5。

Majority	GVHLL QQPGNVWWTWANKTGRTDFCLSLQSATSPFRTCLI GI PQYPLNTFKGYVTNVTAC	
	10 20 30 40 50 60	
HPRS103.pro	GVHLL QQPGNVWWTWANKTGRTDFCLSLQSATSPFRTCLI GI PQYPLNTFKGYVTNVTAC	60
BR170.pro	60
LYJ15.pro	60
DJ146.pro	60
LH091101.pro	60
SG-1.pro	60
Majority	DNDADLASQTA CLI KALNTTLPWDPQELDI LGSQMI KNGTTRTCVTFGVSVCYKENNRSRV	
	70 80 90 100 110 120	
HPRS103.pro	DNNTDLASQTA CLI KALNTTLPWDPQELDI LGSQMI KNGTTRTCVTFGVSVCYKENNRSRV	120
BR170.pro	.. DA	120
LYJ15.pro	.. DA	120
DJ146.pro	.. DA	120
LH091101.pro	.. DA	120
SG-1.pro	.. DA	120
Majority	CHNFDGNFNGTGGA EAE LRDFI AKWKSDDLLI RPYVNSQSWTMVSPINVESFSI SRRYCGF	
	130 140 150 160 170 180	
HPRS103.pro	CHNFDGNFNGTGGA EAE LRDFI AKWKSDDLLI RPYVNSQSWTMVSPINVESFSI SRRYCGF	180
BR170.pro F..... A..... I.....	180
LYJ15.pro F..... A.....	180
DJ146.pro F..... A.....	180
LH091101.pro F..... A..... I.....	180
SG-1.pro F..... A..... G.....	180

图 2 五大地方鸡 ALV-J 分离株与原型毒株 HPRS-103 *gp85* 氨基酸比对结果
 Fig. 2 Sequence comparison of *gp85* at amino acid level between ALV-J isolated and prototype strain HPRS-103

表 5 五大地方鸡 ALV-J 分离株 *gp85* 基因 NS/S 比值分析结果

Table 5 The ration of NS/S of ALV-J isolated strains from five local chickens

毒株 Strains	<i>gp85</i>	hr1	hr2
BR170	1	0.33	1
LYJ15	0.8	0.33	1
DJ146	0.875	0.33	0
LH091101	0.9	0.33	2
SG-1	0.7	0.33	0

3 讨论

高玉龙等^[13]2009 年对湖北、黑龙江等 8 个省采集的 178 份病料进行分离鉴定,证实 ALV 的感染主要以 ALV-J 为主,ALV-A 和 ALV-B 同时存在。2010 年,赵成棣等^[6]研究证实地方品种鸡 HR 土鸡存在不同亚型 ALV 共感染,同时 ALV-A 和 ALV-J 共感染同一只鸡的现象已经发生。2011 年,张振杰等证实^[7]在地方品种鸡皖南黄种肉鸡中存在 ALV-J 与 REV 共感染现象。2013 年冷毕丹等^[14]发现广西麻(花)鸡、三黄鸡等多个优良地方品种鸡已普遍感染 ALV,且不同品种、不同品系的感染情况差异较大。从中国其他地方鸡群报道的 ALV 感染情况可以看出地方品系鸡 ALV 感染情况复杂,以 ALV-J 为主,但仍然存在经典 ALV 的感染以及 ALV-J 与经典亚型的共感染。本研究对 2009—2011 年对山东五大地方优质品种鸡群中的 ALV 鉴定发现,5 个品种鸡均存在 ALV-J 感染;ALV 分离株中均扩出内源性 ALV(ALV-E)片段,长度为 2 470~2 476 bp,与不能产生传染性病毒粒子的 *ev-1*、*ev-3*、*ev-6* 参考株^[15]同源性最高,推测为鸡基因组所携带;同时发现,琅琊鸡、芦花鸡存在 ALV-A 的感染。

ALV 的囊膜蛋白包含由 *env* 基因编码的 2 大糖蛋白:SU(表面蛋白, *gp85*)和 TM(跨膜蛋白, *gp37*)组成。SU 是病毒表面的球状结构,它决定了 ALV 的亚群特异性。*gp85* 基因变异性高,基因决定的变异主要发生在高变区和可变区,这些区域决定亚型的特异性和中和反应形式。相同来源的 *gp85* 基因,同源性高,差异小。

在 RNA 病毒、反转录病毒的研究中核苷酸突变和 NS/S 比值是研究抗原变异和选择压力强度的

两大最基本的参数^[16-17]。5 个 ALV-J 分离株的 NS/S 的比值小于 2.5,证明分离得到的 5 个 ALV-J 株变异小,免疫选择压强度低。本研究对五大山东优质地方名鸡用针对 ALV-J 的 *gp85* 引物以及 A~J 群引物对 ALV 的 *gp85*、*env* 基因进行克隆测序、分析。结果显示,五大品种鸡均存在 ALV-J 感染,它们之间的相似性为 98.4%~99.9%,与原型毒株 HPRS-103 相似性差异小,为 97.8%~98.3%。推测分离自五大地方名鸡的 ALV-J 来源于同一宿主,即国外的白羽肉鸡。在地方鸡中感染的 ALV-J 来源于同一宿主,且变异小的现象,提示 ALV-J 已经开始在地方品系鸡中传播,可能与种鸡场管理不规范,不同类型不同来源种鸡混养有关,造成了 ALV-J 从白羽肉鸡传播到蛋用型鸡以及地方品系鸡。另外与早期用快大型鸡对地方品系改良也不无关联。

4 结论

山东五大优质地方名鸡均感染了 ALV-J,目前困扰山东地方鸡的 ALV 主要为 ALV-J;芦花鸡与琅琊鸡群中存在 ALV-A、ALV-J 的共感染;同时五大地方鸡 ALV-E 的片段广泛存在,提示山东省优质名鸡的禽白血病净化工作更加具有挑战性。

参考文献:

- [1] PAYNE L N, BROWN S R, BUMSTEAD N, et al. A novel subgroup of exogenous avian leucosis virus in chickens [J]. *J Gen Virol*, 1991, 72(4): 801-807.
- [2] FADLY A M, SMITH E J. Isolation and characteristics of subgroup J-like avian leukosis virus associated with myeloid leukosis in meat-type chickens in the United States [J]. *Avian Dis*, 1999, 43(3): 391-400.
- [3] 王鑫, 赵鹏, 崔治中. 我国地方品种鸡分离到的一个禽白血病病毒新亚群的鉴定[J]. *病毒学报*, 2012, 28(6): 609-614.
- [4] 崔治中. 中国鸡群病毒性肿瘤病鸡防控研究[M]. 北京: 中国农业出版社, 2012: 15-16.
- [5] 张青婵. A 亚群禽白血病病毒不同分离株的基因组和生物学特性比较[D]. 泰安: 山东农业大学, 2010.
- [6] 赵成棣, 王波, 王健, 等. 地方品系 HR 土鸡不同亚型禽白血病病毒的共感染[J]. *中国预防兽医学报*, 2012, 34(3): 172-175.
- [7] 张振杰, 刘少琼, 王波, 等. 地方品系皖南黄肉种鸡 ALV-J 与 REV 的共感染及其分子变异分析[J]. *中国*

- 农业科学,2011,44(11):2379-2386.
- [8] 张 志,崔治中,赵宏坤.我国 2000-2001 年 J 亚群禽白血病病毒分离株 *gp85* 基因的序列比较[J].中国兽医学报,2003,23(1):25-27.
- [9] 萨姆布鲁克 J,弗里奇 E F,曼尼阿蒂斯芬 T.分子克隆实验指南[M].2 版.金冬雁,黎孟枫,侯云德,等译.北京:科学出版社,1995:464-467.
- [10] 代 阳,杨其峰,王 波,等.不同地区海兰褐蛋鸡中 J 亚群-禽白血病病毒株株 *gp85* 基因的分子演化分析[J].畜牧兽医学报,2010,41(5):635-638.
- [11] SILVA R F, FADLY A M, TAYLOR S P. Development of a polymerase chain reaction to differentiate avian leukosis virus (ALV) subgroups: detection of an ALV contaminant in commercial Marek's disease vaccines [J]. *Avian Dis*, 2007, 51(3):663-667.
- [12] VENUGOPAL K, SMITH L M, HOWES K, et al. Antigenic variants of J subgroup avian leukosis virus: sequence analysis reveals multiple changes in the env gene [J]. *J Gen Virol*, 1998, 79(Pt4):757-766.
- [13] 高玉龙,邵华斌,罗青平,等.2009 年我国部分地区禽白血病分子流行病学调查[J].中国预防兽医学报,2010,32(1):32-35,43.
- [14] 冷毕丹,吴元俊,秦丽莉,等.广西主要地方优良品种鸡禽白血病的感染情况调查[J].广西畜牧兽医,2013,29(3):148-149.
- [15] JOHNSON J A, HENEINE W. Characterization of endogenous avian leukosis viruses in chicken embryonic fibroblast substrates used in production of measles and mumps vaccines [J]. *J Virol*, 2001, 75(8):3605-3612.
- [16] SHPAER E G, MULLINS J I. Rates of amino acid change in the envelope protein correlate with pathogenicity of primate lentiviruses [J]. *J Mol Evol*, 1993, 37(1):57-65.
- [17] PRICE D A, GOULDER P J, KLENERMAN P, et al. Positive selection of HIV-1 cytotoxic T lymphocyte escape variants during primary infection [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94(5):1890-1895.

(编辑 白永平)