

猪伪狂犬病综合诊断及分离毒株 gE 和 TK 基因遗传变异分析

曹龙龙^{1,2#} 刘照虎^{1,2#} 刘方峰³ 孟凡亮^{1,2} 李焱^{1,2} 焦秋林^{1,2}
姜子昕^{1,2} 杨玉栋^{1,2} 李宝全^{1,2*} 刘思当^{1,2*}

(¹山东农业大学动物科技学院, 泰安 271018; ²山东省动物生物工程与疾病防治重点实验室, 泰安 271018;

³山东省新泰市龙延镇兽医站, 泰安 271200)

摘要 2012年以来, 许多使用 gE 基因缺失活疫苗免疫过的猪场广泛性出现伪狂犬病毒(PRV)感染, gE 抗体阳性率不断升高, 伪狂犬典型病例不断增加。2018年3月鲁南地区几个种猪场先后发生疑似伪狂犬病疫情, 怀孕母猪流产、产死胎和木乃伊胎, 仔猪出现神经症状且死亡率高。通过对病死猪及死胎剖检进行初步诊断, 取病料进一步进行病理组织学诊断及病毒分离鉴定。结果显示, 病死猪均可见病毒性脑炎、肝细胞变性坏死及淋巴组织坏死等病理变化, 在病变的神经元、肝细胞、扁桃体隐窝上皮细胞等细胞核内见红染包涵体。对分离到的4株PRV进行了 gE 和 TK 基因的序列测定及遗传变异分析发现, 4株PRV的 gE 和 TK 核苷酸序列的同源性分别为98.8%~99.3%和98.9%~99.6%, 与国内流行毒株其核苷酸序列的同源性分别99.1%~99.7%和98.6%~99.8%, 与匈牙利和美国等流行毒株核苷酸序列的同源性分别为97.3%~97.8%和98.8%~99.5%, 表明4株分离株高度同源, 与国内PRV变异株处在同一分支, 而与匈牙利和美国等毒株遗传距离较远。传统疫苗对PRV变异毒株不能提供有效保护, 给猪场伪狂犬病的防控和净化工作带来了新的挑战。

关键词 伪狂犬病; 病理学诊断; gE 基因; TK 基因; 遗传变异分析

Comprehensive Diagnosis of Pseudorabies in Pigs and Analysis of Genetic Variation of gE and TK Genes in Isolated Strains

CAO Longlong^{1,2#}, LIU Zhaohu^{1,2#}, LIU Fangfeng³, MENG Fanliang^{1,2}, LI Yan^{1,2}, JIAO Qiulin^{1,2},
JIANG Zixin^{1,2}, YANG Yudong^{1,2}, LI Baoquan^{1,2*}, LIU Sidang^{1,2*}

(¹College of Animal Science and Technology, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China;

²Shandong Key Laboratory of Animal Bioengineering and Disease Control, Taian 271018, China;

³Veterinary Station, Longyan Town, Xintai City, Shandong Province, Taian 271200, China)

Abstract Since 2012, many pig farms immunized with gE gene deleted live vaccines have been extensively infected with PRV (pseudorabies virus), and the positive rate of gE antibody has been increasing, and the typical cases of pseudorabies have been increasing. In March 2018, suspected pseudorabies occurred in several breeding pig farms in Lunan region of Shandong province. Pregnant sows miscarried, stillborn and mummified fetuses, and

收稿日期: 2019-01-04

接受日期: 2019-10-09

国家重点研发计划(批准号: 2017YFD0500600)资助的课题

#共同第一作者

*通讯作者。Tel: 13905388709, E-mail: libq72@163.com; liusid@sda.edu.cn

Received: January 4, 2019

Accepted: October 9, 2019

This work was supported by the National Key Research and Development Programme (Grant No.2017YFD0500600)

#These authors contributed equally to this work

*Corresponding authors. Tel: +86-13905388709, E-mail: libq72@163.com; liusid@sda.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5151>

piglets showed neurological symptoms and high mortality rate. A preliminary diagnosis was carried out on the dead pigs and dead embryos, and the histopathological diagnosis, virus isolation and identification were further carried out. The results showed that pathological changes such as viral encephalitis, degeneration and necrosis of hepatocytes and lymphoid tissue necrosis were all observed in the dead pigs. Red stained inclusion bodies were found in the nucleus of the neurons, hepatocytes and tonsil crypt epithelial cells. The sequence analysis and genetic variation analysis of the *gE* and *TK* genes of the four strains of PRV isolated showed that the homology of the *gE* and *TK* nucleotide sequences of the four strains of PRV were 98.8%-99.3% and 98.9%-99.6%, respectively. The identity with the nucleotide sequences of the domestic strains were 99.1%-99.7% and 98.6%-99.8%, and the similarity with the nucleotide sequence of Hungarian and American strains were 97.3%-97.8% and 98.8%-99.5% respectively, which indicated that the four isolated strains are highly homologous, and they are in the same branch with the domestic PRV mutants, while they are far away from the Hungarian and American strains in the distance of inheritance. The traditional vaccine cannot provide effective protection for the mutant strains of PRV, which brings new challenges to the prevention and purification of eradication in pig farms.

Keywords pseudorabies; pathological diagnosis; *gE* gene; *TK* gene; genetic variation analysis

猪伪狂犬病是一种由伪狂犬病毒(pseudorabies virus, PRV)引起的高死亡率的急性传染病^[1]。该病最早发现于美国, 后由匈牙利学者奥耶斯基(Aujesky)首次分离到PRV, 因而又被称为奥耶斯基病^[2]。PRV可侵害各日龄的猪, 病毒可在健康猪的嗅球、三叉神经节和其他神经组织中潜伏。不同日龄的猪感染表现明显不同的临床症状, 仔猪高度易感, 15日龄内的仔猪发病率可达100%, 主要表现为拉稀、呕吐、严重神经症状及高死亡率; 生长育肥猪主要表现为发热及呼吸道症状, 类似流感; 妊娠母猪出现流产、产死胎和弱仔等现象; 感染公猪主要表现为睾丸炎症状^[3-5]。2011年之前由于gE基因缺失疫苗Bartha-K61的普遍应用, 配合gE-ELISA鉴别诊断方法的使用, PR在我国得到了有效的控制, 部分猪场实现了该病的净化。但自2012年以来, 我国各地Bartha-K61疫苗免疫猪群的gE抗体阳性率普遍升高, 部分猪场相继发生伪狂犬病疫情, 并陆续分离到病毒^[6-9]。研究表明, 分离毒株抗原性与传统毒株相比发生明显变异形成(variant PRV, vPRV), 使得PRV传统疫苗免疫后诱导产生的抗体, 不能有效中和新分离毒株, 从而无法对猪只形成完全的保护^[10-12]。

2018年3月, 鲁南地区几个种猪场先后发生疑似伪狂犬病疫情, 怀孕母猪流产、产死胎和木乃伊胎, 仔猪出现神经症状及高死亡率。本研究通过对病死猪及死胚剖检、病理组织学及病毒分离鉴定, 确诊伪狂犬病毒引起此次疫情。并对分离到的4株PRV进行了gE和TK基因的序列测定及遗传变异分

析。为科学认识当前我国猪群中流行的PRV提供参考。

1 材料与方法

1.1 病料来源与处理

2018年3月, 常规免疫PRV gE/gI双基因缺失Bartha-K61疫苗的稳定猪场突然发生疑似伪狂犬疫情, 怀孕母猪流产率突然超过10%, 哺乳仔猪发病死亡率极高, 并伴有神经症状。剖检病猪并采集4份病料, 每份病料均含脑、肝、脾、肾、肺、淋巴结及扁桃体组织。将每份病料分为两部分, 一部分于10%福尔马林溶液固定, 常规石蜡切片, HE染色, 进行病理组织学检查, 另一部分进行病毒检测及分离鉴定。实验通过山东农业大学动物科技学院伦理委员会批准。

1.2 主要实验材料

DL2000 DNA marker、2× GC缓冲液、dNTP、rTaq酶、ddH₂O购自TaKaRa宝生物工程(大连)有限公司; Easy Pure Viral RNA/DNA Extraction kit、TRANS1-T1感受态细胞、pEASY-T1 SIMPLE Cloning Vector载体购自北京全式金生物技术有限公司; DMEM培养基、胎牛血清(FBS)购自Gibco公司; 胶回收试剂盒(DNA Gel Extraction Kit)购自江苏康为世纪生物科技有限公司; 琼脂糖(Agarose)购自Sigma试剂公司; BHK-21细胞由本实验室冻存。

1.3 引物设计

根据GenBank中登录的CSFV(classical swine fever virus)、PRRSV(porcine reproductive and respiratory

表1 病原检测引物序列

Table 1 Primer sequences used for different viruses

病原 Pathogen category	引物序列(5'→3') Primers (5'→3')	退火温度/°C Annealing temperature /°C	扩增大小/bp Fragment size /bp
CSFV	F-ARA CCA YGC AYA TGW CAG AAG TAC C R-TRT CGA CTT CCC TGG TTT CAC TTG	57	599
PRRSV	F-CAA AGA YCA GAT GGA GGA G R-ATR ATG GCT TGA GCT GAG	55	372
PRV	F-TCC ACT CGC AGC TCZ TTC T R-GCA CGT CAT CAC GAA GGA	57	632
PCV2	F-TAG GTT AGG GCT GTG GCC TT R-CCG CAC CTT CGG ATA TAC TG	52	260
PRV <i>gE</i>	F-ATG CGG CCT TTC TGC TGC GCG R-TTA AGC GGG GCG GGA CAT CAA C	63	1 740
PRV <i>TK</i>	F-ATG CGC ATC CTC CCG GAT CTA R-TCA CAC CCC CAT CTC CCG ACG A	57	963

syndrome virus)、PRV(porcine pseudorabies virus)和PCV2(porcine circovirus 2)的全基因序列,使用Primer Premier 5.0引物设计软件分别设计用于鉴别CSFV、PRRSV、PRV和PCV2的鉴定引物以及*gE*和*TK*的全长引物,引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。引物序列见表1。

1.4 病原检测

将新鲜病料组织剪碎后取适量加入灭菌PBS研磨成匀浆, -80 °C反复冻融3次后, 9 000 r/3 min高速离心, 然后取上清使用杭州睿博兴科DNA/RNA Extraction kit(批号: BSC67M1)提取病毒核酸。以提取的核酸作为模板进行CSFV、PRRSV、PRV、PCV2病原鉴定。

1.5 病毒分离

将经过PCR鉴定为PRV阳性的病料研磨液上清经0.22 μm滤器过滤后, 接种于密度约80%的单层BHK-21细胞, 盲传三代后收毒, 将细胞及上清。

1.6 PRV *gE*和*TK*基因序列分析

按说明书提取核酸后, 进行PCR扩增鉴定。将鉴定为阳性的核酸利用PRV *gE*和PRV *TK*基因全长引物, 进行PRV *gE*和PRV *TK*基因全长的PCR扩增。将扩增产物进行胶回收、连接pEASY-T1 SIMPLE Cloning Vector载体、转化TRANS1-T1感受态细胞及增菌培养, 然后将鉴定为PRV *gE*和PRV *TK*基因阳性的菌液送到生工生物工程(上海)股份有限公司测序。利用DNASar 7.1软件对本研究中分离到的毒株和GenBank中录入的PRV参考毒株的PRV *gE*和

PRV *TK*基因进行核苷酸序列及推导氨基酸序列的比对分析, 以便得出分离毒株的序列特征。同时构建遗传进化树, 比较分离株与参考株亲缘关系的远近。

2 结果

2.1 剖检及病理组织学观察

剖检病猪发现, 大脑严重充血、出血(图1A); 脾脏密布米粒样白色坏死灶(图1B); 扁桃体轻微红肿且布满灰白色坏死灶(图1C); 肝脏上散落灰白色坏死灶(图1D)。

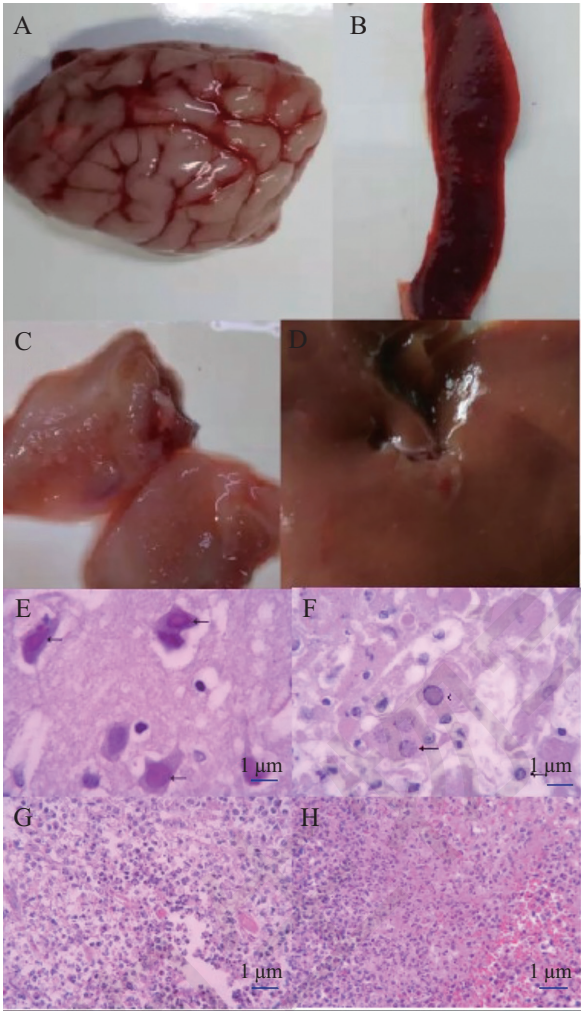
组织切片在镜下观察可见脑血管充血, 血管周围淋巴细胞袖套样浸润, 神经元变性肿胀, 核内有红染包涵体(图1E); 肝细胞变性坏死并见红染的核内包涵体(图1F); 扁桃体淋巴组织灶状坏死, 隐窝上皮细胞坏死脱落, 出现红染的核内包涵体(图1G); 脾脏出血性坏死性炎症, 炎性细胞出现大量红染包涵体(图1H)。

2.2 病原检测结果

4份病料的PCR检测结果显示, 仅在PRV单泳道出现了条带, 条带大小约632 bp与预期相符, 其他泳道并未出现条带, 判定PRV阳性(部分样品结果见图2)。

2.3 病毒分离鉴定

将4份经过PCR鉴定为PRV阳性的病料匀浆液上清经0.22 μm滤器过滤后, 接种于长满单层的BHK-21细胞, 均可见细胞圆缩、聚集、脱落和出现合胞体等

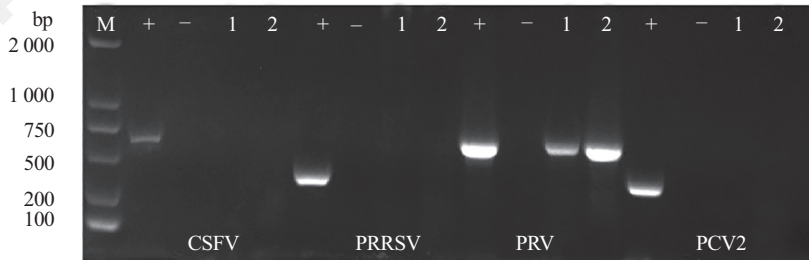


A: 脑充血、出血; B: 脾脏密布白色坏死灶; C: 扁桃体布满白色坏死灶; D: 肝脏散落灰白色坏死灶; E: 神经元变性肿胀, 核内有红染包涵体; F: 肝细胞变性坏死并见核内包涵体; G: 扁桃体淋巴组织坏死, 隐窝上皮细胞坏死脱落并见核内包涵体; H: 脾脏出血性坏死性炎症, 炎性细胞出现大量红染包涵体。箭头处代表病理变化。

A: cerebral hyperemia and hemorrhage; B: the spleen was covered with white necrotic foci; C: the tonsils were covered with white necrotic foci; D: the liver was scattered with gray and white necrotic foci; E: the neurons were degenerative and swollen, and there were red stained inclusion bodies in the nucleus; F: hepatocyte degeneration and necrosis and nuclear inclusion bodies; G: tonsil lymphoid tissue necrosis, crypt epithelial cell necrosis and nuclear inclusion body; H: hemorrhagic necrotizing inflammation of spleen, large number of red stained inclusion bodies in inflammatory cells. The arrows represent pathological changes.

图1 剖检病变和病理组织学变化

Fig.1 Gross lesions and histopathological changes

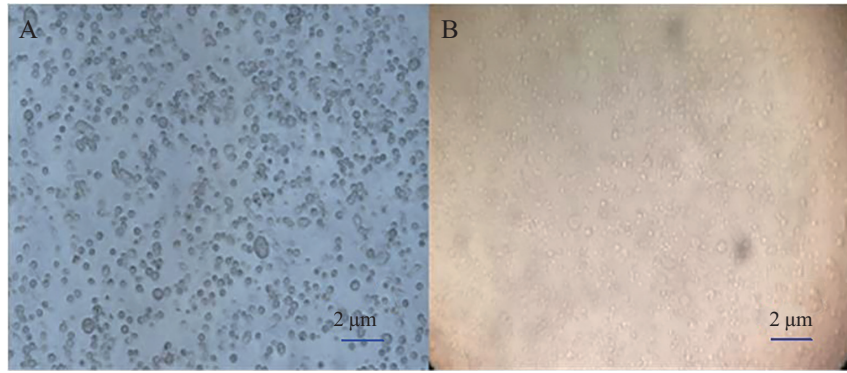


M: DL2000DNA marker; +: 阳性对照; -: 阴性对照; 1、2:部分检测样品。

M: DL2000 DNA marker; +: positive control; -: negative control; 1,2: partial test sample.

图2 部分样品琼脂糖凝胶电泳图

Fig.2 Agarose gel electrophoresis results of partial samples



A: 接种BHK-21细胞24 h后出现细胞脱落和合胞体; B: 接种BHK-21细胞24 h后出现圆缩、聚集。

A: BHK-21 cells exfoliated 24 hours after inoculation, syncytial; B: BHK-21 cells shrunk and gathered 24 hours after inoculation.

图3 分离病毒在BHK-21上引起的细胞病变

Fig.3 CPE caused by the isolated PRV on BHK-21 cells

典型PRV细胞病变(图3A和图3B)。盲传三代后收毒, PCR扩增鉴定全部为阳性。将4株PRV分别命名为LYA、LYC、LYM、LYJ, 并进行了 gE 、 TK 基因全序列扩增。

2.4 gE 和 TK 基因的扩增及同源性分析

将获得的4株PRV毒株的 gE 和 TK 基因进行同源性分析。 gE 基因的同源性结果: 4株PRV分离株之间核苷酸序列的同源性为98.8%~99.3%, 与国内流行毒株其核苷酸序列的同源性为99.1%~99.7%, 与匈牙利和美国等流行毒株其核苷酸序列的同源性为97.3%~97.8%, 4株分离株与国内报道的PRV变异株的核苷酸序列的同源性均高于欧美国家毒株。 TK 基因的同源性结果: 4株PRV分离株之间核苷酸序列的同源性为98.9%~99.6%, 与国内流行毒株其核苷酸序列的同源性为98.6%~99.8%, 与匈牙利和美国等流行毒株其核苷酸序列的同源性为98.8%~99.5%, 4株分离株与中国报道的PRV变异株的核苷酸序列的同源性均高于匈牙利和美国等毒株。

将获得的4株PRV毒株的 gE 和 TK 基因构建遗传进化树。 gE 基因进化关系显示: 本研究分离到的4株毒株遗传距离较近, 与国内之前报道的HeB2013、JS-2012、HeN2012等变异株的亲缘关系较近, 且处于同一个大的分支上, 形成1个亚洲毒株进化群^[13]。而与疫苗株Hungary 2011(Bartha-K61株)、Spain 2008、Rice 1986、USA 2011等匈牙利和美国等毒株的遗传距离较远。再从时间上看, 包括本实验在内的所有国内分离株呈现一定的时间特性, 即以2012年为节点形成了两个不同的进化分枝(图4A)。 TK 基因的遗传进化关系和 gE 基因的相似, 但由于 TK 基因的高度

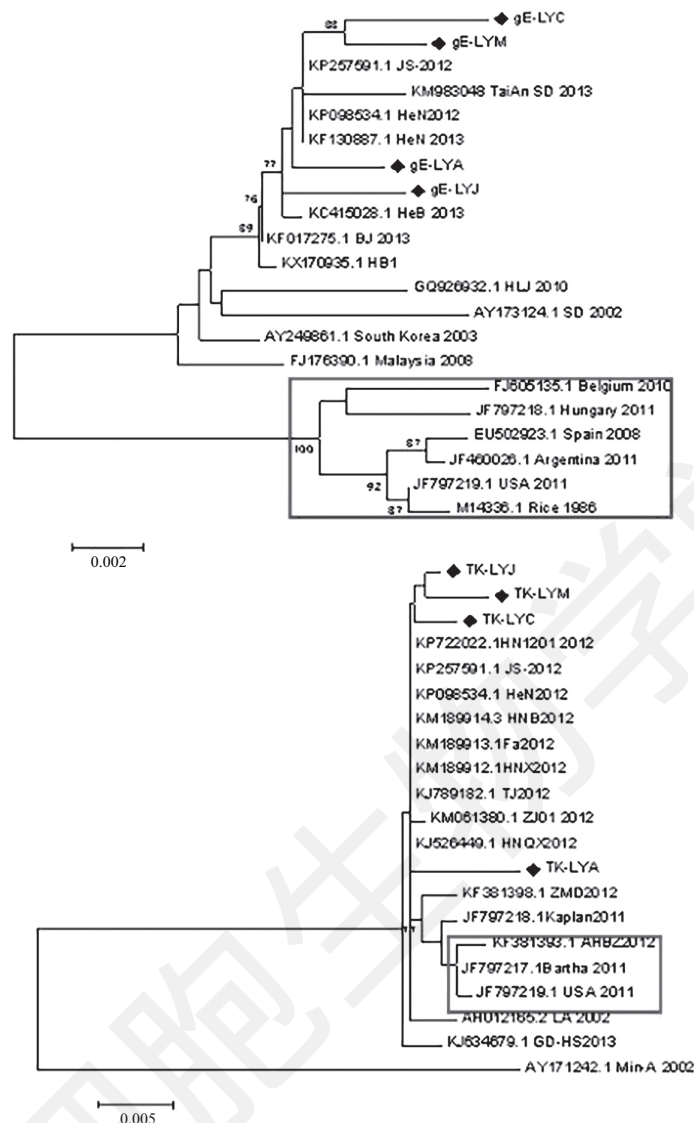
保守性, 毒株间的遗传距离较近(图4B)。

2.5 gE 和 TK 基因序列分析

Bartha株的氨基酸位点为参考, 比对分析 gE 基因的氨基酸序列显示如图5A所示。本实验分离株和国内流行的参考株都在B抗原表位的54位氨基酸由G突变成D、59位氨基酸由D突变成N, 都在疏水残基的448位氨基酸由I突变成V, 在亲水残基的471位氨基酸由G突变成R、473位氨基酸由R突变成H, 在亲水残基的507位氨基酸由A突变成I, 在亲水残基的520位氨基酸由V突变成A, 亲水残基的524位氨基酸由A突变成P。本实验分离株LYC在第431位的疏水残基上由F突变成A, LCJ在第440位疏水残基上由M突变成V。本实验分离的LYM、LYC和国内参考毒株JS2012等都在510位的亲水残基由G突变成S, 而本实验分离的LYA在该位置突变成C。

同上比对 TK 基因的氨基酸序列如图5B所示。本实验分离株LYM发生突变的位点分别是116位由V突变成W、118位由P突变成Q。本实验分离株LYA发生突变的位点分别是22位由M突变成I、31位由V突变成L、49位由G突变成S、79位由A突变成P。本实验分离株LYC发生突变的位点分别是46位由T突变成A、248位由D突变成P。

本实验分离株与国内之前报道的毒株之间突变位率较低, 而与欧美流行株突变率较高, 可以说本实验分离株与当前国内流行毒株同属于国内流行变异株的新流行毒株。分离株在疏水残基和亲水残基上分别发生突变, 这些具有跨膜功能的疏水残基和亲水残基发生大量变化则会影响病毒对细胞的入侵, 进而影响病毒毒性。



A: *gE*基因遗传进化树; B: *TK*基因遗传进化树; ◆: 本实验分离株; □: 匈牙利和美国等流行株;
A: *gE* gene genetic evolution tree; B: *TK* gene genetic evolution tree; ◆ for isolated strain; □ for Hungarian and American epidemic strains;

图4 *gE*和*TK*基因遗传进化树

Fig.4 Phylogenetic trees of *gE* and *TK* genes

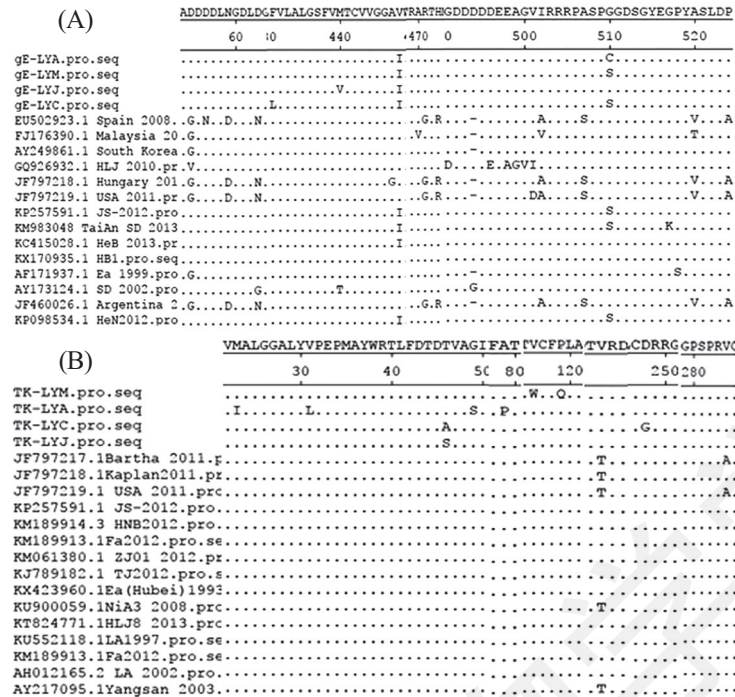
3 讨论

自1986年第1个PRV基因缺失疫苗上市以来, 各类基因缺失疫苗亦相继投入使用, 使得PR在一定程度上得到控制^[4]。但目前我国新流行的vPRV给我 国养猪业造成了不可估量的危害, 并且让伪狂犬病的净化工作变得越来越困难。因此, 研究新流行的vPRV关键基因的遗传变异, 丰富vPRV的分子生物学资料, 对研发新型伪狂犬病疫苗具有重要意义。

本研究基于鲁南地区突然出现大量猪场爆发猪伪狂犬病, 对发病猪只进行病理组织学观察表明, 病死猪具有符合伪狂犬病的组织学病理学特征, 尤其是神经元及肝细胞核内红染包涵体较为典型。这

说明, 该流行毒株具有极强的致病力, 使常规免疫猪群爆发伪狂犬病疫情, 其病毒来源及疫病诱发因素有待于进一步调查分析。

有研究表明, 所有国内分离株在*gE*基因的氨基酸序列上的B抗原表位都发生了大量突变, 而本实验分离株是在疏水残基和亲水残基上分别发生突变。综合结果可以得出, 国内毒株在抗原性上发生了一定变化。从*gE*基因的同源性和进化关系上看, 4株分离株之间高度同源与国内2012年以后报道的HeN2013、JS-2012、HeN2013等变异株的亲缘关系较近, 处于同一个大的分支上。而与Spain 2008、Argentina 2011(Kaplan)、USA 2011等匈牙利和美国



A: *gE*基因突变位点; B: *TK*基因突变位点。

A: the mutation site of *gE* gene; B: the mutation site of *TK* gene.

图5 *gE*和*TK*基因突变位点

Fig.5 Mutation sites in *gE* and *TK* genes

等毒株以及疫苗株Hungary 2011(Bartha-K61株)的遗传距离较远,与马震原等^[15]和庞旋飞等^[16]研究的地方毒株有相同特点。*TK*基因的同源性、进化关系与*gE*基因类似,但遗传距离更近。这些基因特征预示着鲁南地区PRV沿着国内流行毒株的方向进化,因此这些新的变异株,与之前的报道国内毒株一起充分丰富了鲁南地区的病毒库^[17]。

本研究结果进一步验证了地方毒株在不断地发生变异,传统疫苗株已经不能对我国多个地区新流行的PRV变异毒株提供有效保护^[18]。这些给我国猪场伪狂犬病的防控和净化工作的带来了新的挑战,研究符合鲁南地区病毒特征的疫苗势在必行。

参考文献 (References)

- [1] 于康震, 白文彬. 动物传染病诊断学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [2] (美)斯特劳等主编, 赵德明等译. 猪病学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2008.
- [3] 陈磊, 张普安, 李岩, 等. 猪伪狂犬病研究进展[J]. 动物医学进展(CHEN L, ZHANG P A, LI Yan, et al. Research progress of porcine pseudorabies [J]. Advances in Animal Medicine), 2004, 25(5): 51-5.
- [4] 刘景华, 殷震, 动物病毒学[M], 2版. 北京: 科学出版社, 1997.
- [5] 斯特劳 B E, 阿莱尔 S D, 蒙加林 W L, 等. 猪病学, 8版[M]. 北

京: 中国农业大学出版社, 2000.

- [6] YU X, ZHOU Z, HU D, et al. Pathogenic pseudorabies virus, China, 2012 [J]. Emerging Infectious Diseases, 2014, 20(1): 102-4.
- [7] WU R, BAI C, SUN J, et al. Emergence of virulent pseudorabies virus infection in Northern China [J]. J Vet Sci, 2013, 14(3): 363-5
- [8] 童武, 张青占, 郑浩, 等. 免疫后发病仔猪中伪狂犬病毒的分离和鉴定[J]. 中国动物传染病学报(TONG W, ZHANG Q Z, ZHENG H, et al. Identification and characterization of a pseudorabies virus isolated from a dead piglet born to vaccinated sow [J]. Chinese Journal of Animal Infectious Diseases), 2013, 21(3): 5-11.
- [9] AN T Q, PENG J M, TIAN Z J, et al. Pseudorabies virus variant in Bartha-K61: vaccinated pigs, China, 2012 [J]. Emerging Infectious Diseases, 2013, 19(11): 1749-55.
- [10] 彭金美, 安同庆, 赵鸿远, 等. 猪伪狂犬病毒新流行株的分离鉴定及抗原差异性分析[J]. 中国预防兽医学报(PENG J M, AN T Q, ZHAO H Y, et al. Identification and antigenic variation of new epidemiology of pseudorabies virus from swine [J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine), 2013(1): 7-10.
- [11] 杨文萍, 顾真庆, 孙海凤, 等. 伪狂犬病毒流行毒株的抗原性和血清中和特性分析[J]. 畜牧与兽医(YANG W P, GU Z Q, SUN H F, et al. Antigenicity and serum neutralization characterization of the epidemic strain of pseudorabies virus[J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine), 2014, 46(10): 11-4.
- [12] 刘曜隆, 芮萍, 王秋悦, 等. 猪流行伪狂犬病毒*gE*基因检测及生物信息学分析[J]. 中国兽医学报(LIU Y Z, RUI P, WANG Q Y, et al. Detection and bioinformatics analysis of *gE* gene of epidemic swine pseudorabies virus [J]. Chinese Journal of Veteri-

- nary Science), 2015, 35(4): 536-9,44.
- [13] 古金元, 马梓承, 彭涛, 等. 山东省部分地区猪伪狂犬病病毒分离鉴定及其gE基因遗传变异分析[J]. 中国兽医学报(GU J Y, MA Z C, PENG T, et al. Isolation, identification and phylogenetic analysis of gE gene of pseudorabies virus in parts of Shandong province [J]. Chinese Journal of Veterinary Science), 2019, 39(1): 21-4,30.
- [14] KAAR W, AHRER K, ASTRID D, et al. Refolding of N-pro fusion proteins [J]. Biotechnol Bioeng, 2009, 104(4): 774-84.
- [15] 马震原, 李宁, 闫若潜, 等. 猪伪狂犬病病毒变异毒株HeNZK-2014的分离鉴定及gE基因序列分析[J]. 中国畜牧兽医(MA Z Y, LI N, YAN R Q, et al. Isolation and identification of variant HeNZK-2014 of pseudorabies virus and sequence analysis of gE gene [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine), 2017, 44(7): 2086-95.
- [16] 庞旋飞, 练斯南, 伍建敏. 等. 伪狂犬病病毒FS-2015株gE和gB基因序列分析[J]. 中国畜牧兽医(PANG X F, LIAN S N, WU J M, et al. Sequence analysis of gE and gB genes of pseudorabies virus FS-2015 strain [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine), 2018, 45(12): 3524-34.
- [17] 侯文凤, 林辉, 王凤求, 等. 伪狂犬病病毒GD1406变异株的抗原性分析[J]. 中国预防兽医学报(HOU W F, LIN H, WANG F Q, et al. Antigenic analysis of pseudorabies virus variant strain GD1406 [J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine), 2018, 40(7): 621-5.
- [18] 华利忠, 刘剑锋, 冯志新, 等. 猪伪狂犬病病毒新流行变异毒株的研究进展[J]. 江苏农业学报(HUA L Z, LIU J F, FENG Z X, et al. Progress in novel pseudorabies virus variants prevalent in China [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences), 2017, 33(2): 476-80.