

河南省猪瘟流行毒的 E₂ 基因序列分析和基因分型^{*}

薛青红^{1,2}, 刘湘涛¹, 杜守山², 张永国²,
韩雪清¹, 张彦明², 何学斌³, 庄淑珍², 谢庆阁¹

(1 中国农业科学院 兰州兽医研究所, 甘肃 730046; 2 西北农林科技大学 畜牧兽医学院, 陕西 杨陵 712100;

3 河南省周口地区动物检疫站, 河南 周口 466000)

[摘 要] 采用 RT-PCR 和 nPCR 扩增出 3 株河南省近期(1999~2000 年)猪瘟流行野毒的 E₂ 基因, 分别克隆于 PMD-18T 载体, 对其进行了核苷酸序列测定及氨基酸序列推导, 同时进行了同源性比较及 E₂ 糖蛋白结构的分析。结果表明, 所测 3 株 HCV E₂ 基因的长度均为 1 169 bp。编码的氨基酸序列均包括完整信号肽序列和部分跨膜序列, 共由 384 个氨基酸组成。3 株流行毒的 E₂ 基因核苷酸序列同源性在 99% 以上, 相应的氨基酸序列同源性也在 99% 以上; 这 3 株流行毒与 C-株兔脾组织毒(疫苗种毒)E₂ 基因的核苷酸序列同源性在 83.14%~83.23%, 相应的氨基酸序列同源性在 88.14%~88.68%。经遗传发生关系分析, C-株兔组织毒-C-株细胞毒属于组群 1(group 1), 河南省近期流行猪瘟毒属于组群 2(group 2), 近期猪瘟流行毒与 C-株疫苗毒的 gp55 蛋白之间存在一定的差异。

[关键词] 猪瘟病毒; E₂ 基因; 糖蛋白; 序列分析

[中图分类号] S852.65⁺ 1

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2002)02-0037-06

猪瘟病毒(Hog Cholera Virus 或 Classical Swine Fever Virus, HCV/CSFV)为黄病毒科(Flaviviridae)瘟病毒属(Pestivirus)成员^[1]。由 HCV 引起的猪瘟(HC)被国际兽医局列为 A 类传染病之一, 因而受到世界各国尤其是 HC 存在国的重视。我国是 HC 流行较严重的国家, 近年来, HC 的发生又呈上升趋势, 表现形式也更为复杂, 有些免疫猪频繁发病, 使用 C-细胞苗或组织苗已不能完全控制^[2,3]。因此, 了解猪瘟疫苗毒株与流行毒株间的差异及流行毒的变异情况对猪瘟的防制十分必要。HCV 为单股正链 RNA 病毒, 其 RNA 长约 12.3 kb, 含一个大的开放阅读框(ORF)^[1,4,5]。由 5 端编码的糖蛋白 E₀, E₁, E₂ 构成 HCV 的外鞘。其中 E₂ 基因编码的 gp55 蛋白是暴露于病毒表面的主要囊膜蛋白, 参与病毒感染细胞的过程, 诱导中和抗体, 产生保护性免疫^[6]。据报道, HCV E₂ 基因最小抗原区可用于特异性诊断而避免与 BVDV(牛病毒性腹泻病毒)的交叉反应, 也可作为追踪抗原用荧光抗体方法检测抗 HCV 抗体^[7]。故了解近期 HCV E₂ 基因变异情况十分必要。

本试验测定了 3 株河南省猪瘟流行毒的 E₂ 基

因序列, 利用 Treeview 软件分析了这 3 株流行毒的遗传发生关系, 比较了它们与 C-株疫苗毒的分子差异, 以期了解近期猪瘟流行毒主要保护性抗原基因 E₂ 的变异情况。

1 材料与方法

1.1 材料

病毒 3 株猪瘟流行野毒, 分别采自河南息县(HNXX, 1999 年采)、河南开封(HNKF, 1999 年采)、河南郑州(HNZZ, 1999 年采), 经兔体交互免疫试验确证。

试剂 RNA 提取采用 GIBCOBRL 的 TRIzol[®] LS Reagent 试剂盒; 反转录酶(AMV)及反转录试剂 Taq DNA 聚合酶及 PCR 试剂 RNA 酶抑制剂 PMD-18T 载体为宝生物工程(大连)有限公司产品; 纯化试剂盒为 BOEHRINGER MANNHEIM 公司产品; DH5a 大肠杆菌由本室保存。

有关仪器 高速台式离心机为 Sigma 产品; PCR 仪、电泳仪、恒温箱、恒温摇床、紫外透射灯、移液器及枪尖、ependorf 管均购自国内有关公司。

^{*} [收稿日期] 2001-09-26

[基金项目] 国家 B 类攀登计划项目(85-41)

[作者简介] 薛青红(1977-), 女, 内蒙古奈曼旗人, 西北农林科技大学硕士研究生, 主要从事动物病毒学研究。

[联系作者] 刘湘涛(1962-), 男, 湖南衡阳人, 副研究员, 主要从事动物病毒学研究。

1 2 试验方法

引物的设计及合成 参照 HCV A lfort 株
Brescia 株和 C-株核酸序列, 利用 Goldkey 软件, 设

计 6 条引物, 其中正负链各 3 条, 由宝生物工程(大
连)有限公司合成。引物序列、位置(参照 C-株)及长
度见表 1。

表 1 引物编号、序列、位置及长度

Table 1 The code sequence position and length of the primer

编号 No.	序 列 Sequence	位置 Position	长度/nt Length
E ₁	5' TGTA TTA GACCA GACTGG3'	2 222~ 2 239	18
E ₁ '	5' CTGCCAACCGCGTCTA TCTT3'	3 793~ 3 773	21
X ₆	5' AGGGA TTTAACTA GGGTCTGG3'	2 315~ 2 336	21
T ₈	5' GCA TGGAACA GCA GTA GTA TCC3'	3 702~ 3 681	22
E ₂	5' AGGGGACA GA TCGTGCAA3'	2 384~ 2 401	18
E ₂ '	5' GGCGA GTTGTCTGTTA G3'	3 553~ 3 536	18

RNA 提取 参照试剂盒操作进行。
RT-PCR 和 nPCR 全部程序参照韩雪清等所
采用的方法进行^[8]。

扩增产物的纯化 参照试剂盒操作进行。
扩增产物的克隆 取适量纯化后的 PCR 产物,
加入 PMD-18T 载体, 高效连接液 Ligation Solution
I, 于 16 连接 3 h。取连接好的产物 5 μL 转化感
受态 DH5a, 涂布于含安苄西林钠(100 μg/mL)的
LB 琼脂平皿上于 37 培养过夜后, 挑选白色菌落
接种于 3 mL LB 含安苄西林钠(100 μg/mL)的细菌
培养瓶中, 在摇床上以 220 r/min 振荡 10~ 12 h 后,
少量提取质粒(转化及质粒提取参照文献^[9]进行)。

重组质粒的 PCR 鉴定 以 E₂, E₂' 为引物进行
PCR 扩增鉴定, 条件同一扩。

核酸序列测定 采用自动化测序仪测序, 由宝
生物工程(大连)有限公司完成。

序列分析 利用核酸序列分析软件 Goldkey 对
所测序列的结构特点、功能区进行分析, 并进行同源
性比较研究。

病毒分子系统关系分析 用 Treeview 软件对
3 株流行和国内外参考毒株进行系统关系分析。

2 结 果

2 1 3 株猪瘟流行野毒株 E₂ 基因的核苷酸和相应的 氨基酸序列

琼脂糖凝胶电泳表明, 以 E₁, E₁', X₆, T₈ 和 E₂,
E₂' 为引物, 扩增出与预期片段(1 169 bp)大小相符
的片段, 结果见图 1。克隆后测序, 所测核苷酸序列
与 C 株相应核苷酸序列相比较见图 2。由核苷酸序
列推导的氨基酸序列包括完整的信号肽序列和部分
TMR 序列, 是由 384 个氨基酸残基构成的肽链。

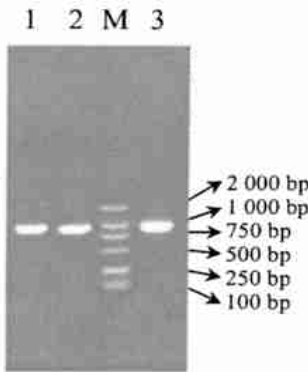


图 1 PCR 扩增 E₂ 基因的琼脂糖凝胶电泳

M. 标准分子质量 2 000 u; 1 HNXX 的 E₂ 基因;

2 HNKF 的 E₂ 基因; 3 HNZZ 的 E₂ 基因

Fig 1 Agarose electrophoresis of PCR E₂

M. DNA marker DL 2 000 u; 1 E₂ gene of HNXX;

2 E₂ gene of HNKF; 3 E₂ gene of HNZZ

2 2 核苷酸和氨基酸序列同源性比较

用 Goldkey 软件, 比较 3 株猪瘟流行野毒株与
C-株间的核苷酸及氨基酸序列的同源性, 结果见表
2。

2 3 中和性抗原区的氨基酸比较

E₂ 分子含 A, B, C, D 4 个抗原结构域, 其中 A,
B, C 为中和性抗原区。在中和性抗原区上, C-株与
近期国内流行野毒在 A₁-A₂ 亚区十分保守, 仅有数
个氨基酸变异; 而在 B, C 区变异较大, 有多处氨基
酸发生变异。

2 4 3 株河南省流行毒的系统关系分析

参考毒株, 国际参考 A lfort, Brescia, ALD,
GPE-V, CAP。1994~ 1996 年意大利流行毒, CW,
C₃D, C₄D, N₃W, N₃W, S₃D, S₃D₂, S₃D。国内参
考毒, Shim en; 疫苗毒, C-ST/480, C-VL Z。国内流行
毒, 1997 年河南流行毒, HN ZMD。1997~ 1998 年甘
肃省流行毒, GSHG, GSZY, GSHY, GSWW 和
GSJC。1998~ 1999 广西流行毒, gxrd/98, gxjx/99,

gxy1/99

3 株河南省流行毒基因分型于 Group 2 中的

Subgroup 2 1 中, 属于目前国内主要流行毒株群。结果见图 3。

C-ST	AGGGGACAGATCGTGCAAGGTGTGGTATGGCTGTACTAGTAACGGGGCACA	AGGCCGGCTAGCCTGCAAGGAAGATTACAGGTACGCAATATCGTCAACCCGATG
HNXX	-----A-AA-----T-AC-----G-G-C-----	---G---T-GT---T-----T-G---A-----
HNKF	-----A-AA-----T-AC-----G-G-C-----	---G---T-GT---T-----T-G---A-----
HNZZ	-----A-AA-----T-AC-----G-G-C-----	---G---T-GT---T-----T-G---A-----
C-ST	AGATAGGGCTACTTGGGGCCGAGGTCTCACCACCACCTGGAAGGAATACAAC	CACGATTTCGCAACTGAATGACGGGACCGTCAAGGCCAGTTGCGTGGCAGGTTTC
HNXX	--G-----G-A-----T-A-----A-----	--T-G-----G-G-----T-G-----T-ACT-----G--
HNKF	--G-----G-A-----T-A-----A-----	--T-G-----G-G-----T-G-----T-ACT-----G--
HNZZ	--G-----G-A-----T-A-----A-----	--T-G-----G-G-----T-G-----T-ACT-----G--
C-ST	CTTTAAAGTCACAGCACTTAATGTGGTCAGTAGGAGGTATTTGGCGTCATTGCAT	AAGAAGGCTTTACCCACTTCCGTGACATTGAGCTCCTGTTCGACGGGACCAAC
HNXX	-----CT-----T-----T-----A-C-----CC-----A-----A-C	---G---C-G-T-C-A-A---T-A---A-T-T-----G-
HNKF	-----CT-----T-----T-----A-C-----CC-----A-----A-C	---G---C-G-T-C-A-A---T-A---A-T-T-----G-
HNZZ	-----CT-----T-----T-----A-C-----CC-----A-----A-C	---G---C-G-T-C-A-A---T-A---A-T-T-----G-
C-ST	CCATCAACTGAGGAAATGGGAGATGACTTCAGGTCCGGCTGTGCCGTTTGAT	ACGAGTCCTGTGTGAAGGGGAAGTACAATACGACCTTGTGAACGGTAGTGCT
HNXX	--G---T-----G-----TG-A-TT---A-----T-----C	--A-T---C-G-C-A-----C-T-A-A---C-----
HNKF	--G---T-----G-----TG-A-TT---A-----T-----C	--A-T---C-G-C-A-----C-T-A-A---C-----
HNZZ	--G---T-----G-----TG-A-TT---A-----T-----C	--A-T---C-G-C-A-----C-T-A-A---C-----
C-ST	TTCTATCTTGTCTGCCAATAGGGTGGACGGGTGTCATAGAGTGCACAGCAGTG	AGCCCAACAACCTCTGAGGACAGAAGTGGTAAAGACCTTCAGGAGAGACAAGC
HNXX	---C-A-----A-----A-----A-----	---C---CT---A-----G-----A-----
HNKF	---C-A-----A-----A-----A-----	---C---CT---A-----G-----A-----
HNZZ	---C-A-----A-----A-----A-----	---C---CT---A-----G-----A-----
C-ST	CCTTTCGACAGAAATGGATGTGTGACCACCATAGTGGAAAATGAAGACTTAT	TCTATGTGAAGTTGGGGGCAACTGGACATGTGTGAAAGCGGACCGAGTGT
HNXX	-T-C-----G---GC-C-----T-----A---A---C-G-	---C-C-----T-T-----A-C-----ACC-
HNKF	-T-C-----G---GC-C-----T-----A---A---C-G-	---C-C-----T-T-----A-C-----ACC-
HNZZ	-T-C-----G---GC-C-----T-----A---A---C-G-	---C-C-----T-T-----A-C-----ACC-
C-ST	ACACAGGGGGGTACTAAACAATGTAGATGGTGTGGCTTCGACTTCGATGGG	CCTGACGGACTCCCGCATTACCCCATAGGTAAAGTGCATTTTGGCAAATGAGACA
HNXX	--G-T-----CA-----C-G-----C-T-T-----A-G-A-	--C-T-G-----A-C-----C---C-----CC-A-----G
HNKF	--G-T-----CA-----C-G-----C-T-T-----A-G-A-	--C-T-G-----GGA-C-----C---C-----CC-A-----G
HNZZ	--G-T-----CA-----C-G-----C-T-T-----A-G-A-	--C-T-G-----A-C-----C---C-----CC-A-----G
C-ST	GGTTACAGAAATAGTAGATTCAACGCACCTGTAACAGAGATGGCGTTGTAATCAGC	ACACAGGGGAGTCATGAGTGCTTGATCGGTAAACACGACTGTCAAGGTGCATGC
HNXX	-----GG---G---C-A---C-----C---T-----	--T-A--AGAA-C-----T-C---C-C-T-----C-
HNKF	-----GG---G---C-A---C-----C---T-----	--T-A--AGAA-C-----T-C---C-C-T-----C-
HNZZ	-----GG---G---C-A---C-----C---T-----	--T-A--AGAA-GC-----T-C---C-C-T-----C-
C-ST	ATCAGATGAAAGACTGGGCCCTATGCCATGCAGACCTAAAGAGATCGTCTAG	TGCTGGTCTGTAAATGAAACCTCCTGTACATTCAACTACACAAAACTTTGAA
HNXX	G-TG---G-----C-----G-----C---A-----	C-G-A-----G-----T-----T-----G---C-A-G
HNKF	G-TG---G-----C-----G-----C---A-----	C-G-A-----G-----T-----T-----G---C-A-G
HNZZ	G-TG---G-----C-----G-----C---A-----	C-G-A-----G-----T-----T-----G---C-A-G
C-ST	GAACAGGTACTATGAGCCAGGGACAGCTACTTCCAGCAATATATGCTTAAGGG	TGAGTATCAGTACTGCTTTGACCTGGATGCGACTGACCGCCACTCGGATTACTT
HNXX	A---A-----A-----T-----A-----A-----C-----	C---C-A-----T-----C-T-----A---A---C-----
HNKF	A---A-----A-----T-----A-----A-----C-----	C---C-A-----T-----C-T-----A---A---C-----
HNZZ	A---A-----A-----T-----A-----A-----C-----	C---C-A-----T-----C-T-----A---A---C-----
C-ST	CGCAGAAATTGTTGTCTTGGTGGTGGTAGCACTGTTAGGAGGAAGATATGTCCT	GTGGCTGATAGTGACCTACGTAGTTCTAACAGAACAACCTCGCC
HNXX	-----A-----G---A---G---G---C---T---	A---A-----TA-----
HNKF	-----A-----G---A---G---G---C---T---	A---A-----TA-----
HNZZ	-----A-----G---A---G---G---C---T---	A---A-----TA-----

图2 E₂ 基因编码区核苷酸序列及比较Fig 2 Nucleotide sequence of E₂ gene coding region and comparison with them

表 2 C-株兔脾组织毒与 3 株流行野毒株间核苷酸及氨基酸序列同源性比较
Table 2 Homology comparison of nucleotide and AA sequence of virus E₂ genes
of C-strain and 3 other prevalent virulent strains

序列 Sequence	Nucleo- Tide	C-ST	HNXX	HNKF	HNZZ	%
核苷酸 Nucleotide	C-ST		83 33	83 14	83 14	
	HNXX			99 74	99 83	
	HNKF				99 57	
氨基酸 AA	C-ST		88 68	88 41	88 14	
	HNXX			99 73	99 46	
	HNKF				99 19	

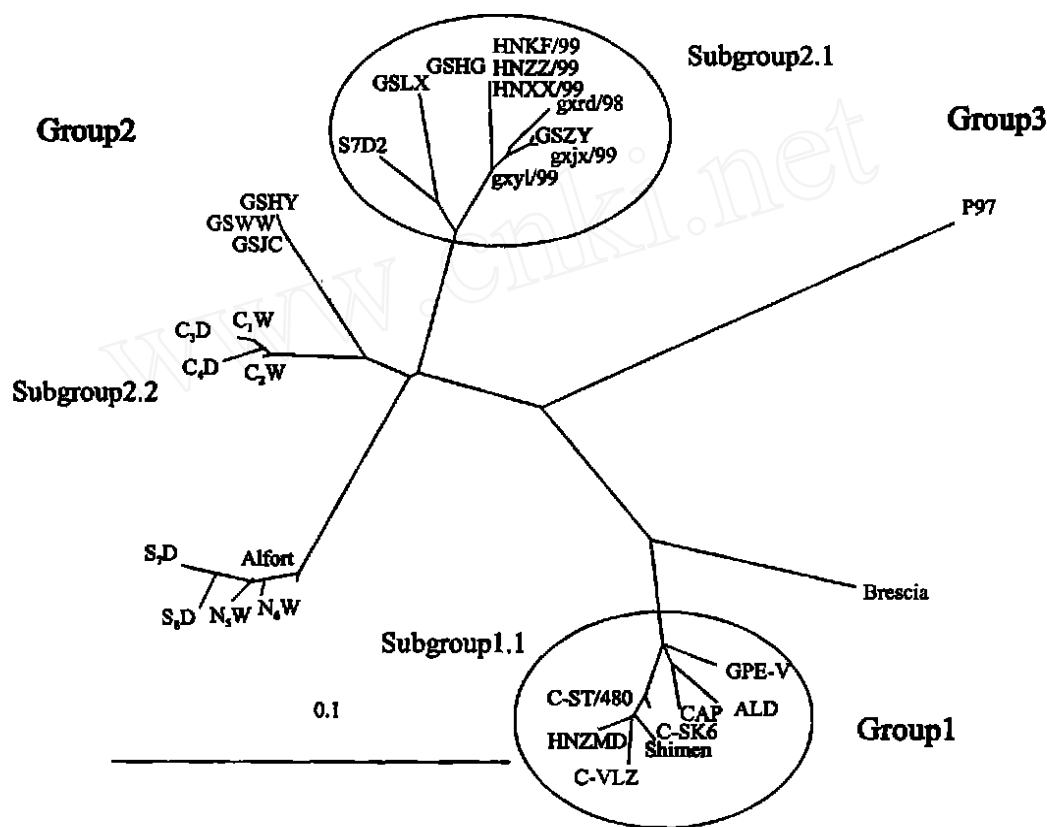


图 3 猪瘟病毒株分子衍化关系

Fig 3 Relationship of HCV molecular relationship

3 讨论

3.1 3 株 HCV E₂ 基因核苷酸序列及氨基酸序列的同源性

E₂ (gp55) 是 HCV 最具抗原性的糖蛋白基因, 而且是全基因组中最易变异的部分之一。通过对 3 株流行野毒 E₂ 基因核苷酸序列及所推导的氨基酸序列分析比较, 发现 3 株流行野毒间仅有数个碱基发生改变, 核苷酸序列同源性在 99% 以上, 所推导的氨基酸序列同源性也在 99% 以上, 可以推测 HC 的发生具有地区相关性, 也有可能是在动物的出入

境控制上未严格把关所致。3 株流行野毒 E₂ 基因与 C-株疫苗毒 E₂ 基因的核苷酸序列同源性在 83.14% ~ 83.23%, 所推导氨基酸序列同源性在 88.14% ~ 88.68%, 说明近期流行猪瘟与 C-株疫苗毒之间存在一定差异。

3.2 3 株 HCV E₂ 糖蛋白抗原区氨基酸的变异

HCV E₂ 分子存在 4 个独特的抗原结构域 A, B, C, D, 位于 E₂N 末端的 690 ~ 866 位氨基酸处。A 区又分为 3 个功能区 A₁, A₂ 和 A₃, A₁, A₂ 亚区相连, 位于 A 区 C 端的 795 ~ 851 位, 是 E₂ 蛋白的中心部位, 为一段保守区, A₁ 亚区能诱导产生中和抗

体; A₃ 亚区靠近 B、C 区, 位于 766~ 813 位, 无保守性, 也不诱导产生中和抗体; B 区位于 690~ 773 位, C 区位于 690~ 800 位, 两者均为非保守区, 是诱导产生中和抗体的主要部位; D 区位于 766~ 800 位, 既不保守也不诱导产生中和抗体^[10, 11]。根据上述划

分, 将测得的 3 株流行野毒和 C-株 E₂ 糖蛋白抗原的各功能区氨基酸变异的数目进行交叉比较分析, 其结果见表 3。这些氨基酸的变异是否对抗原性有影响, 还有待于进一步进行点突变的分析。

表 3 3 株流行野毒株与 C-株 E₂ 蛋白抗原区氨基酸序列差异数

抗原区 Antigenic domain	C/HNXX	C/HNKF	C/HNZZ	HNXX/HNKF	HNKF/HNZZ	HNXX/HNZZ
177AA (690~ 866) Anti- genic domain 177AA (690~ 866)	21	21	21	0	0	0
A 区 101AA (766~ 866) A domain 101AA (766~ 866)	10	10	10	0	0	0
A 1A 2 区 57AA (795 ~ 851) A 1A 2 domain 57AA (795~ 851)	2	2	2	0	0	0
A 3 区 48AA (766~ 813) A 3 domain 48AA (766~ 813)	6	6	6	0	0	0
B 区 83AA (690~ 773) B domain 83AA (690 ~ 773)	11	11	11	0	0	0
C 区 110AA (690~ 800) C domain 110AA (690~ 800)	17	17	17	0	0	0
D 区 35AA (766~ 800) D domain 35AA (766 ~ 800)	2	2	2	0	0	0

3 3 HCV E₂ 抗原区氨基酸变异对其原性的影响

构成抗原区氨基酸一级结构的变化, 将导致其疏水性和二级结构的改变, 从而使它们在抗原性上也产生一定的差异, 但其是否影响 HCV 的感染及免疫应答还不能定论。曾有报道, 与 HCV 同属的 BVDV (牛病毒性腹泻病毒), 正是由于其主要保护性抗原 gp53 的变化, 致使该病毒能够逃脱宿主的免疫保护系统^[12]。目前, HCV 流行趋势的日趋复杂可能与此有关。

3 4 毒株遗传发生关系分析

河南省近期流行猪瘟毒株与 C-株疫苗毒的 E₂

基因间存在较大差异, 核苷酸同源性的为 83 14%~ 83 23%, 氨基酸同源性的为 88 14%~ 88 68%。这表明近期猪瘟流行毒株已向远离疫苗毒株的方向变化, 但这种主要保护性抗原基因的变异是否会影响 C-株疫苗的免疫保护力尚需要进一步证实。

致谢: 本研究在农业部畜禽病毒病重点实验室(兰州兽医研究所)完成, 特此致谢。

[参考文献]

[1] Meyers G, Rumeapf T, Thil H J. Molecular cloning and nucleotide of the genome of hog cholera virus[J]. Virology, 1989, 171: 555-567.

[2] 王在时. 猪瘟防制研究的回顾和展望[A]. 谢庆阁, 翟中和. 畜禽重大疫病免疫防制研究进展[C]. 北京: 中国农业科技出版社, 1996 64-71.

[3] 刘湘涛, 赵启祖, 李忠润, 等. 猪瘟病毒(HCV)的研究进展和存在的问题[J]. 兰州大学学报(自然科学版), 1995, 31(遗传学专辑): 157-161.

[4] 殷震, 刘景华. 动物病毒学[M]. 第2版. 北京: 科学出版社, 1997. 652- 664

- [5] Moormann R J M, Wamondam P A M, Meer B V D, et al Molecular cloning and nucleotide sequence of hog cholera virus strain *B rescia* and mapping of the genome region encoding envelope protein E₁[J]. *Virology*, 1990, 174: 184- 198
- [6] 刘湘涛, 赵启祖, 李忠润, 等. 猪瘟病毒和猪瘟的防制[A]. 谢庆阁, 翟中和. 畜禽重大疫病免疫研究进展[C]. 北京: 中国农业科技出版社, 1996 81- 95
- [8] 韩雪清, 李红卫, 刘湘涛, 等. 中国猪瘟兔化弱毒免脾组织毒部分基因序列分析[J]. *中国兽医科技*, 1998, 28(6): 12- 16
- [9] 萨姆布鲁克 J, 弗里奇 E F, 曼尼阿蒂斯 T. 分子克隆实验指南[M]. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1995
- [10] Van Rijn P A. A preliminary map of epitopes on envelope glycoprotein E₁ of HCV strain *B rescia*[J]. *Veterinary Microbiology*, 1992, 33: 212- 230
- [11] Van Rijn P A. Antigenic structure of envelope glycoprotein E₁ of hog cholera virus[J]. *Journal of General Virology*, 1994, 68: 3934- 3942
- [12] Ridpath J F. Seregration of bovine viral diarrhea virus into genotypes[J]. *Virology*, 1994, 205: 66

Sequence analysis and grouping of E₂ gene of prevalent virulent strains of hog cholera virus in Henan Province

XUE Qing-hong^{1,2}, LIU Xiang-tao¹, DU Shou-shang², ZHANG Yong-guo², HAN Xue-qing¹,
ZHANG Yan-ming², HE Xue-bin³, ZHUANG Shu-zhen², XIE Qing-Ge¹

(1 Lanzhou Veterinary Research Institute, Lanzhou, Gansu 730046, China; 2 Northwest Sci-Tech University of Agriculture Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China; 3 Animal Quarantine Station of Zhoukou District, Zhoukou, Henan 466000, China)

Abstract: The E₂ gene of three prevalent virulent strains of Hog Cholera Virus (HCV) from Henan, China were amplified by reverse transcription (RT) and the nested Polymerase Chain Reaction (nPCR). The amplified E₂ fragments of three HCV strains were all 1 169 bp in length by agarose gel electrophoresis. Three E₂ fragments were cloned respectively into PMD-18T vector. 1 169 bp cDNA fragments of three prevalent virulent E₂ gene were sequenced and 384 residues amino acid sequences of E₂ were deduced. The nucleotide homology among three prevalent virulents were over 99%; and that of amino acid were also 99%. The nucleotide identity of C-strain from spleen tissue of rabbit with that of three Chinese prevalent virulent strains were from 83.14% to 83.33%, and that of amino acid were from 88.14% to 88.68%. There revealed some differences in gp55 of C-strain and the 3 prevalent virulent strains.

Key words: hog cholera virus; E₂ gene; glycoprotein; sequence analysis