

鸡新城疫病毒分离株 *F* 基因的分子特性分析

王学艳,王晶钰,刘红彦,邓小敏,温肖会,姜向阳,罗 艳

(西北农林科技大学 动物医学院,陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】对新城疫病毒(NDV)分离毒株进行分子特征分析,了解免疫鸡群发生新城疫的原因。【方法】用非免疫鸡胚从病鸡肺脏中分离新城疫病毒;参考 GenBank 上发表的 NDV 的 *F* 基因序列设计引物,应用 RT-PCR 方法对新城疫病毒分离株进行扩增,并构建克隆载体,对阳性质粒测序后进行 *F* 基因核苷酸及推导氨基酸序列分析。【结果】从发病鸡群中分离到 6 株 NDV,分离毒株间的 *F* 基因核苷酸和 *F* 蛋白氨基酸同源性分别在 99.6%~99.9%和 99.1%~99.8%;分离毒株与参考毒株的 *F* 基因核苷酸和 *F* 蛋白氨基酸序列同源性分别在 83.2%~87.3%和 90.2%~93.8%;分离毒株 *F* 蛋白裂解位点的氨基酸顺序为¹¹²R-R-Q-K-R-F¹¹⁷,符合强毒株的分子特征;6 个分离株均属 NDV 基因Ⅷ型。【结论】NDV 分离株的 *F* 基因已经发生明显变异,与 La Sota、Clone-30、V4 等常用疫苗株在遗传进化上的亲缘关系较远,这可能是免疫鸡群发生新城疫的重要原因之一。

【关键词】 新城疫病毒;分离鉴定;*F* 基因;RT-PCR;分子特性分析

【中图分类号】 Q754

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2008)10-0001-06

Molecular characteristic analysis of Newcastle Disease Virus Chicken isolates' *F* gene

WANG Xue-yan, WANG Jing-yu, LIU Hong-yan, DENG Xiao-min,
WEN Xiao-hui, JIANG Xiang-yang, LUO Yan

(College of Veterinary Medicine, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 The reason for the outbreak of Newcastle Disease in vaccinated chickens was investigated by analysing molecular characteristics of NDV isolates. 【Method】 Six isolates of Newcastle Disease Virus (NDV) were separated from suspected diseased chickens. According to the sequence published in GenBank, a couple of primers were designed, and the six isolates of NDV were amplified by RT-PCR. The target gene was obtained, and was cloned to the pMD18-T vector, thus the cloning vector was constructed. The sequences of positive plasmids, nucleotide sequences and amino acid sequences were analyzed. 【Result】 Results demonstrated that the nucleotide homology and amino acid homology of *F* fragment among the six NDV isolates were 99.6%—99.9% and 99.1%—99.8% respectively. The nucleotide homology and amino acid homology of *F* fragment between the isolated strain and the reference strain were 83.2%—87.3% and 90.2%—93.8% respectively. The amino acid sequence of *F* protein cleavage site was 112R-R-Q-K-R-F117, consistent with the molecular characteristics of virulent strain. The molecular characteristics of *F* gene indicated that the six isolates belonged to Ⅷ genotype. 【Conclusion】 *F* gene of the six NDV isolates had a far genetic relationship with the vaccine strain e. g. La Sota, Clone-30, V4, which was

* [收稿日期] 2007-11-05

[基金项目] 陕西省科技攻关项目(2006K02-G11)

[作者简介] 王学艳(1982—),女,山东东营人,在读硕士,主要从事动物传染病学研究。E-mail:wxy-0817@163.com

[通讯作者] 王晶钰(1964—),男,陕西乾县人,副教授,博士,硕士生导师,主要从事预防兽医学研究。
E-mail:Wjingyu2004@126.com

the probable reason that vaccinated chickens still catch Newcastle Disease.

Key words: Newcastle Disease Virus (NDV); isolation and identification; *F* gene; RT-PCR; molecular characteristic analysis

新城疫(Newcastle Disease, ND)是由新城疫病毒((Newcastle disease virus, NDV)引起的危害养禽业的一种烈性传染病,可引起多种禽类发病,常常造成重大的经济损失,在世界上曾有过 3 次大流行^[1]。我国经过多年的综合防制,虽已基本控制了该病的流行,但近几年 ND 的发生出现了新的特点,即非典型 ND 病例日益增多,甚至 NDV HI 抗体水平在 2^7 左右的高抗体鸡群仍有发病,给该病的预防带来困难。

F 蛋白是 NDV 重要的功能性糖蛋白,其结构功能变化与 NDV 致病性密切相关,对 NDV 分离株 F 蛋白的研究,有助于了解非典型鸡新城疫的发病原因。本研究对 2006~2007 年从发病鸡群中分离到的 6 株 NDV 的 *F* 基因进行了克隆和序列分析,进一步从基因水平证实了 NDV 分离株为变异的强毒株,为鸡新城疫的防治提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病料来源 ZD、JZ、XB、CA、ZZ 和 CC,采自不同的疑似新城疫的病鸡群。

1.1.2 鸡胚、阳性血清、宿主菌与载体 非免疫鸡胚,由杨凌绿方生物工程公司提供;NDV 阳性血清等,由西北农林科技大学重大动物疫病防治与畜产品安全实验室提供,DH5 α 感受态细胞也由该实验室制备;pMD18-T 克隆载体试剂盒,购自大连宝生物工程有限公司。

1.1.3 主要试剂 Trizol 试剂盒,购自美国 Invitrogen 公司;胶回收(小量)试剂盒,上海华舜生物工程有限公司产品;RNA 酶抑制剂、*Taq* DNA 聚合酶、dNTPs、DNA Marker,均购自大连宝生物工程有限公司;M-MLV 反转录试剂盒、限制性内切酶,购自 Fermentas 公司。其他试剂均为国产分析纯。

1.2 病料处理

将病料剪碎,按 1 g : 5 mL 加入含青霉素(1 000 U/mL)、链霉素(1 000 μ g/mL)的灭菌生理盐水,组织研磨器研磨后反复冻融 3 次,经 4 000 r/min 离心 10 min 取上清液备用。

1.3 鸡胚接种及病变观察

将各上清液通过 0.22 μ m 微孔滤器除菌,尿囊

腔接种 10 日龄非免疫鸡胚。每份病料接种 8 枚鸡胚,每枚鸡胚接种 0.2 mL,37 $^{\circ}$ C 孵育。无菌收集 48~72 h 死亡的鸡胚尿囊液。

1.4 HA 及 HI 试验

将无菌收集的鸡胚尿囊液,采用 β 微量法用体积分数为 1.0% 的鸡红细胞悬液进行 HA 试验,以 HA 价 $\geq 3 \log_2$ 为试验阳性。对 HA 阴性的尿囊液与 2 mg/mL 胰酶等量混合,经 37 $^{\circ}$ C 水浴处理 3 h,再以体积分数为 1.0% 的鸡红细胞悬液进行 HA 试验,同时做 2 mg/mL 胰酶对照。对有直接血凝性的尿囊液进行 NDV 的 HI 试验。

1.5 NDV 病毒的 RT-PCR 鉴定

1.5.1 引物的设计 利用 Oligo 6.0 生物软件,参照 GenBank 已发表的 NDV 分离株(登录号: EF464163、DQ417113、AY427817、AY965077)的 *F* 基因设计 1 对引物:

NDV-F-P1: 5' AGG GAT TGT GGT AAC AGG AGA 3';

NDV-F-P2: 5' ATA TAG GTG ATG AGG GCA GAT G 3'。

引物由上海生工合成。

1.5.2 病毒总 RNA 的提取 按 Invitrogen 公司的 TRIZOL LS Reagent 试剂盒操作说明书,提取病毒基因组 RNA。

1.5.3 病毒的 RT-PCR 扩增 取已溶解的 RNA 11 μ L,加 1 μ L NDV-F-P2,65 $^{\circ}$ C 作用 10 min,冰浴 5 min,再加入 (5 $\times$) M-MLV Buffer 4 μ L, M-MLV 1 μ L, Ribonuclease inhibitor 1 μ L, dNTP 2 μ L,混匀 42 $^{\circ}$ C 1 h,70 $^{\circ}$ C 10 min,即为反转录的 cDNA。再以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增,反应体系为 25 μ L: cDNA 模板 2.0 μ L, Ex*Taq*10 $\times$ 缓冲液 2.5 μ L, dNTPS 2.0 μ L (2.5 mmol/ μ L), NDV-F-P1 1.0 μ L (25 mmol/ μ L), NDV-F-P2 1.0 μ L (25 mmol/ μ L), Ex*Taq*DNA 聚合酶 0.5 μ L (5 U/ μ L), 补灭菌超纯水至 25 μ L。扩增反应热循环参数为: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 95 $^{\circ}$ C 50 s, 53.5 $^{\circ}$ C 50 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min 30 s, 34 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。

1.6 各分离毒株的核苷酸序列测定及其分子遗传变异分析^[2]

1.6.1 RT-PCR 产物的纯化回收 将 RT-PCR 产

物用凝胶回收纯化试剂盒回收目的片段。

1.6.2 RT-PCR 产物与 pMD18-T 载体的连接
取回收的 RT-PCR 产物 4.5 μL, pMD18-T 载体 0.5 μL, Ligation Solution I 5 μL 于 PCR 管中混匀, 16℃ 反应过夜。

1.6.3 连接产物的转化与重组质粒的鉴定
取连接产物 10 μL 转化 DH5α 感受态细胞, 挑选白色阳性菌落, 在含有氨苄(100 μg/mL) 的 LB 培养基中培养, 采用碱裂解法小量提取质粒, 用 *EcoR* I 和 *Sal* I 进行酶切鉴定。PCR 反应条件同 1.5.3, 进行重组质粒的 PCR 鉴定。

1.6.4 核苷酸序列的测定及测定结果的鉴定
将筛选的阳性克隆菌液送往上海生工生物工程技术服务有限公司和上海捷瑞生物工程有限公司进行测序。所有目的基因均从正反两个方向各测一遍, 相互检验无误后确定为所需序列。利用 DNA Star、Clustal X 等分析软件将各毒株 *F* 基因的序列进行整理拼接, 并将处理后的各基因序列提交到 NCBI BLAST 检索鉴定。

1.6.5 NDV 分离株 *F* 基因的分子遗传变异分析
使用 DNASTar, Clustal X 等序列分析软件, 对 6 个分离毒株与 6 个标准毒株进行核苷酸及推导氨基酸

酸序列同源性分析, 并将他们和 6 株具有代表性的 NDV 标准毒株和 15 个分离毒株的 *F* 基因进行了系统进化树分析。NDV 分离毒株 *F* 基因序列为测序公司测得, 6 个具有代表性的 NDV 标准毒株和 15 个分离毒株的 *F* 基因序列来源于 NCBI 的 GenBank。

2 结果与分析

2.1 鸡胚接种及病变观察

各毒株接种 10 日龄非免疫鸡胚后, 鸡胚均在 48 h 以内死亡, 死亡鸡胚多数有不同程度的出血。

2.2 鸡胚尿囊液的 HA 及 HI 试验

收集的各毒株鸡胚尿囊液绝大部分 HA 试验为阳性, HA 试验为阴性的尿囊液经胰酶处理后 HA 试验仍为阴性。各毒株的血凝性能被 NDV 阳性血清所抑制。

2.3 NDV 病毒的 RT-PCR 扩增

6 μL 扩增产物在含 EB 的 10 g/L 琼脂糖凝胶中电泳, 结果可以见到一条清晰的 1 400 bp 左右的目条带, 与预期结果相符(图 1)。ZD 和 JZ 在 300 bp 左右还有一条非特异性条带, 可能与引物的非特异性扩增有关。

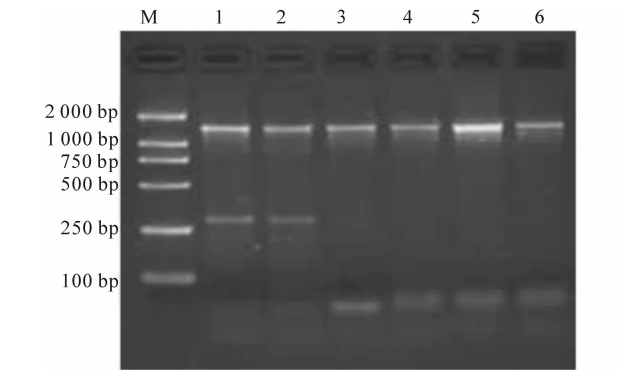


图 1 NDV 各分离株 *F* 基因的 RT-PCR 扩增结果
M, DL2000; 1. ZD; 2. JZ; 3. XB; 4. CA; 5. ZZ; 6. CC

Fig. 1 Electropherogram of RT-PCR of *F* gene of isolates

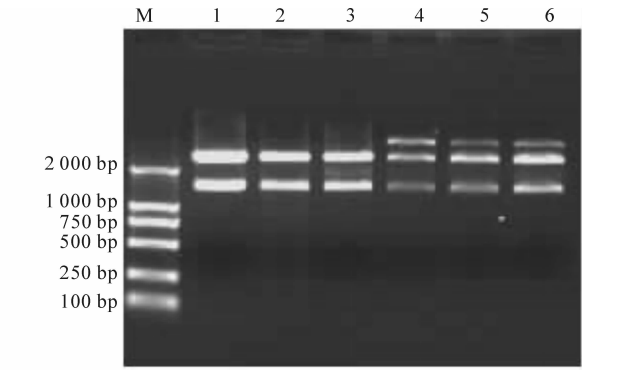


图 2 NDV 分离株 *F* 基因重组质粒的 *EcoR* I 和 *Sal* I 双酶切鉴定结果
M, DL2000; 1. ZD-NDV; 2. JZ-NDV; 3. XB-NDV;

4. CA-NDV; 5. ZZ-NDV; 6. CC-NDV

Fig. 2 Restriction enzyme digestion of the recombinant plasmid of *F* gene of NDV isolates by *EcoR* I & *Sal* I

2.4 NDV 分离株 *F* 基因的重组质粒鉴定

将各重组质粒分别命名为 ZD-NDV、JZ-NDV、XB-NDV、CA-NDV、ZZ-NDV 和 CC-NDV。重组质粒用 *EcoR* I 和 *Sal* I 进行双酶切, 切出 1 400 bp 左右的条带, 与预期结果相符(图 2)。重组质粒用

Sal I 进行单酶切, 切出 4 200 bp 左右的条带, 与预期结果相符(图 3)。重组质粒的 PCR 热循环参数同 1.5.3 病毒的 RT-PCR 鉴定, 结果 PCR 鉴定呈阳性(图 4)。

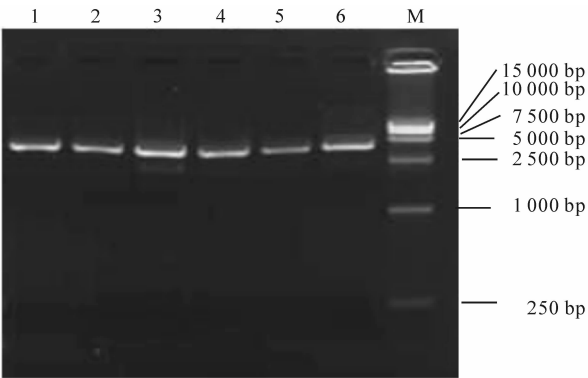


图 3 NDV 分离株 *F* 基因重组质粒的 *Sal* I 单酶切鉴定结果
M, DL2000;1. ZD-NDV;2. JZ-NDV;3. XB-NDV;
4. CA-NDV;5. ZZ-NDV;6. CC-NDV

Fig. 3 Restriction enzyme digestion of the recombinant plasmid of *F* gene of NDV isolates by *Sal* I

2.5 核苷酸序列的测定

各基因序列经拼接整理后,均为 1 352 bp(不含引物序列),提交 NCBI BLAST 检索鉴定均为 NDV 的 *F* 基因序列片段,包含 *F* 基因的重要功能性区域。

2.6 NDV 分离株 *F* 基因的分子特性分析

2.6.1 基因型分析 根据推导的氨基酸序列分析结果,各分离毒株 *F* 蛋白的裂解位点均为¹¹²R-R-Q-K-R-F¹¹⁷,符合强毒株的分子特征。按照 Lomniczi 等^[3]的方法分析发现,各分离毒株具备基因Ⅶ型 NDV 的典型特征:其 *F* 蛋白的 101 位为 K 和 121 位为 V 2 个特征性氨基酸,而其他各型 NDV 上述 2 个位置皆分别为 R 和 I(见图 5)。

2.6.2 核苷酸序列的同源性分析 表 1 表明,6 个 NDV 分离毒株间的 *F* 基因核苷酸同源性在 99.6%~

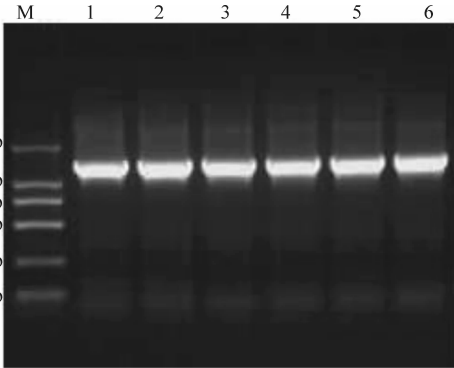


图 4 NDV 分离株 *F* 基因重组质粒的 PCR 鉴定结果
M, DL2000;1. ZD-NDV;2. JZ-NDV;3. XB-NDV;
4. CA-NDV;5. ZZ-NDV;6. CC-NDV

Fig. 4 PCR identification of the recombinant plasmid of *F* gene of NDV isolates

99.9%;6 个分离毒株与参考毒株的 *F* 基因核苷酸同源性在 83.2%~87.3%。

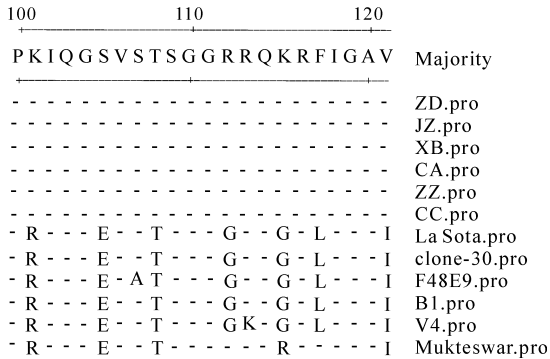


图 5 NDV 分离株 *F* 蛋白的氨基酸序列比较
Fig. 5 Amino acids sequences alignment report of NDV isolates' *F* protein

表 1 NDV 分离株与标准毒株 <i>F</i> 基因序列的同源性											%
Table 1 Sequence distance of <i>F</i> gene of NDV isolates and typical strains											
毒株 Strain	Clone-30	F48E9	B1	V4	Mukteswar	ZD	JZ	XB	CA	ZZ	CC
La Sota	99.8	89.2	99.0	89.6	88.6	83.4	83.6	83.4	83.5	83.3	83.2
Clone-30		89.3	99.0	89.8	88.7	83.5	83.6	83.5	83.6	83.4	83.3
F48E9			89.3	92.7	92.5	87.0	87.1	87.1	87.1	87.0	86.8
B1				90.2	88.7	83.8	83.9	83.8	83.9	83.7	83.6
V4					91.6	87.2	87.2	87.1	87.3	87.1	87.0
Mukteswar						86.5	86.6	86.5	86.5	86.4	86.2
ZD							99.8	99.7	99.9	99.9	99.9
JZ								99.8	99.8	99.7	99.6
XB									99.7	99.6	99.6
CA										99.9	99.9
ZZ											99.9

2.6.3 推导氨基酸序列的同源性分析 由表 2 可知,6 个 NDV 分离毒株间的 *F* 蛋白氨基酸同源性

在 99.1%~99.8%;6 个分离毒株与 6 株标准毒株 F 蛋白的氨基酸同源性在 90.2%~93.8%。

表 2 NDV 分离株与标准毒株 F 蛋白氨基酸序列的同源性

Table 2 Amino acid sequences distance of F protein of NDV isolates and typical strains											%
毒株 Strain	Clone-30	F48E9	B1	V4	Mukteswar	ZD	JZ	XB	CA	ZZ	CC
La Sota	99.8	94.2	99.8	95.1	92.7	90.7	90.7	90.4	90.7	90.4	90.2
Clone-30		94.4	99.6	95.3	92.9	90.9	90.9	90.7	90.9	90.7	90.4
F48E9			94.0	96.0	95.8	93.8	93.8	93.6	93.8	93.6	93.3
B1				94.9	92.4	90.9	90.9	90.7	90.9	90.7	90.4
V4					94.7	92.7	92.7	92.4	92.7	92.4	92.2
Mukteswar						92.9	92.9	92.7	92.9	92.7	92.4
ZD							99.6	99.3	99.6	99.8	99.6
JZ								99.8	99.6	99.3	99.1
XB									99.3	99.1	98.9
CA										99.8	99.6
ZZ											99.8

2.6.4 系统进化树分析 6 个 NDV 分离株与参考毒株 *F* 基因系统进化树分析结果(图 6)表明,6 个 NDV 分离株在系统进化上亲缘关系较近,与基因Ⅶ型 NDV 的代表株 Taiwan95 株的遗传距离较远。

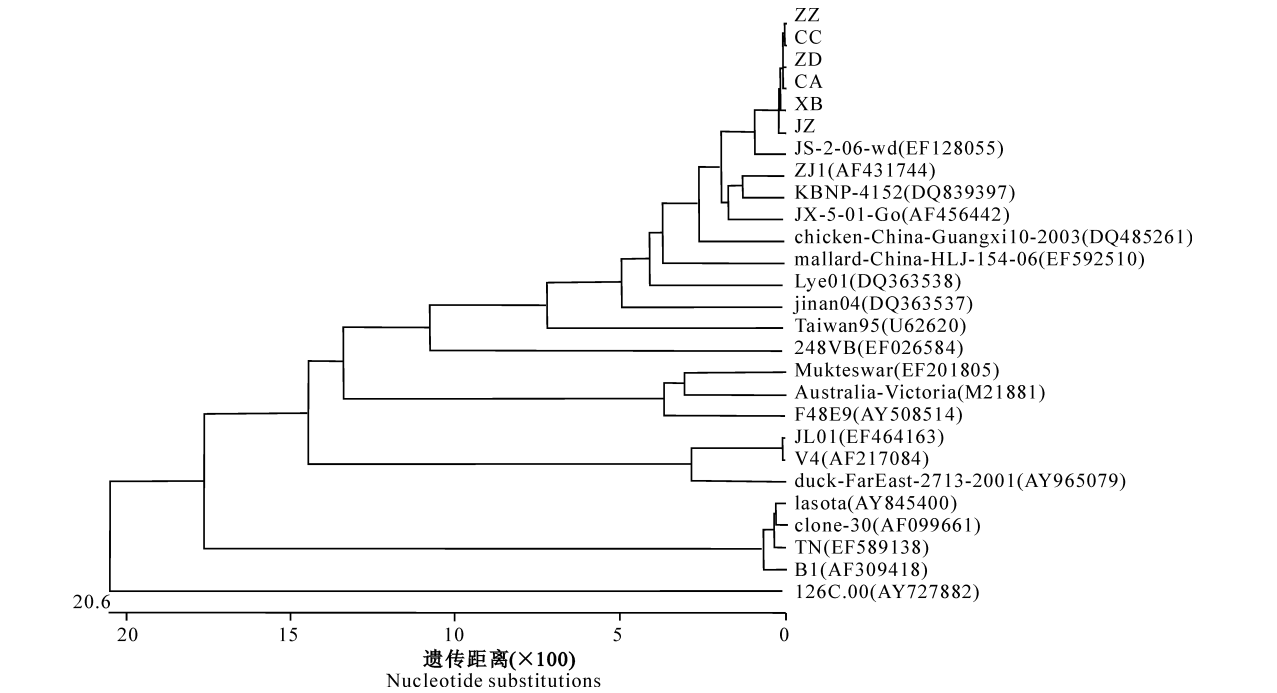


图 6 各 NDV 分离株与参考毒株 *F* 基因的系统进化树

Fig. 6 Phylogenetic tree of *F* gene of NDV isolates and reference strains

3 讨 论

近年来,在免疫鸡群中时有新城疫发生,甚至在 NDV HI 抗体高达 2⁶~2⁸ 的鸡群中仍有发病,提示 NDV 流行毒株与疫苗毒株之间存在抗原性差异。*F* 基因是 NDV 主要的致病性基因,其相应的 F 蛋白也是主要的免疫保护性抗原,NDV *F* 基因的差异与毒株之间的遗传进化密切相关^[4]。对不同毒株 *F* 基因序列进行测定和遗传变异分析,在新城疫病毒的分子流行病学调查中具有十分重要的意义^[5]。对

6 个 NDV 分离毒株的 *F* 基因核苷酸和推导氨基酸的序列分析发现,各分离毒株 F 蛋白的裂解位点均为¹¹²R-R-Q-K-R-F¹¹⁷,符合强毒株的分子特征^[6]。按照 Lomniczi 等^[3]的方法分析发现,6 个分离毒株具备基因Ⅶ型 NDV 的典型特征:其 F 蛋白在 101 位由 R 变为 K,在 121 位由 I 变为 V。进一步分析发现,分离株与近年来相继在欧洲和我国台湾等地引起鸡新城疫的毒株属同一基因型。

2000 年,王永坤等^[7]首次报道我国发生基因Ⅶ型新城疫,近几年来基因Ⅶ型 NDV 已成为我国 ND

的主要流行毒株^[8-12]。目前,我国用于 ND 防制的疫苗株 La Sota、Clone-30 属于基因Ⅱ型,而 V4 株属于基因Ⅰ型。已有研究表明,我国分离的 NDV 基因Ⅶ型毒株与疫苗株的抗原性有一定差异^[13],疫苗株与野毒株之间的基因差异可能是造成我国新城疫发生的主要原因。这提示在目前的新城疫免疫中,应在 La Sota、Clone-30、I 系等常规疫苗免疫的基础上,再配合使用针对流行株的灭活疫苗或基因工程疫苗,才有可能取得理想的预防效果。

6 个 NDV 分离株在系统进化上亲缘关系较近,可能是同一毒株在传播过程中发生了变异。通过与近几年国内外发表的一些具有代表性 NDV 分离株的 *F* 基因进行遗传进化分析发现,此次分离到的毒株与我国浙江、江苏和山东的分离株同源性较近(GeneBank 登陆号: EF128055、AF431744、AF456442、DQ839397 等),且与一些从水禽、野禽(如鹅、鸭、野鸭等)来源的分离株在系统进化上亲缘关系较近,提示水禽、野禽在此次新城疫流行中可能扮演了重要角色。

4 结 论

对分离毒株 *F* 基因的分子特性分析发现,此次分离到的 6 株 NDV 属于基因Ⅶ型,彼此在系统进化上亲缘关系较近,其 *F* 基因核酸序列和 *F* 蛋白氨基酸序列与疫苗株 La Sota、Clone-30、V4 等的同源性较低,表明疫苗株与野毒株之间的基因差异可能是免疫鸡群发生新城疫的主要原因。

【参考文献】

- [1] 殷 震,刘景华. 动物病毒学[M]. 2 版. 北京:科学出版社,1997:737-741.
Yin Z,Liu J H. Animal Virology [M]. 2nd edition. Beijing: Science Press,1997:737-741. (in Chinese)
- [2] 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]. 2 版. 北京:科学出版社,2002.
Sambrook J,Fritsch E F,Maniatis T. Molecular Clone: A Laboratory Manual [M]. 2nd edition. Beijing: Science Press, 2002. (in Chinese)
- [3] Lomniczi B,Wehmann E. Newcastle disease outbreak in recent years in Western Europe were caused by an old (Ⅵ) and a novel genotype (Ⅶ) [J]. Arch Virol,1998,143:49-64.
- [4] Aldous E W,Mynn J K,Banks J,et al. A molecular epidemiological study of avian paramyxovirus type I (newcastle disease virus) isolates by phylogenetic analysis of a partial nucleotide sequence of the fusion protein gene [J]. Avian Pathology,2003,

32(3):239-257.

- [5] Seal B S,King D J,Bennett J D. Characterization of Newcastle disease virus isolates by reverse transcription PCR coupled to direct nucleotide sequencing and development of epidemiological analysis [J]. J Clin Microbial,1995,33(10):624-630.
- [6] Li Zeng-ji,Theress,Enalr,et al. Effect of cleavage mutants on syncytium formation directed by the wildtype fusion protein of newcastle disease virus [J]. J Virol,1998,72:3789-3795.
- [7] 王永坤,严维巍,周继宏,等. 鸡病毒特性和基因型的研究及防制 [J]. 动物科学与动物医学,2000,17(3):31-34.
Wang Y K,Yan W W,Zhou J H,et al. Research on characteristic and genotype of chicken paramyxovirus [J]. Animal Science & Veterinary Medicine,2000,17(3):31-34. (in Chinese)
- [8] 卫广森,董国英,李惠兰,等. F-Ⅶ型鹅源禽副黏病毒的分离及其特性研究 [J]. 中国兽医科技,2003,33(8):7-9.
Wei G S,Dong G Y,Li H L,et al. Isolation and characterization of goose-origin avian paramyxovirus genotype F-Ⅶ [J]. Chinese Journal of Veterinary Science and Technology,2003,33(8):7-9. (in chinese)
- [9] 刘华雷,王志亮,吴延功,等. 2005 年中国新城疫病毒分子流行病学研究 [J]. 畜牧兽医学报,2006,37(12):1340-1344.
Liu H L,Wang Z L,Wu Y G, et al. The investigation on the molecular epizootiology of Newcastle Disease Virus isolated from China in 2005 [J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica,2006,37(12):1340-1344. (in Chinese)
- [10] 程相朝,李祥瑞,吴志明,等. 不同时期 NDV 地方株 *F* 基因的克隆及序列分析与基因型研究 [J]. 中国兽医学报,2006,26(5):491-494.
Cheng X Z,Li X R,Wu Z M,et al. Genetic variation and genotype of Newcastle Disease Virus isolates in Luoyang area of Henan province [J]. Chin J Vet Sci,2006,26(5):491-494. (in Chinese)
- [11] 曹殿军,郭 鑫,梁 荣,等. 我国部分地区 NDV 的分子流行病学研究 [J]. 中国预防兽医学报,2001,23(1):29-32.
Cao D J,Guo X,Liang R,et al. Molecular epidemiology of Newcastle Disease Virus isolates from part region of China [J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine,2001,23(1):29-32. (in Chinese)
- [12] 吴艳涛,倪雪霞,万洪全,等. 我国部分地区不同动物来源新城疫病毒的分子流行病学研究 [J]. 病毒学报,2002,18(3):264-269.
Wu Y T,Ni X X,Wan H Q,et al. Molecular epidemiological characterization of Newcastle Disease Virus isolates from China [J]. Chinese Journal of Virology,2002,18(3):264-269. (in Chinese)
- [13] 邱玉玉,孙淑红,李晓霞,等. 3 个不同基因型新城疫病毒间的抗原同源性比较 [J]. 中国兽医学报,2006,26(2):114-116.
Qiu Y Y,Sun S H,Li X X,et al. Antigenic comparisons of 3 Newcastle Disease Virus strains with different genotypes [J]. Chin J Vet Sci,2006,26(2):114-116. (in Chinese)