

昆虫细胞表达的网状内皮组织增殖症病毒囊膜糖蛋白及其免疫性

王锡乐 张 志 姜世金 崔治中*

(山东农业大学动物科技学院 泰安 271018)

摘 要 利用 Bac-to-Bac Baculovirus Expression Systems 构建了能表达禽网状内皮组织增殖症病毒(REV)囊膜糖蛋白基因(*env*)的重组杆状病毒。用 REV 特异性单克隆抗体分别做间接免疫荧光抗体试验(IFA)和免疫转印试验, 均可从感染的 Sf9 昆虫细胞中检出 REV *env*。重组杆状病毒感染的 Sf9 细胞裂解后制备成油乳疫苗免疫 SPF 鸡后, 可以诱发维持 45d 以上的特异性抗 REV 抗体, 并可抵抗 REV 病毒感染。

关键词 网状内皮组织增殖症病毒(REV)囊膜糖蛋白基因(*env*)表达 Sf9 细胞, 免疫原性

中图分类号 S85 文献标识码 A 文章编号 1001-6209(2005)04-0593-05

禽网状内皮组织增殖症(Reticuloendotheliosis, RE)是由反转录病毒科的禽网状内皮组织增殖症病毒(Reticuloendotheliosis virus, REV)引起的鸡、鸭、火鸡和其他禽类的一组综合症, 包括致死性网状细胞瘤、矮小综合症以及淋巴组织和其他组织的慢性肿瘤^[1,2]。REV 感染后禽生长迟缓, 淘汰率和死亡率升高, 引起感染鸡的免疫抑制, 干扰其它禽病疫苗的免疫效果, 导致免疫失败。REV 已经成为继马立克氏病病毒(MDV)、禽白血病毒(ALV)之后又一重要的禽肿瘤病毒^[1,3]。它不但可以引起雏鸡严重的免疫抑制, 还严重影响雏鸡的正常发育。如果用被 REV 污染的鸡胚制备弱毒疫苗, 更会污染疫苗。目前, REV 在我国的流行越来越严重, 在某些鸡场中对 REV 阳性抗体的检出率可能高达 21.4% ~ 71.0%, 其中出现免疫抑制状态的鸡群对 REV 抗体阳性率要比正常鸡群高的多^[2,4]。但到目前为止, 世界上还没有商品化地用于预防 REV 的疫苗, 这一严峻现实对于抗 REV 疫苗提出了新需求。

env 基因编码两种糖蛋白 gp90 和 gp20^[5,6]。其中 gp90 蛋白是 REV 病毒的免疫原性蛋白, 具有受体结合功能, 能够激发感染宿主产生中和抗体, 是囊膜糖蛋白的表面蛋白; gp20 为穿膜蛋白。本试验试图通过杆状病毒双向表达载体构建 REV 的 *env* 基因真核表达载体, 以作为进一步研究抗 REV 基因工程疫苗的基础。

1 材料和方法

1.1 材料

Bac to bac 杆状病毒表达系统购自 Invitrogen 公司, 主要由转移供体载体 pFastBac™ DUAL、大肠杆菌(*Escherichia coli*) DH5 α 、*E. coli* DH10Bac™ 菌株和 CellFECTIN 转染试剂构成。pFastBac™ DUAL 为双向真核表达载体, 含有两个强启动子, 分别为 Polh 启动子和 p10 启动子, 能同时高效表达两段外源基因。*E. coli* DH10Bac™ 菌株中含有天然杆状病毒全基因组质粒及表达转座酶的辅助质粒(Helper plasmid)。

1.2 引物设计和 *env* 基因的 PCR 扩增

根据 SNV 株 REV 的前病毒基因组 DNA 测得的全基因序列(待发表资料)设计一对引物。上游引物: 5'-CAGGAATTCAAGAATGGACTGTCTCACC-3'; 下游引物: 5'-AGAGTCGACCAAGCATGGGTACAGAAG-3'。其中, 上游引物含有 *EcoR* I 酶切位点, 下游引物含有 *Sal* I 酶切位点。引物合成后, 以 SNV 株 REV 的前病毒基因组 DNA 为模板, PCR 扩增包含整个 *env* 基因的片段, 大小约 1.87kb。25 μ L PCR 反应体系: 模板 DNA (约 100ng/ μ L) 1 μ L, *Taq* 酶(5U/ μ L) 0.5 μ L, 正、反向引物(均为 25 μ mol/L)各 1 μ L, dNTPs (2.5mmol/L) 2 μ L, MgCl₂ (15mmol/L) 1.8 μ L, 10 $\times$ Buffer (Mg²⁺ free) 2.5 μ L, ddH₂O 15.2 μ L。PCR 反应条件: 首循环 95 $^{\circ}$ C 5min, 50 $^{\circ}$ C 1min, 72 $^{\circ}$ C 1min; 中间循环: 95 $^{\circ}$ C 1min, 50 $^{\circ}$ C 1min, 72 $^{\circ}$ C 2min 30s, 进行 30 个循

基金项目 国家自然科学基金重点项目(30330450)

* 通讯作者。E-mail: zzzcui@sdau.edu.cn

作者简介 王锡乐(1981 -)男, 山东蓬莱人, 硕士研究生, 主要从事动物病毒分子生物学及免疫学研究。E-mail: wangxile80@163.com

收稿日期 2004-10-27, 修回日期 2005-04-28

环 末轮循环 :95℃ 1min ,50℃ 1min ,72℃ 10min ;末轮循环后置 4℃ 保存。

1.3 表达 REV *env* 基因的重组杆状病毒全基因组质粒的构建

用 Bac-to-Bac Baculovirus Expression Systems (CAT.NO. 10359-016) 杆状病毒表达载体试剂盒构建重组杆状病毒 ,具体操作按试剂盒说明书进行。

1.3.1 含 REV *env* 基因的重组供体质粒的构建 :取 *env* 基因的 PCR 产物和试剂盒提供的供体质粒 pFastBac™ DUAL 分别经 *Eco*R I 和 *Sal* I 双酶切、电泳 ,回收带有 *Eco*R I 和 *Sal* I 粘性末端的 *env* 基因和线性化的转移供体质粒。然后将两者以 1:3 的摩尔比在 T4 DNA 连接酶的作用下 ,16℃ 连接过夜 ,使目的基因整合到供体载体 pFastBac™ DUAL 上的 *Polh* 启动子下游。取 10μL 连接产物转化 *E. coli* DH5α 感受态细胞 ,以转化菌制备含有 REV *env* 基因的重组供体质粒 DNA。

1.3.2 含 REV *env* 基因重组杆状病毒全基因组质粒的构建 :将重组供体质粒 DNA 约 200ng 转化大肠杆菌 DH10Bac™ 感受态细胞。在含相应抗生素和指示剂的 LB 琼脂平板上 ,37℃ 避光培养 24 ~ 48h ,挑选白色菌落 ,连续传代 3 次 ,性状稳定的白色菌落即为含有 REV *env* 基因的重组杆状病毒全基因组质粒转化的重组菌落。然后按操作手册从该重组菌提取含有 REV *env* 基因的重组杆状病毒全基因组质粒 DNA ,以此质粒 DNA 为模板进行 PCR 扩增验证。*Eco*R I 单酶切此 PCR 产物 ,作进一步验证。

1.4 含 REV *env* 基因的重组杆状病毒全基因组质粒 NDA 转染 Sf9 细胞

将 Sf9 细胞用无血清、无抗生素的培养基洗涤 2 次 ,然后加入上述培养基将细胞吹打起来 ,离心 ,弃上清 ,加入培养基重悬细胞 ,取 2mL 含有 9×10^5 个细胞的无血清、无抗生素的培养基置于 35mm 的一次性平皿中 ,27℃ 静置 1h。取 A、B 两个 1.5mL 的离心管 ,A 管中加入 5μL 含 REV *env* 基因的重组杆状病毒全基因组的质粒 DNA 溶液(0.2μg/μL)和 100μL 无血清、无抗生素的培养基 ;B 管中加入 6μL CellFECTIN 转染试剂和 100μL 无血清、无抗生素的培养基。将两管合并于 C 管中 ,混匀 ,室温作用 35min 后 ,加入 800μL 无血清、无抗生素的培养基轻轻混匀。将平皿中的上清吸干 ,用 C 管中的混合物覆盖细胞 ,27℃ 培养 5h。吸干平皿中的转染混合物 ,加入 2mL 无血清、无抗生素的培养基 ,继续培养 3d 后收集、保存含有转染细胞产生的重组杆状

病毒上清液 ,并继续培养转染的 Sf9 细胞。

1.5 重组杆状病毒感染细胞中 REV *env* 基因表达的检测

1.5.1 间接免疫荧光抗体检测 :收集构建的重组杆状病毒转染了 3d 和 7d 的 Sf9 细胞。离心后 ,将浓缩的细胞约 2×10^5 个涂布于载玻片上 ,待自然干燥后 ,丙酮固定 10min ,自然干燥 ,在载玻片上滴加抗 REV 的鼠源单克隆抗体 11B118 和 11B154^[7] 的混合液作为一抗 ,37℃ 作用 45min ,用 PBS 漂洗 3 次 ,甩干残留的 PBS ,加入 FITC 标记的羊抗鼠 IgG (Sigma 公司)二抗 ,37℃ 作用 45min ,用 PBS 漂洗 3 次 ,甩干残留的 PBS ,滴加 50% 的甘油 ,荧光显微镜下观察 ,出现特异性绿色荧光的判定为阳性。

1.5.2 SDS-PAGE 和 Western blot 检测 :取转染 72h 后收集、保存的含有重组杆状病毒的上清接种 Sf9 细胞 ,培养 72h 后收集感染重组杆状病毒的细胞约 5×10^6 个 ,加入 1.5mL 的离心管中 ,2000r/min 离心 5min ,弃上清 ,用 PBS 洗涤 2 次 ,弃上清 ,加入细胞裂解液 100μL ,冰浴 30min ,加入 $2 \times$ 上样缓冲液 100μL 煮沸 3min ,离心 5min ,取上清电泳分析。用同样的方法处理用天然杆状病毒感染的 Sf9 细胞作为阴性对照 ,进行 SDS-PAGE 分析。按文献 [7] 介绍的方法进行 Western blot 试验 ,检测 Sf9 细胞中 *env* 基因的表达。本试验所选用的一抗为抗 REV 的鼠源单克隆抗体 11B118 和 11B154^[8] 两种单抗的混合液。

1.6 *env* 基因重组表达产物在 SPF 鸡的免疫反应及抗体水平的检测

用重组杆状病毒以 MOI 值为 2 ~ 3 的量感染处于对数生长期的 Sf9 细胞 ,待 4 ~ 5d ,细胞膨胀变大 ,并有部分感染细胞悬浮于上清中后 ,收集细胞 ,经超声波裂解 ,按水相 :油相 = 1:3 的比例制成油乳苗 ,相当于每毫升油乳苗中含有 400 万感染的 Sf9 细胞。以 0.5mL/只的剂量免疫 45 日龄的 SPF 鸡。SPF 鸡在带过滤空气装置的隔离罩内饲养 ,饲料及饮用水均高压灭菌 ,维生素及饲料添加剂亦经过无菌检测。免疫两次后 16d、34d、45d 采集的血清用 ELISA 标准试剂盒(Reticuloendotheliosis Virus Antibody Test Kit ,IDEXX 公司)进行检测。ELISA 试验检测结果的 S/P 值 > 0.5 判为阳性。

1.7 *env* 基因重组表达产物免疫 SPF 鸡后的 REV 病毒攻毒试验

按 1.6 中叙述的方法制备含有 *env* 基因表达产物的重组杆状病毒油乳苗 ,以 0.5mL/只的剂量免疫 45 日龄 SPF 鸡。所有 SPF 鸡在无隔离罩内饲养。

待 30d 后 ,用 REV 病毒以 10^6 TID₅₀/只的量进行攻毒 ,以后每隔 10d 无菌采血 ,以鸡胚成纤维细胞进行血液病毒分离试验并采用间接免疫荧光试验进行检测 ,以确定血液中 REV 病毒是否存在。以 ELISA 标准试剂盒检测血清中抗 REV 抗体的变化。

2 结果

2.1 含 REV env 基因的重组供体质粒的酶切鉴定

经初步筛选的重组供体质粒经 *EcoR* I 和 *Sal* I 酶切后 ,电泳结果呈现两条特异带 ,其中一条为 *env* 基因 ,大小约 1.8kb ;另一条为载体 ,大小约为 5.1kb。均与预期值一致 ,该重组供体质粒定名为 pFastBac-REV *env*。

2.2 含 REV env 基因重组杆状病毒全基因组质粒 DNA 的验证

将上述重组转移供体质粒 pFastBac-REV *env* 转化大肠杆菌 DH10BacTM 感受态细胞 ,在抗生素及指示剂的筛选下 ,选取白色菌落 ,经 3 次传代后 ,所得的菌落全部为白色菌落。选取其中一菌落大量扩增 ,提取质粒 DNA 作为模板 ,以 PUC/M13 为引物 ,PCR 扩增出一条约 4.4kb 的特异条带 ,*EcoR* I 单酶切成两条特异带 ,分别为 1.8kb 和 2.6kb ,与试验设计预期的大小相符。从而验证所筛选的菌落为含有 REV *env* 基因的重组表达载体质粒转化的阳性菌落 ,该重组质粒定名为 rBACMID-REV *env*。

2.3 表达 REV env 重组杆状病毒的检测

用含有 REV *env* 基因的重组杆状病毒全基因组质粒 rBACMID-REV *env* 的 DNA 转染 Sf9 细胞 ,在转染后 3d ,一些细胞开始出现细胞病变 ,贴壁的细胞开始悬浮起来 ,细胞形态变大 ,折光性增强 ,表明已有病毒形成。

2.3.1 IFA 检测重组 REV env 基因的表达 :在转染后 3d 和 7d 分别取 Sf9 细胞用 REV 的单克隆抗体做 IFA 检测 REV *env* 的表达 ,转染后 3d 有 5% ~ 10% 的细胞呈 IFA 阳性 ,转染 7d 后 IFA 检测的阳性细胞比例可达 95% 以上 ,表明已发生病毒向未感染细胞的传染(图 1)。取转染了 3d 的含有重组杆状病毒的上清 ,以 MOI 为 0.1 的量接种处于对数生长期的 Sf9 细胞 ,经 IFA 检测也同为阳性。说明已形成了能表达 REV *env* 的重组杆状病毒。

2.3.2 SDS-PAGE 和 Western blot 检测结果 :用转染 3d 的重组杆状病毒上清感染新鲜的 Sf9 细胞 ,培养 72h 后收集细胞。此细胞经 SDS-PAGE 分析后再用 Western blot 进一步分析(图 2) ,发现重组杆状病毒

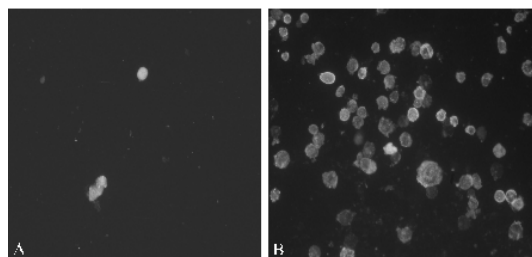


图 1 Sf9 细胞转染 3d (A) 和 7d (B) 后用 REV 单抗做 IFA 的检测结果

Fig.1 IFA of Sf9 cells detected by REV Mab after transfection for 3 (A) and 7 days (B)

所表达的蛋白(泳道 1)可以与 REV 特异性单抗 11B118 和 11B154 两种单抗混合液反应 ,天然杆状病毒中的蛋白(泳道 2)则不与两种单抗反应 ,表明 REV *env* 基因得到了表达 ,而且被剪切成两种蛋白 ,大小分别约为 45kD 和 62kD。

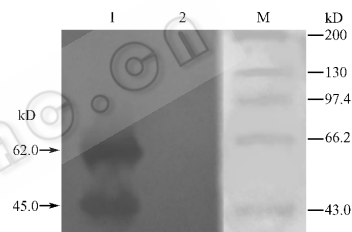


图 2 用 Western blot 检测 REV *env* 基因表达产物

Fig.2 Detection of REV-*env* protein by Western blot

1. Sf9 cells infected with the recombinant baculovirus expressing REV-*env* ; 2. Sf9 cells infected with the baculovirus ; M. Protein marker.

2.4 重组杆状病毒感染细胞免疫 SPF 鸡后抗 REV 抗体的检测

SPF 鸡免疫接种试验表明(表 1) ,用感染的 Sf9 细胞裂解产物二次免疫 16d 后 ,4 只鸡中(编号为 1 ~ 4)有 3 只鸡血清的 S/P 值大于 0.5 ,呈现强阳性 ,最高的一只鸡血清的 S/P 值竟高达 1.3891 ,只有一只鸡血清的 S/P 值为 0.48 ,尽管我们用标准判定为阴性 ,但其值也远高于对照鸡(编号为 5 ~ 7)血清的 0.02。随着免疫时间的延长 ,鸡体内 REV 的中和抗体滴度开始下降。在二免后 34d 检测时 ,尽管 4 只鸡中仍然有 3 只可以判定为阳性 ,但其 S/P 的平均值已降至 0.7977。在二免后 45d ,鸡血清中 REV 的中和抗体滴度进一步下降 ,除一只鸡意外死亡外 ,其余 3 只鸡血清的 S/P 值均已降至 0.5 以下 ,但仍高于对照鸡。

2.5 env 基因重组表达产物免疫 SPF 鸡后的 REV 病毒攻毒试验结果

攻毒后 10d 和 20d 分别采血分离病毒结果全部为阴性。而清田 ELISA 标准试剂盒检测 ,其抗体水

平并未升高。以上说明 REV 病毒并未在鸡体内增殖,从而证明 SPF 鸡在免疫此重组疫苗后,能产生坚强的免疫,以抵抗 REV 病毒的侵袭。

表 1 用表达 REV env 的 Sf9 细胞免疫的 SPF 鸡体内产生抗 REV 抗体的 ELISA 检测结果
Table 1 Detection of the anti-REV antibody by ELISA in vaccinated SPF chickens inoculated with Sf9 cell lysates which could express glycoprotein of REV

No. of chickens		16d		34d		45d	
		ELISA S/P	Result	ELISA S/P	Result	ELISA S/P	Result
Inoculated chickens	1	0.4770	*	0.2971	-	0.1411	-
	2	0.8201	+ ^a	0.7992	+	ND	
	3	1.3891	+	0.9121	+	0.4066	*
	4	0.9163	+	0.6820	+	0.4149	*
Un-inoculated chickens	5	0.0332	-	0.0293	-	0.0664	-
	6	-0.0083	-	0.0335	-	-0.0208	-
	7	-0.0249	-	0.0041	-	0.0083	-

+ :Positive result ; - :Negative result ; * :Close to positive result ; ND :Not done .a :The results in this table were determined on the base value of 0.5.

3 讨论

近年来,国内大量的流行病学调查及病例报告表明,REV 感染及其在我国鸡群中造成的危害已相当普遍。REV 可在年轻鸡群中引起免疫抑制和生长滞缓(特别是与其它病毒共感染时),也可引起肿瘤,很多专家已认为近几年我国鸡群中显著增加的肿瘤发病率均与 REV 感染相关。2001 年金文杰等^[9]从传染性法氏囊的病料中检测到 REV 的感染率为 22.7%。2003 年姜世金等^[10]曾用斑点杂交方法对我国 800 余份发生肿瘤的样品进行检测,其中 REV 的阳性率高达 80% 以上。2004 年张志等^[11]从马立克氏病病毒中检测到 REV 的共感染率至少为 36.8%。显然,REV 的感染应引起人们的重视。

REV 可以在鸡胚和鸡胚成纤维细胞上复制,但复制量较低,用其做成疫苗免疫鸡后,很难诱发抗体。因此迄今为止,国内外还没有可以用来有效防治 REV 的疫苗,本文则是对此进行的一次尝试。

Bac to Bac 杆状病毒表达系统的突出优点是阳性重组率高,不需要空斑纯化即可获得重组体,这大大减少了鉴定和纯化重组病毒的时间。本试验采用的转移供体质粒 pFastBacTM DUAL 为双向表达载体。此供体质粒有两个强真核启动子,分别为多角体蛋白(Polh)启动子和 p10 启动子,能高效表达两段外源基因。此表达系统中的 *E. coli* DH10BacTM 菌株中含有天然杆状病毒全基因组质粒和提供转座酶的辅助质粒。本研究将已整合进 REV env 的重组供体质粒 pFastBac-REV env 在辅助质粒表达的转座酶的作用下,将 REV env 基因转座到天然重组杆状病毒的

全基因中,形成重组的杆状病毒基因组质粒 rBACMID-REV env,并以此质粒 DNA 转染 Sf9 细胞获得了能表达 REV env 的重组杆状病毒。经 Western blot 分析发现,在昆虫细胞中表达的 REV 的囊膜蛋白表现为分子量分别大约为 62kD 和 45kD 二条带。其中,62kD 条带与我们过去用单抗 11B118 和 11B154 做免疫沉淀反应从 REV 感染的 CEF 中识别的 62kD 囊膜糖蛋白相符^[8];另一条 45kD 的蛋白带可能是完整的囊膜蛋白在 Sf9 细胞中被剪切的产物。

对于不同日龄的鸡来说,雏鸡对 REV 最易感,而且 REV 感染的最主要传播途径为母鸡通过鸡蛋到雏鸡的垂直感染,因此如果鸡性成熟前产生中和抗体,就可以大大减少以至完全阻止这种垂直感染。在 REV 基因组中,REV 的 env 基因与中和抗体的产生有密切关系。尽管 REV 毒株不同,但毒株之间的抗原性相似,交叉免疫性也较强^[12]。因此,我们在试验前设想用真核系统表达 REV 的 env 基因作为抗原免疫种鸡群,如能产生抗 REV 抗体,就可实现这一目的。结果表明真核表达的囊膜糖蛋白免疫 SPF 鸡后,确实可以刺激鸡体产生抗 REV 抗体(表 1),在免疫接种 16d 后 REV 中和抗体的滴度最高可达 1.3891,这证明本试验中用杆状病毒重组表达的囊膜糖蛋白具有一定的免疫原性。且经攻毒试验证明此重组蛋白能刺激机体产生中和抗体,以抵抗 REV 的感染。但在已完成的试验中,该重组蛋白在鸡体内诱发的抗 REV 抗体下降较快,45d 后的含量已降为 16d 时的 40% 左右。显然,为了加强免疫反应,延长鸡体内的抗体持续时间,在提高抗原浓度和选择合适的佐剂上还要做进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Jackson C A W , Dunn S E , Smith D I , *et al.* Proventriculitis , " Nakanuke " and reticuloendotheliosis in chickens following vaccination with herpesvirus of turkeys . *J Vet* ,1977 **53** :457 - 458 .
- [2] 崔治中 ,孙怀昌 ,朱承如 .禽白血病及禽网状内皮增生病毒感染情况的调查 .中国畜禽传染病 ,1987 (1) 37 - 38 .
- [3] Witter R L . Reticuloendotheliosis . In : Calnek B W , *et al.* ed . Disease of Poultry , 10th ed . USA (Ames) : Iowa State University Press , 1997 , 467 - 484 .
- [4] 崔治中 ,杜 岩 ,赵文明 ,等 .禽网状内皮组织增生病毒病毒感染和鸡群的免疫抑制 .中国兽药杂志 2000 **34** (1) :1 - 3 .
- [5] Tsai W P , Oroszlan S . Site directed cytotoxic antibody against the C-terminal segment of the surface glycoprotein gp90 of avian reticuloendotheliosis virus . *Virology* ,1988 **166** :608 - 611 .
- [6] Tsai W P , Copeland T D , Oroszlan S . Biosynthesis and chemical and immunological characterization of avian reticuloendotheliosis virus *env* gene-encoded proteins . *Virology* ,1986 **155** :567 - 583 .
- [7] Sambrook J , Fritsch E F , Maniatis T . 分子克隆实验指南 . 金冬雁 ,黎孟枫 ,等译 . 第二版 . 北京 : 科学出版社 ,1996 .
- [8] Cui Z Z , Lee L F , Silva R F . Monoclonal antibodies against avian reticuloendotheliosis virus . Identification of strain-specific and strain-common epitopes . *J Immunol* ,1986 **136** :4237 - 4242 .
- [9] 金文杰 ,崔治中 ,刘岳龙 ,等 . 传染性法氏囊病病料中 MDV 、CAV 、REV 的共感染检测 . 中国兽医学报 2001 **1** :6 - 9 .
- [10] 姜世金 ,田夫林 ,崔治中 . 传染性腺胃炎发病鸡中 MDV /REV /CAV 共感染的检测 . 中国兽医杂志 2004 **40** (4) :10 - 12 .
- [11] 张 志 ,崔治中 ,姜世金 . 从 J 亚群白血病肿瘤中检测出禽网状内皮组织增生症病毒 . 中国兽医学报 2004 **24** (1) :10 - 13 .
- [12] Delwart E L , Panganiban A T . Role of reticuloendotheliosis virus envelope glycoprotein in superinfection interference . *J Virol* ,1989 **63** (1) :273 - 280 .

Immunogenicity of envelope glycoprotein gene of reticuloendotheliosis virus expressed in insect cell

WANG Xi-le ZHANG Zhi JIANG Shi-jin CUI Zhi-zhong*

(College of Animal Science and Veterinary Medicine , Shandong Agricultural University , Tai 'an 271018 , China)

Abstract : A recombinant baculovirus expressing reticuloendotheliosis virus *env* gene was constructed with Bac-to-Bac Baculovirus Expression Systems . After transfecting the recombinant virus into Sf9 cells for 3 days , REV *env* can be detected by indirect immunofluorescence antibody assay (IFA) and Western blot with specific monoclonal antibodies of REV . The oil-water emulsion vaccine was then produced using this infected Sf9 cells lysates and inoculated SPF chickens to validate the immunogenicity for REV . The results show that special anti-REV antibody can maintain more than 45 days and resist the infection of REV viruses . This is the first success to induce anti-REV antibody in chickens by none-live viruses .

Key words : Reticuloendotheliosis virus (REV) , Envelope glycoprotein gene (*env*) , Expression , Sf9 cells , Immunogenicity

Foundation item : Key Project of Chinese National Natural Science Fund (30330450)

* Corresponding author . E-mail : zzcui@sdau.edu.cn

Received date : 10-27-2004

《微生物学报》真诚欢迎刊登广告

《微生物学报》(双月刊)创刊于1953年,由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办,是我国微生物学领域唯一的综合性学报级期刊和国家自然科学基金核心期刊,被国内外多家重要的文摘刊物和数据库收录。

本刊历史悠久,发行量大,内容涵盖面广,主要报道普通微生物学、工业、农业、医学和兽医微生物学、病毒学、免疫学以及生物工程等方面的研究成果和科研进展。一直受到国内外科研工作者、高等院校师生和相关企业界的欢迎。

本刊可以为您定期发布与微生物学相关的试剂、药品、仪器、设备及生物技术等方面的产品信息,可为您开拓在微生物学领域新的发展空间。另外,与生命科学有关的各类服务信息也在本刊发布之列。

本刊态度严谨,信守协议,由中国科学院科学出版社广告部代理广告业务(广告经营许可证:京东工商广字第0034号),编辑部备有最新的期刊简介和报价单,欢迎与我们联系。

电 话 (010) 62630422 传 真 (010) 62554303 电子信箱 : actamicro@sun.im.ac.cn

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>