

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
51(3):423-428; 4 March 2011
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

Asia1 型口蹄疫病毒受体结合位点多样性

李平花^{1,2}, 白兴文², 孙普², 卢曾军², 曹伟军², 吴润¹, 殷宏², 刘在新^{2*}

¹甘肃农业大学 动物医学院, 兰州 730070

²中国农业科学院兰州兽医研究所, 家畜疫病病原生物学国家重点实验室, 农业部畜禽病毒学重点实验室, 国家口蹄疫参考实验室, 兰州 730046

摘要:【目的】口蹄疫病毒 (Foot-and-Mouth Disease Virus, FMDV) 通过结构蛋白 VP1 G-H 环上高度保守的精氨酸-甘氨酸-天门冬氨酸 (Arg-Gly-Asp, RGD) 基序与整联蛋白结合起始病毒的感染, 但 FMDV 是 RNA 病毒, 在环境条件变化时, FMDV 能够以非 RGD 的途径起始病毒的感染。为了研究 FMDV Asia1/JS/China/05 田间舌皮毒经两种不同的途径短期传代后细胞受体结合基序 RGD 的变异。【方法】采用 RT-PCR 方法扩增 FMDV Asia1/JS/China/05 田间毒、田间毒的乳鼠适应毒第四代 (MF4) 和接种田间毒的牛同居感染的猪水泡病料适应细胞的第八代毒 (PBF8) 结构蛋白 VP1 基因, 并对不同病毒 VP1 基因的 PCR 产物测序和 cDNA 文库测序。【结果】以含 RGD 受体结合基序为优势的田间毒在乳鼠上短期传代后出现了含精氨酸-丝氨酸-天门冬氨酸 (Arg-Ser-Asp, RSD) 和 RGD 受体结合基序的混合种群, 而同居感染后的细胞传代病毒种群则以含精氨酸-天门冬氨酸-天门冬氨酸 (Arg-Asp-Asp, RDD) 受体结合基序为优势种群。【结论】发现了含 RGD 受体结合位点为优势的 FMDV 种群, 经不同的宿主短期传代后产了含 RSD 或 RDD 受体结合基序的优势种群, 该发现不仅增加了保守基序 RGD 发生替换的 FMDV 变异株的数量, 而且为 FMDV 的细胞识别和宿主嗜性的改变等进一步研究奠定了物质基础。

关键词: 口蹄疫病毒, 受体结合位点, 多样性

中图分类号: S852.65 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2011) 03-0423-06

口蹄疫 (Foot-and-Mouth Disease, FMD) 是由口蹄疫病毒 (Foot-and-Mouth Disease Virus, FMDV) 引起猪、牛和羊等 70 多种偶蹄动物感染的一种急性、热性、高度接触性的传染病, 该病目前几乎在世界范围内广泛流行, 严重影响了世界畜牧业的发展及动物或动物产品的国际贸易, 因而倍受世界各国的普遍关注。

FMDV 属于小 RNA 病毒科 (Picornaviridae), 口蹄疫病毒属 (*Aphthovirus*)。病毒粒子由结构蛋白

VP4、VP2、VP3 和 VP1 各 60 分子组成的衣壳包裹一分子的单股正链 RNA 组成。其中 VP2、VP3、和 VP1 蛋白位于衣壳的表面, VP4 位于衣壳的内部。衣壳蛋白 VP1 上含有一个高度易变的 G-H 环, 该环上不仅含有病毒主要的中和抗原位点, 而且含有一个高度保守的 RGD 基序^[1-3], 该基序是病毒与细胞受体相结合起始感染的关键位点, 缺失和突变该位点都不能拯救到活的病毒^[4-5]。尽管 FMDV 的 RGD 是病毒侵染细胞必须的, 但是 FMDV 是 RNA 病毒,

基金项目: 国家“973 项目” (2005CB523201); 国家支撑计划 (2006BAD06A12)

* 通信作者。Tel: +86-931-8342587; E-mail: liukey@public.lz.gs.cn

作者简介: 李平花 (1973-), 女, 甘肃武威人, 博士研究生, 研究方向为口蹄疫反向遗传学。E-mail: xiaoxiaoyezi510@sohu.com

收稿日期: 2010-08-13; **修回时间:** 2010-12-07

存在准种特性,当外界条件变化时(连续传代,免疫压力等)会产生不同的抗原变异株,这些变异株能够获得以非 RGD 基序起始病毒感染的能力^[6]。如 FMDV C-S8 c1 在细胞上连续传 100 代,产生一株含精氨酸-甘氨酸-甘氨酸(Arg-Gly-Gly, RGG)受体结合基序的突变株,继续在细胞上繁殖含 RGG 的病毒 50 代,又产生一株含甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸(Gly-Gly-Gly, GGG)受体结合基序的突变株^[6-7]。另外从 FMDV 合成肽苗免疫的牛体内分离到含甘氨酸-甘氨酸-天门冬氨酸(Gly-Gly-Asp, GGD)受体结合基序的突变株^[8-9]。与这些结果一致的是 A24 FMDV 在牛体内连续传 9 代,结果产生一株含丝氨酸-甘氨酸-天门冬氨酸(Ser-Gly-Asp, SGD)代替原来 RGD 的病毒^[10]。这些非 RGD 的变异株要么拓宽了宿主嗜性^[6]、要么其抗原性发生变化^[8-9],要么降低了对特定受体的利用效率^[10]。本研究通过对 FMDV Asia1/JS/China/05 田间分离株不同传代的病毒 VP1 基因进行序列测定,发现该 FMDV 种群在经不同的宿主传代,产生了含不同受体结合基序(RSD 和 RDD)的优势种群。该发现不仅增加了 RGD 发生替换的变异株的数量,而且为病毒的抗原性、宿主嗜性的改变和 FMDV 细胞识别等的研究提供了宝贵的物质材料。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 毒株、菌种与细胞: FMDV Asia1/JS/China/05 田间分离株(WT)由国家口蹄疫参考实验室提供, BHK-21 细胞由基因与分子标识课题组保存。FMDV Asia1/JS/China/05 乳鼠第 4 代毒(MF4)及 FMDV Asia1/JS/China/05 接种牛后与猪同居感染的水泡液在 BHK-21 细胞上适应的第 8 代毒(PBF8)由基因与分子标识课题组保存。

1.1.2 主要试剂: RNeasy Mini Kit、Plasmid Mini Kit 购自 Qiagen 公司; PrimeSTARTM HS DNA Polymerase、Reverse Transcriptase XL (AMV)、DL 2000 DNA Marker、dNTP、Agarose Gel DNA Purification Kit、大肠杆菌(*Escherichia coli*) JM109 感受态细胞、限制性内切酶均购自 TaKaRa 公司; pGEM-T 载体购自 Promega 公司。

1.2 RNA 的提取

用 RNeasy Mini Kit (Qiagen) 按说明书从 FMDV

Asia1/JS/China/05 田间毒,乳鼠传代毒 MF4、同居感染适应的细胞毒 PBF8 中提取总 RNA,具体操作按照说明书进行。

1.3 VP1 基因的 RT-PCR

用 NK61 反转录合成第一链 cDNA,然后以合成的第一链 cDNA 为模板,用 PrimeSTARTM HS DNA Polymerase 进行 VP1 基因的扩增,所用引物是 VP31 和 NK61。为了验证测序结果的正确性,对所有样品进行了多次 RT-PCR 和序列测定。同时用无 RNA 酶的 DEPC 水做对照。扩增条件为:94℃ 预变性 1 min;再按 98℃ 20 s,68℃ 40 s 进行 30 个循环;最后 72℃ 延伸 7 min。扩增产物用 DNA 凝胶试剂盒纯化回收后送上海桑尼公司测序。

1.4 VP1 片段的克隆及 cDNA 文库序列的测定

将上述纯化的 3 种病毒的 VP1 基因克隆到 pGEM-T Easy 载体上,转化 *E. coli* JM109 感受态细胞,单克隆摇菌后提取质粒,挑选阳性克隆,酶切鉴定正确后,分别各选取 3 种病毒 10 个阳性质粒,送上海桑尼有限公司进行序列测定。

1.5 VP1 部分核苷酸序列的比对

利用 DNA STAR 软件对 FMDV Asia1/JS/China/05 田间毒 VP1 基因 cDNA 文库的核苷酸序列进行比对,分析同种病毒种群核苷酸序列的异质性。

2 结果和分析

2.1 VP1 片段的 PCR 扩增

使用 VP31 和 NK61 特异引物,用反转录的 cDNA 模板分别扩增出 FMDV Asia1/JS/China/05 田间牛舌皮毒,乳鼠传代毒 MF4 和同居感染适应的细胞毒 PBF8 的 VP1 片段,电泳结果与预期大小一致,对照组没有扩出任何片段(图 1)。

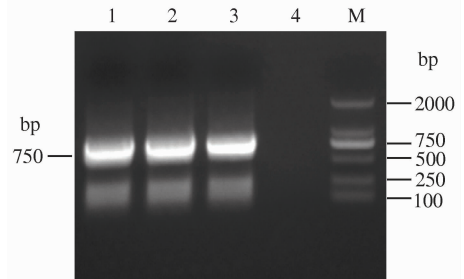


图 1 FMDV Asia1/JS/China/05 演变株的 VP1 扩增产物
Fig. 1 VP1 PCR products of FMDV Asia1/JS/China/05 derivatives. 1, 2 and 3: VP1 PCR fragment of WT, MF4 and PBF8; 4: Negative control; M: DL 2000 DNA marker.

2.2 VP1 片段的序列测定

将 FMDV Asia1/JS/China/05 田间毒, 乳鼠传代毒 MF4 和同居感染适应的细胞毒 PBF8 的 VP1 基因片段的 PCR 产物纯化后直接进行序列的测定, 结果显示 MF4 VP1 基因 PCR 产物的测序信号峰图在 578 为出现双峰(图 2 - 左), 受体结合位点核苷酸

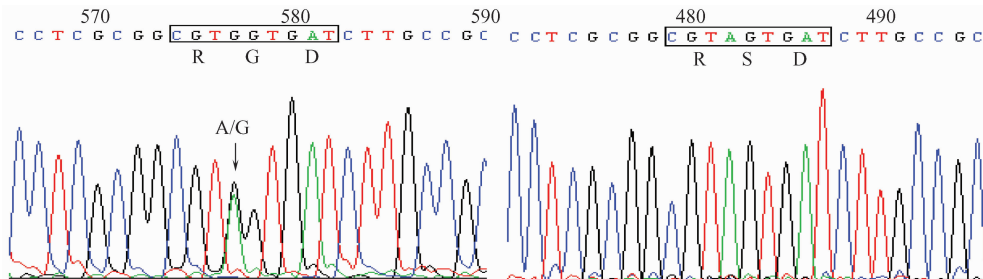


图 2 两次 MF4 VP1 测序峰图

Fig. 2 Sequence peak of VP1 gene of MF4.

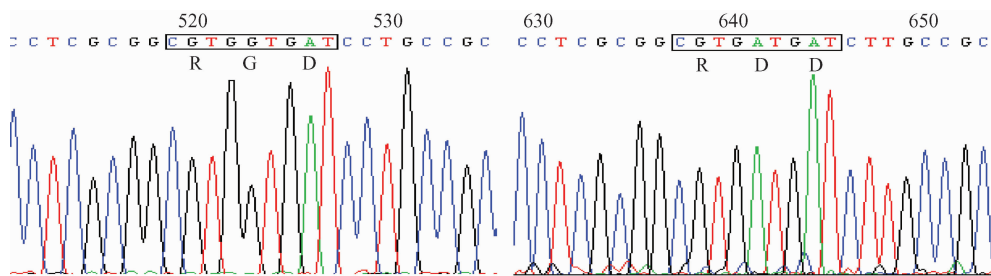


图 3 Asia1/JS/China/05 田间毒和 PMF8 VP1 测序峰

Fig. 3 Sequence peak of VP1 gene of Asia1/JS/China/05 field virus and PMF8. Left: Sequence peak of VP1 gene of Asia1/JS/China/05 field virus; Right: Sequence peak of VP1 gene of PMF8.

2.3 VP1 重组质粒的鉴定

将含有 FMDV Asia1/JS/China/05 田间毒, 乳鼠

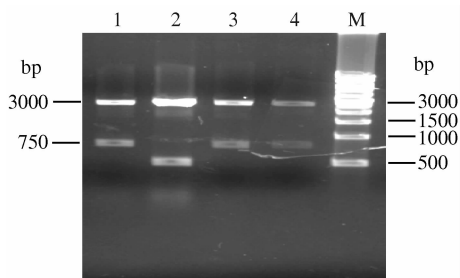


图 4 三种病毒 VP1 重组质粒的酶切鉴定

Fig. 4 Identification of recombinant plasmids containing VP1 genes of three FMDV isolates by restriction enzyme digestion. 1, 3, 4: Recombinant plasmids of VP1 of three viruses with *Xba* I and *Spe* I cut; 2: False positive plasmids cut with *Xba* I and *Spe* I; M: Wide range DNA marker.

出现两种编码情况: RGD 和 RSD, 而此次测序反应在序列测定的有效范围内不存在其他套峰, 而另一次 PCR 测序的结果在受体结合基序处为 RSD(图 2 - 右), 而田间牛舌皮毒(图 3 - 左)和同居感染适应的细胞毒 PBF8(图 3 - 右)的两次 PCR 产物测序峰图均无套峰, 编码一种受体结合基序。

传代毒 MF4 和同居感染适应的细胞毒 PBF8 三种病毒 VP1 片段的阳性克隆分别用 *Spe* I 和 *Xba* I 共切, 结果切出约 750 bp 和 3000 bp 左右的目的带, 与预期大小一致(图 4)。

2.4 三种病毒 VP1 重组质粒 cDNA 文库序列测定

各挑选 10 个鉴定正确的 FMDV Asia1/JS/China/05 田间牛舌皮毒和 PBF8 的 VP1 的阳性重组质粒进行序列测定, 测序结果表明前者的 10 个阳性克隆测定的细胞受体结合位点均为 RGD, 后者的细胞受体结合位点均为 RDD。

挑选 10 个鼠毒 MBF4 VP1 的阳性重组进行序列测定, 结果其中 6 克隆的受体识别位点为 RGD, 4 个为 RSD, 该结果与 PCR 直接测序结果一致。

2.5 VP1 部分核苷酸序列和氨基酸序列的比对

对 FMDV Asia1/JS/China/05 株田间牛舌皮毒

VP1 的 10 个阳性克隆的核苷酸序列进行比对,结果表明在同一种群的病毒存在基因的异质性,这些结果佐证了口蹄疫的高度易变性和病毒的准种特性。

3 讨论

FMDV 是 RNA 病毒,存在准种特性,当外界条件改变时(细胞上连续传代,免疫压力等),允许迅速的选择变异株来适应新的环境。这些病毒突变株获得了衣壳蛋白上一些氨基酸的变化,包括受体结合基序 RGD 内部氨基酸的替换。本研究对 FMDV Asia1/JS/China/05 田间分离株的乳鼠传代毒 MF4 VP1 基因进行序列测定,扩增测序的结果表明在编码受体结合基序的核苷酸存在差异(其中目的基因的扩增采用高保证的 DNA 聚合酶,并且同一样品进行了多次扩增和测序,排除了扩增过程中碱基突变和一些人为因素造成结果的失真),为了验证 PCR 片段序列测定的正确性,将乳鼠第四代的 VP1 基因的 10 个重组质粒进行 cDNA 文库序列测定,结果其中 6 个克隆编码 RGD 受体结合基序,4 个克隆编码 RSD 受体结合基序,与 PCR 测序的结果一致,这些结果说明鼠毒第 4 代的病毒种群由含 RGD 和 RSD 受体结合位点的病毒组成,也就是说 Asia1/JS/China/05 在经乳鼠的短期传代过程中,出现了含 RSD 和 RGD 受体结合基序的优势种群,并且在乳鼠和细胞上的进一步传代过程中,含 RSD 和 RGD 的病毒维持动态的平衡。而 Asia1/JS/China/05 株的田间毒和牛、猪同居感染后的猪水泡液的细胞适应毒第 8 代的 VP1 基因进行序列的测定,结果前者的 10 个阳性克隆的受体结合位点为 RGD,后者的受体结合位点为 RDD。这说明了 FMDV Asia1/JS/China/05 在田间是以含 RGD 受体识别基序的病毒为优势种群,而在经过牛和猪的同居感染,然后适应细胞后,该病毒则以含 RDD 受体识别基序的病毒为优势种群。这些现象说明了说明了在环境改变时,FMDV 高度保守的 RGD 基序具有功能的灵活性。这些非 RGD 变异株的出现不仅为 FMDV 的准种理论提供了直接的证据,而且也解释了控制和消灭口蹄疫的难度越来越大的原因。

RNA 病毒种群的一个重要特点就是基因的异质性,有以下几种原因产生,首先是 RNA 依赖的 RNA 聚合酶在病毒复制过程中没有校对功能;其次

是 FMDV 的复制周期比较短;最后是环境的选择压力(包括免疫压力和非免疫压力)^[11-12]。在本研究中,FMDV Asia1/JS/China/05 株经短期的传代就产生了含 RSD 和 RDD 受体结合基序的变异株,推测其原因可能是 Asia1/JS/China/05 病毒种群在田间主要以含 RGD 基序的病毒为优势种群和变异株组成,当环境条件变化时,病毒与宿主之间的相互作用给病毒种群施加了选择压力,使自然病毒种群的平衡失调,导致那些已经在自然界少量存在的病毒变异株(如含 RSD 和 RDD 基序的病毒)更适应新的环境而变为优势种群。非 RGD 病毒在自然界中存在的直接的证据,来自本实验室在 2006 年的 Asia1 型 FMDV 流行地区的羊 OP 液中扩增到含有 RDD 受体结合基序的病毒基因^[13];另外 FMDV A10 Argentina/61^[10]和 O/Akesu/58^[12]的田间毒株也以 SGD 受体结合位点起始病毒的感染,而非保守的 RGD 基序。

微生物的遗传变异是微生物疾病出现的主要原因,RNA 病毒极易发生变异,从而导致病毒的宿主嗜性,受体使用和抗原性等生物学特性的的改变^[14]。例如人流感病毒单克隆抗体的筛选的突变株改变了识别特异性唾液酸分子的能力^[15],HIV-1 的变异使病毒获得了逃逸特异性细胞毒 T 淋巴细胞(CTL)的攻击的能力^[16];在 AID 病晚期,随着 CD4 + T 细胞的耗竭,HIV-1 的变异株则以 CD8 + T 淋巴细胞作为受体^[17]。FMDV 是 RNA 病毒,在免疫压力或非免疫压力下极易发生变异,表现为 FMDV 存在 7 个血清型、许多的亚型和抗原变异株,这是有效控制和消灭口蹄疫的主要障碍。FMDV 的变异主要发生在病毒衣壳蛋白上,而衣壳蛋白上氨基酸的替换将会导致病毒受体利用、宿主嗜性和抗原性等改变。如 O 型 FMDV 适应细胞后产生了在衣壳蛋白 VP3 56 位含精氨酸的突变株,该病毒获得了与硫酸乙酰肝素受体相互作用的能力^[18-19]。C 型 FMDV 在细胞上传代 100 次,在衣壳蛋白上获得了几个氨基酸的替换,结果该病毒既不利用 HS 途径,也不利用整联蛋白途径,而是利用了目前未知的第 3 种途径进入细胞^[6,20-21],另外含 RGD 和 SGD 的 A 型重组 FMDV 存在毒力和整联蛋白受体利用的差异^[10]。本研究发现 FMDV 经不同宿主短期传代后产生含有 RSD 和 RDD 受体识别位点的优势突变株,不仅增加了含非 RGD 受体结合基序

FMDV 种群的数量和复杂性,而且为未来进一步分析含非 RGD 受体识别基序 FMDV 的受体应用的情况、对自然宿主的致病力、宿主嗜性及抗原性等的研究提供很好的素材,特别是为进一步研究 FMDV 尚未鉴定的第 3 种受体的利用情况提供了丰富的物质材料。

参考文献

- [1] Acharya R, Fry E, Stuart D, Fox G, Rowlands D, Brown F. The three-dimensional structure of foot-and-mouth disease virus at 2.9 Å resolution. *Nature*, 1989, 337: 709-716.
- [2] Logan D, Abu-Ghazaleh R, Blakemore W, Curry S, Jackson T, King A, Lea S, Lewis R, Newman J, Parry N, Rowlands D, Stuart D, Fry E. Structure of a major immunogenic site on foot-and-mouth disease virus. *Nature*, 1993, 362:566-568.
- [3] Mateu MG, Camarero JA, Giralt E, Andreu D, Domingo E. Direct evaluation of the immunodominance of a major antigenic site of foot-and-mouth disease virus in a natural host. *Virology*, 1995, 206:298-306.
- [4] Mason PW, Rieder E, Baxt B. RGD sequence of foot-and-mouth disease is essential for infecting cells via the natural receptor but can be bypassed by an antibody-dependent enhancement pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994, 91:1932-1936.
- [5] Leippert M, Beck E, Weiland F, Pfaff E. Point mutations within the β G- β H loop of foot-and-mouth virus O1K affect virus attachment to target cells. *Journal of Virology*, 1997, 71:1046-1051.
- [6] Martínez MA, Verdaguer N, Mateu MG, Domingo E. Evolution subverting essentiality: dispensability of the cell attachment Arg-Gly-Asp motif in multiply passaged foot-and-mouth disease virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997, 94:6798-6802.
- [7] Ruiz-Jarabo CM, Sevilla N, Dávila M, Gómez-Mariano G, Baranowski E, Domingo E. Antigenic properties and population stability of a foot-and-mouth disease virus with an altered Arg-Gly-Asp receptor recognition motif. *Journal of General of Virology*, 1999, 80:1899-1909.
- [8] Taboga O, Tami C, Carrillo E, Núñez JI, Rodríguez A, Saíz JC, Blanco E, Valero ML, Roig X, Camarero JA, Andreu D, Mateu MG, Giralt E, Domingo E, Sobrino F, Palma EL. A large - scale evaluation of peptide vaccines against foot-and-mouth disease: lack of solid protection in cattle and isolation of escape mutants. *Journal of Virology*, 1997, 71:2606-2614.
- [9] Tami C, Taboga O, Berinstein A, Núñez JI, Palma EL, Domingo E, Sobrino F, Carrillo E. Evidence of the coevolution of antigenicity and host cell tropism of foot-and-mouth disease virus in vivo. *Journal of Virology*, 2003, 77:1219-1226.
- [10] Rieder E, Henry T, Duque H, Baxt B. Analysis of a foot-and-mouth disease virus type A24 isolate containing an SGD receptor recognition site in vitro and its pathogenesis in cattle. *Journal of Virology*, 2005, 79: 12989-12998.
- [11] Tosh C, Sanyal A, Hemadri D, Venkataramanan R. Phylogenetic analysis of serotype A foot-and-mouth disease virus isolated in India between 1977 and 2000. *Archives of Virology*, 2002, 147: 493-513.
- [12] Li D, Liu ZX, Bao HF, Lu ZJ, Guo JH, Cao YM, Li PH, Bai XW, Chen YL, Xie BX, Cai XP, Xie QG. The complete genome sequence of foot-and-mouth disease virus O/Akesu/58 strain and its some molecular characteristics. *Archives of Virology*, 2007, 152: 2079-2085.
- [13] 王建东, 卢曾军, 包慧芳, 曹轶梅, 郭建宏, 刘湘涛, 何生虎, 杨春生, 刘在新. 羊 O/P 液中 Asia I 型口蹄疫病毒 VP1 基因 3'端序列的分析. *中国兽医学 (Chinese Veterinary Science)*, 2008, 38 (07) : 559-562.
- [14] Baranowski E, Rui'z-jarabo CM, Pariente N, Verdaguer N, Domingo E. Evolution of cell recognition by viruses: a source of biological novelty with medical implications. *Virus Research*, 2003, 62:19-111.
- [15] Skehel JJ, Wiley DC. Receptor binding and membrane fusion in virus entry: the influenza hemagglutinin. *Annual Review Biochemistry*, 2000, 69:531-569.
- [16] Yang OO, Sakis PTN, Ali A, Harlow JD, Brander C, Kalams SA, Walker BD. Determinant of HIV-1 mutational escape from cytotoxic T lymphocytes. *The Journal of Experimental Medicine*, 2003, 197: 1365-1375.
- [17] Saha K, Zhang JC, Gupta A, Dave R, Meron Y, Zerhouni B. Isolation of primary HIV-1 that target CD8 + T lymphocytes using CD8 as a receptor. *Nature Medicine*, 2001, 7:65-72.
- [18] Jackson T, Ellard FM, Ghazaleh RA, Brookes SM, Blakemore WE, Corteyn AH, Stuart DI, Newman JW, King AM. Efficient infection of cells in culture by type O

foot-and-mouth disease virus requires binding to cell surface heparan sulfate. *Journal of Virology*, 1996, 70: 5282-5287.

- [19] Sa-carvalho D, Rieder E, Baxt B, Rodarte R, Tanuri A, Mason PW. Tissue culture adaptation of foot-and-mouth disease virus selects viruses that bind to heparin and are attenuated in cattle. *Journal of Virology*, 1997, 71:5115-5123.

- [20] Baranowski E, Ruiz-Jarabo CM, Sevilla N, Andreu D,

Beck E, Domingo E. Cell recognition by foot-and-mouth disease virus that lacks the RGD integrin-binding motif: flexibility in Aphovirus receptor usage. *Journal of Virology*, 2000, 74:1641-1647.

- [21] Zhao Q, Pacheco J, Mason PW. Evaluation of genetically engineered derivatives of a Chinese strain of foot-and-mouth disease reveals a novel cell-binding site which functions in cell culture and in animals. *Journal of Virology*, 2003, 77:3269-3280.

Diversity of receptor recognition site of type Asia1 foot-and-mouth disease virus

Pinghua Li^{1,2}, Xingwen Bai², Pu Sun², Zengjun Lu², Weijun Cao², Run Wu¹, Hong Yin², Zaixin Liu^{2*}

¹Veterinary College of Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

²State Key Laboratory of Veterinary Etiological Biology, Key Laboratory of Animal Virology of Ministry of Agriculture, National Foot-and-Mouth Disease Reference Laboratory, Lanzhou Veterinary Research Institute of Chinese Academy of Agriculture Sciences, Lanzhou 30046, China

Abstract: [**objective**] Foot-and-Mouth Disease Virus (FMDV) initiates infection by binding to integrin receptors via a highly conserved Arg-Gly-Asp (RGD) sequence found in the G-H loop of the structural protein VP1. However, FMDV is an RNA virus, which harbors the evolutionary potential to render the RGD motif dispensable upon changes in constant environment. We studied mutation of RGD motif upon short-time passages FMDV Asia1/JS/China/2005 field strain in different host. [**Methods**] VP1 gene was amplified from Asia1/JS/China/05 field strain, the fourth passage virus in sulking mice (MF4) of the above strain and the virus isolated from a pig housing with cattle inoculated with the above strain followed eight passages in BHK-21 cell (PBF8) by RT-PCR, and the VP1 genes were sequenced and their deduced amino acid sequences were compared with each other. [**Result**] Dominant population with RGD and Arg-Ser-Asp (RSD) receptor recognition site motif was generated after four passages of Asia1/JS/China/2005 field virus in sulking mice and another dominant population with Arg-Asp-Asp (RDD) motif was produced after eight passages the virus isolated from housing pig with cattle inoculated with the above field strain. [**Conclusion**] This study indicated that the dominant FMDV virus populations with RSD or RDD receptor binding site instead of original RGD motif were produced upon short-time evolution of FMDV field isolates with RGD motif in different environment. These studies not only increase number of viable mutants with substitutions in the RGD region, but also these profoundly altered, but viable, mutants with different receptor recognition site will provide useful tools for studies of cell recognition by FMDV and host tropism modifications.

Keywords: Foot-and-mouth disease virus (FMDV), receptor recognition site, diversity

(本文责编:王晋芳)

Supported by the Key Project of China National Programs for Fundamental Research and Development (2005CB523201)

* Corresponding author. Tel: +86-931-8342587; E-mail: liukey@public.lz.gs.cn

Received: 13 August 2010/ Revised: 7 December 2010