

一株鸡传染性贫血病毒野毒株致病性及其全基因组序列比较

李延鹏, 崔治中*

(山东农业大学动物科技学院 泰安 271000)

摘要: 从山东某商品代肉鸡场表现生长迟缓的 14 日龄病鸡群分离到一株鸡传染性贫血病毒(CAV)C14 株。C14 株感染 1 日龄 SPF 鸡能抑制对禽流感病毒(AIV)的抗体反应,还能与禽网状内皮增生病病毒(REV)在免疫抑制上起协同作用。用 PCR 方法分段扩增出 C14 基因组的三条部分重叠片段,分别克隆于 T 载体并进行测序,拼接后得到其全基因组序列。测序结果表明,CAV-C14 株基因组全长 2298bp,含有 3 个互相重叠的开放阅读框和 1 个调控区。将 C14 与国内外已发表的 CAV 参考株基因组比较,同源率为 97.2%~99.2%。序列比较表明 CAV 非编码区中含有的多个与复制及转录调控相关已知基序的序列都非常保守。CAV 的 3 个编码基因 VP1、VP2 和 VP3 均有一定程度变异,以 VP1 变异性最大,且不同毒株间的 3 个蛋白质氨基酸序列的变异是互不相关的。

关键词: 鸡传染性贫血病毒(CAV)致病性;全基因组;序列比较

中图分类号:Q936 文献标识码:A 文章编号:1001-6209(2007)05-0894-05

鸡传染性贫血病毒(Chicken infectious anemia virus, CAV)可引起雏鸡骨髓造血组织和胸腺等淋巴组织萎缩,从而导致贫血和免疫抑制^[1]。自 1979 年日本学者 Yuasa 等^[2]首次发现并报道该病毒以来,世界各地鸡群中均已证明 CAV 感染普遍存在^[3]。

CAV 被归类为圆环病毒科(Circoviridae),病毒颗粒为无囊膜、二十面体形,直径约为 23nm~25nm。CAV 全基因长 2298 或 2319bp,这取决于非编码区存在 4 个或 5 个 21bp 的直接重复序列(DR)。大多数 CAV 毒株有 4 个重复序列,在中间有 1 个 12bp 的插入片段,这一结构具有增强子的作用^[3]。令人感兴趣的是,CAV 非编码区短短的约 400 多个核苷酸中居然集中分布着 10 多个已知的与复制及转录调控相关的基序(motif),在相应的表达性载体和宿主细胞中,完整的 CAV 基因组非编码区可激发人的生长激素(hGH)基因的表达^[4],表现完整的启动子活性。CAV 编码区含有 3 个部分重叠的开放阅读框(open reading frame, ORF),编码 3 种蛋白 VP1(52kDa)、VP2(24kDa)和 VP3(13kDa),VP1 为病毒的衣壳蛋白;VP2 是辅助蛋白,帮助 VP1 装配成衣壳;VP3 又被称作凋亡素,是 CAV 诱导细胞凋亡的主要蛋白^[3]。

我国吉林、辽宁、山东、江苏等地的鸡群中陆续有分离 CAV 的报道^[5,6],但均没有对 CAV 某一株病毒从致病性、细胞培养的增殖特性到基因组分析做

全面详细系统的研究,2002 年本室从山东某肉鸡场 14 日龄发病的商品代肉鸡中分离到一株 CAV 野毒株,本文通过 SPF 鸡的人工感染实验确定了其致病性,通过细胞培养了解了其在细胞中的增殖特性,并对其全基因组进行了测序和分析。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源: CAV-C14 株,2002 年由本实验室分离自山东某公司 14 日龄发病的商品代肉鸡,该鸡群从 7 日龄左右即开始出现部分鸡生长迟缓,随后个体差异逐渐变大,在 14 日龄观察时,有的鸡体重还只有 70~80g,仅相当于正常鸡体重的三分之一。其临床表现为鸡冠、肉垂略显苍白,羽毛粗乱,精神沉郁。病理剖检的主要特征是小腿骨髓呈粉红色甚至淡黄色,胸腺萎缩。CAV 疫苗毒为英特威公司生产,生产批号为 040426c。禽网状内皮增生病病毒(Reticuloendotheliosis Virus, REV)SNV 株^[7]为本实验室保存。SPF 鸡胚购自济南斯帕法斯公司,SPF 鸡购自山东省家禽所 SPF 鸡场。AIV(H5 和 H9)灭活油乳苗为齐鲁动物保健品厂生产,生产批号:AIV-H5 为 20050301;AIV-H9 为 20050406。

1.1.2 主要试剂和仪器: 测抗 CAV 抗体试剂盒购自 IDEXX 公司;PCR 反应试剂盒、pMD18-T 载体、DNA Marker(DL2000)均购自 TaKaRa 公司;氨苄青霉

基金项目:国家自然科学基金重点项目(30330450)

* 通讯作者。Tel: 86-518-8249937; Fax: 86-538-8241419; E-mail: zzcui@sdau.edu.cn

作者简介:李延鹏(1979-),男,山东人,硕士研究生,主要从事动物分子病毒学研究。E-mail: liyanpeng79@163.com

收稿日期:2007-01-24;接受日期:2007-04-30;修回日期:2007-06-23

素(Ampicillin)购自Sigma公司;X-Gal和IPTG购自Promega公司。

1.1.3 引物:根据GenBank中登录的CAV序列用DNASTar 6.0软件分别设计3对引物,分别扩增1004bp(片段1)、1039bp(片段2)、602bp(片段3)3个两端相互部分重叠的序列。另外设计一对特异性引物扩增CAV疫苗毒部分序列,扩增产物为627bp(片段4),表1为引物序列。

表1 PCR扩增C14株CAV基因组所用引物

Table 1 Primers used for amplification of genomic DNA from C14 strain CAV in PCR

Segment	Name of primer	Sequence(5'→3')	Predicted length/bp
1	cav-cx-1-f	TCACAGCCAATCAGAAGCT	1004
	cav-cx-1-R	GTCCGCAATCAACTCACC	
2	CAV-cx-2-F	ACCATGACTATCCGC	1039
	CAV-cx-2-R	GCATCGCTCTCATTAC	
3	CAV-CX-3-f	GCTGGACCGAATTCTTFA	602
	CAV-CX-3-R	ACGTGGCAGCTTCTGATT	
4	CAV-JC-F	GCGGACGGTCTAAATCA	627
	CAV-JC-R	TCTCGCTTGTGGTGGTT	

1.2 CAV-C14株病毒的分离鉴定

将1.1.1中病鸡骨髓悬液分别用氯仿和乙醚处理,除去可能存在的其它囊膜病毒后卵黄囊接种7日龄SPF鸡胚,取部分刚出壳雏鸡的骨髓和脾脏的悬液作为种毒接种鸡马立克氏病毒致瘤的T淋巴细胞(MDCC-MSB1,简称MSB1,经CAV特异探针做点杂交证实为CAV阴性)培养,并从骨髓提取基因组DNA,经CAV特异探针做点杂交证实含有CAV^[8]。

1.3 CAV-C14株病毒TCID₅₀的测定及其在MSB1细胞中的增殖

将经氯仿和乙醚处理过证实含有CAV的病毒液接种于含有MSB1的96孔细胞培养板中,感染5~7d后做间接免疫荧光试验(IFA),按照Reed-Muench氏法^[1]测定CAV病毒液的TCID₅₀。同时将经氯仿和乙醚处理过证实含有CAV的病毒液接种到的含有MSB1的24孔板中,感染3~5d后,取感染病毒细胞液体积的四分之一传入另一含有MSB1的24孔板中进行传代,每传5代用IFA检测细胞中CAV,以观察CAV-C14株在MSB1细胞中的增殖情况。

1.4 CAV-C14株对SPF鸡的致病性试验

1日龄SPF鸡160只,随机分为4组,每组40只,分别饲养于4个带有正压过滤空气的SPF动物饲养隔离罩内。1日龄时第1组(CAV组)每只鸡腹腔接种“1.2”节中制备的含有10⁴TCID₅₀的CAV病毒液,第2组(REV组)每只鸡腹腔接种含有10³TCID₅₀的REV SNV株,第3组(CAV+REV组)每只鸡腹腔

接种含有10⁴TCID₅₀的CAV和10³TCID₅₀的REV的混合液,第4组(对照组)每只鸡腹腔接种等量生理盐水。7日龄各组每只鸡分别胸肌接种0.3mL的AIV(H5和H9)灭活油乳苗。对CAV单独感染组和对照组在12、14日龄时各取8只鸡采血进行红细胞计数,在28和42日龄各解剖6只鸡观察病理变化。所有组分别在免疫后21d和35d采集血清,用血凝抑制试验测定对H9和H5血凝抑制(HI)抗体的滴度,在此期间观察鸡的生长状态和死亡情况。

1.5 CAV-C14株基因组的扩增、克隆和测序

分别以感染C14的MSB1细胞和感染CAV疫苗的SPF鸡胚组织DNA为模板进行PCR扩增,反应条件均为95℃5min;95℃1min,52℃1min,72℃1.5min,30个循环;72℃10min。扩增的PCR产物经回收后与T载体连接,用限制性内切酶分析筛选含有目的片段的质粒,将经过鉴定的重组质粒送上海生物工程公司测序,测序结果使用Dnastar6.0软件进行拼接。

1.6 CAV-C14株CAV和其它参考株基因组比较

将C14毒株的全基因组序列及其相应的3个ORF和调控序列分别与国内外已发表的CAV分离株进行比较,它们是America(L14767)^[9]、Australia(U65414, Unpublished)、Germany(M81223)^[10]、Japan(E51057, Unpublished)、Malaysia(AY040632)^[11]、China-Tianjin(AY846844, Unpublished)、China-Harbin(AF475908)^[12],还有2个国内CAV毒株(HA9805、JN0007)的部分序列(刘岳龙,2001,扬州大学博士论文《鸡贫血病毒中国株基因序列比较、病毒编码蛋白的表达及分子克隆化病毒的构建》)。

2 结果

2.1 CAV-C14株病毒TCID₅₀的测定及其在MSB1细胞中的增殖情况

每mL保存液中CAV-C14的含量为10⁶TCID₅₀。CAV-C14株在MSB1中能够增殖,每传5代用IFA检测细胞中CAV-C14,第55代能够在MSB1细胞中检测到CAV。

2.2 CAV-C14株感染对SPF鸡的致病性

CAV-C14感染组生长发育状况差,羽毛粗乱。在攻毒后42d内CAV单独感染组没有鸡只死亡,REV单独感染组死亡4只(4/40),CAV与REV共感染组死亡10只(10/40)。在28和42日龄时剖检观察发现CAV感染组小腿骨髓颜色变淡呈粉红色。

2.2.1 CAV感染对SPF鸡体重和胸腺发育的影响: CAV感染组鸡比对照组鸡个体小且大小不均,在28

日龄剖检观察 CAV 感染组较对照组体重较轻、胸腺轻度萎缩,在 42 日龄 CAV 感染组比对照组体重显著下降 ($P < 0.05$),胸腺轻度萎缩(表 2)。

表 2 CAV 感染对 SPF 鸡体重和胸腺发育的影响 ($n = 6$)

Table 2 Inhibitory influence of CAV infection on development of the weight and the thymus in SPF chickens ($n = 6$)

Age of chicken/d	Groups	Weight of body/g	Thymus/body weight(%)
28	CAV	243.3 ± 33.1 ^A	0.53 ± 0.16 ^A
	Control	254.8 ± 7.7 ^A	0.65 ± 0.12 ^A
42	CAV	421.8 ± 53.9 ^B	0.72 ± 0.11 ^A
	Control	487.4 ± 23.49 ^A	0.74 ± 0.06 ^A

The numbers in the table indicate : mean ± SD(sample size). The same letters following values indicate that the differences were not significant ($P > 0.05$).

2.2.2 CAV-C14 株感染对 SPF 鸡血液红细胞数的影响: 8 只 1 日龄 SPF 鸡接种 10^4 TCID₅₀ 的 C14 株 CAV,另 8 只对照组隔离饲养,分别在 12 日龄和 14 日龄测红细胞数。结果显示(表 3),1 日龄 SPF 鸡感染 C14 株 CAV 后,在 12、14 日龄时均可引起红细胞数一定程度的下降,但要到 14 日龄时才比对照组显著下降 ($P < 0.05$)。

表 4 CAV 与 REV 感染对 AIV(H5/H9) HI 抗体滴度的影响 (\log_2)

Table 4 Influence of CAV or REV infection and their co-infection on HI antibody titers to AIV(H5/H9) after vaccination (\log_2)

Items	HI antibody titers			
	To H5		To H9	
	21d	35d	21d	35d
After vaccination (Days)				
Control	8.75 ± 2.05(26) ^A	9.42 ± 1.57(20) ^A	7.43 ± 1.16(26) ^A	9.11 ± 1.53(20) ^A
CAV	7.76 ± 1.82(25) ^A	7.55 ± 1.63(19) ^B	5.81 ± 1.38(25) ^B	7.8 ± 1.40(19) ^{AB}
REV	6.15 ± 2.15(20) ^B	7.31 ± 2.78(14) ^B	4.56 ± 2.57(20) ^B	7.54 ± 1.9(14) ^{AB}
CAV + REV	3.81 ± 3.16(22) ^C	4.86 ± 3.08(15) ^C	2.8 ± 2.57(22) ^C	4.86 ± 3.16(15) ^B

The numbers in the table indicate : mean SD(sample size). The same letters following values indicate the differences were not significant ($P > 0.05$).

2.3 CAV-C14 株全基因组核苷酸序列

利用 PCR 方法扩增出 CAV-C14 株基因组内的 3 条及疫苗株的 1 条片段。经琼脂糖凝胶电泳检测均为一条带,且与预期大小相同(图略),将各段 PCR 产物分别克隆于 T 载体中并测序,拼接获得 C14 株的全基因组序列(GenBank 登录号为 EF176599)。分析表明 C14 株 CAV 基因组全长 2298bp,非编码区存在 4 个 21bp 的直接重复序列(DR)和 10 多个已知的与复制及转录调控相关的保守基序(motif)。编码区含有 3 个部分重叠的开放读码框,分别编码 VP1 (1350bp), VP2 (651bp) 和 VP3 (366bp)。

2.4 不同毒株 CAV 基因组中非编码区转录调控相关基序(motif)比较

CAV 基因组非编码区中与转录调控相关的基序见表 5,将 CAV-C14 株与其它参考株基因组中非编码区调控相关基序进行比较(图略),结果表明,CAV 非编码区序列非常保守,特别是其中与转录因

表 3 CAV-C14 株感染与对照组鸡红细胞数比较 ($n = 8$)

Table 3 Comparison of concentration of red blood cell in peripheral blood between CAV-infected and control chickens ($n = 8$)

Group	Quantity of red blood cell ($10^{12} \cdot L^{-1}$) at age of	
	12d	14d
CAV	1.41 ± 0.21 ^A	1.45 ± 0.22 ^B
Control	1.64 ± 0.30 ^A	1.71 ± 0.25 ^A

The numbers in the table indicate : mean ± SD(sample size). The same letters following values indicate that the differences were not significant ($P > 0.05$).

2.2.3 CAV-C14 株感染对 SPF 鸡抗体反应的抑制作用: CAV-C14 株感染 1 日龄 SPF 鸡后对 AIV(H5/H9) HI 抗体滴度的影响结果见表 4。C14 株感染可抑制 H5-AIV 和 H9-AIV 灭活疫苗免疫后的 HI 抗体反应。在免疫后 21 天,对 H9 的 HI 抗体显著低于对照组 ($P < 0.01$)。在免疫后 35 天,对 H5 的 HI 抗体显著低于对照组 ($P < 0.01$)。虽然 CAV 的这种免疫抑制作用不如 REV 强,但是 CAV 和 REV 共感染可在免疫抑制上表现很强的协同作用。CAV 和 REV 共感染 SPF 鸡时 H5-AIV 和 H9-AIV 的 HI 抗体水平均显著低于 REV 单独感染组 ($P < 0.05$)。

子结合的相关基序更为保守,除个别毒株(Harbin 株)外,其余多株间几乎没有差异。

2.5 CAV-C14 株与其它 CAV 参考株基因组 VP1、VP2 和 VP3 氨基酸序列比较

CAV-C14 株与其它参考株基因组中 VP1、VP2 和 VP3 基因推导氨基酸序列同源性比较(图略)结果表明,不同毒株 CAV 的 3 个基因推导氨基酸序列非常保守,其中尤以 VP3 最保守。VP1 与 Harbin 株同源性最高(99.8%),VP2 与中国的 HA9805、天津株、日本株和美国株同源性均是 99.5%,而 VP3 则与 HA9805、JN0007、Harbin 株和美国株完全一致。这似乎表明,在不同毒株间这 3 个基因编码蛋白质序列的变异并不同步。对英特威公司生产的 CAV 疫苗株 VP1 的一段 627bp 序列进行了测序并与 C14 进行了比较,二者间有 6 个碱基差异导致 2 个氨基酸的差异。

表5 CAV 基因组上的调控因子和转录因子结合序列成分^[10,13]Table 5 The motifs for regulating or transcriptional factors in the genome of CAV^[10,13]

Motif	Consensus sequence (5'→3')	The sequence of CAV (5'→3')
Erythroid specific G-string	GGGGGGGGG	GGGGGGGGG
NFKB + H2TF1 site	GGGATTCCCC	GGGATTCCCC
poly(A) signal	AATAAA	AATAAA
Core element of the SV40 enhancer	GTGG (A/T) (A/T) (A/T)	GTGGTTA
Lymphoid specific site	CTATTC	CTATTC
21bp direct repeat (DR)	CGTACAGGGGGTACGTCATC	
CREB binding site	(T/G) (T/A) CGTCA	TACGTCA
ATF site	ACGTCA	ACGTCA
CACCC site	CACCC	CAGCC/CATCC
CCAAT box	AGCCAAT	AGCCAAT
GTH binding site	(G/C) (T/GTGGAA) (A/T) GT	CGTTGCGAAAGT
SP1 binding site	GGGCGG	GGGCGG
TATA box	GTATA (A/T) (A/T)	TATATAT

3 讨论

CAV 接种 1 日龄无母源抗体雏鸡后 12 ~ 28 d 之间, 鸡可能发生死亡, 但死亡率通常很低, 极少超过 30%^[3]。由于 CAV 感染的靶细胞是 T 淋巴细胞和骨髓中的成血细胞, 感染鸡会出现免疫抑制^[14], 从而容易并发或继发其它病原如禽呼肠孤病毒 (REOV)、马立克病毒 (MDV)、传染性法氏囊病毒 (IBDV) 或新城疫病毒 (NDV) 的感染^[15-18]。

本文对分离的 C14 株进行的致病性试验表明, C14 株感染对 SPF 鸡的致病性不是很强, 不仅很少引起雏鸡死亡, 而且在 2 周内也只诱导红细胞轻度下降, 虽然这种下降在统计学上差异显著, 但对鸡场的临床兽医来说, 这种差异却并不十分严重。C14 的致病作用主要表现为抑制 1 日龄 SPF 鸡对 AIV (H5/H9) 疫苗的免疫反应。CAV 除了本身能够引起鸡的免疫抑制外, 其还能够在感染 SPF 鸡时与 REV 起协同作用, 加重 REV 对 SPF 鸡的免疫抑制。基于目前 CAV 与 REV 共感染的普遍性^[19], CAV 与 REV 的双重感染或二者与其它病毒的多重感染对鸡疫苗免疫反应的影响值得关注。虽然国内已对几株 CAV 野毒株完成了全基因组序列的测定, 但均缺乏系统的致病性比较试验。本研究则同时检测了 C14 株 CAV 的致病性及其全基因组序列。虽然何成强等^[12]在报道 Harbin 株全基因组序列时, 也提到了其致病性。但他们在确定该毒株为强毒的攻毒试验中, 是用原始病料的肝脏悬液接种 1 日龄 SPF 鸡, 每个稀释度 4 只鸡, 只是提到稀释 10⁴ 后“可使该组鸡致死”, 并没有提到致死率和其它病理变化, 特别是没有排除原始病料中是否存在其它病毒感染的可能性。本研究则对原始病料分别用氯仿和乙醚处理后, 再接种 SPF 鸡胚卵黄囊, 并从孵出的雏鸡骨髓再获取 CAV。这可除去所有的囊膜病毒, 并使大多数其

它非囊膜病毒失去活性, 从而保证致病性试验不受来自病料中可能存在的其它病毒的干扰。

在 CAV 非编码区 400 多个核苷酸中有 10 多个转录调控相关基序 (motif), 这些序列与病毒的复制及转录调控密切相关, 比如其中含有 RNA 聚合酶 II 结合的启动子序列“TATA”框, 含有细胞内 DNA 结合蛋白 (DNA binding protein, DBP) 识别序列“CCAAT”框, DBP 能促进真核细胞转录和 DNA 复制^[20]。对本文所选各个毒株非编码区进行比较、分析 (图 2) 后发现这些基序都非常的保守, 除 Harbin 株外, 国内外其余毒株间几乎没有变化。我们推测这些相关基序可能为病毒本身的复制所必需。

为了分析 CAV 的变异规律, 我们比较了本文所选各株病毒 VP1、VP2 和 VP3 基因所编码的氨基酸序列。结果发现, 在 10 株病毒中, 有 6 株 (America、Japan、HA9805、JN0007、C14、Harbin) 病毒所编码的 VP3 氨基酸序列完全相同, 4 株 (America、Japan、HA9805、Tianjin) 病毒所编码的 VP2 氨基酸序列完全相同。但对于 VP1 氨基酸序列来说, 8 株病毒所编码序列都不相同, Farkas^[21]等研究也发现 CAV VP1 肽链中氨基酸的差异性比较大。由于 VP1 是 CAV 的衣壳蛋白组成成分, 暴露在病毒的最外面, 同时也是病毒蛋白中唯一与病毒反应相关的抗原, 它的变异可能与宿主免疫反应的选择压有关。

参 考 文 献

- [1] 殷震, 刘景华. 动物病毒学. 北京: 科学出版社, 1997.
- [2] Yuasa N, Taniguchi T, Yoshida I. Isolation and some properties of an agent inducing anemia in chicks. *Avian Dis*, 1979, 23: 366-385.
- [3] Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, et al. 禽病学. 第 11 版. 苏敬良, 高福, 索勋, 译. 北京: 中国农业出版社, 2005.
- [4] 崔治中. 单股环 DNA 病毒基因组的复制及其转录调控因子结合序列. *生命的化学* 2005, 25(3): 233-235. journals. im. ac. cn

- [5] 崔现兰, 辛桂香, 吴冬来. 鸡传染性贫血病毒的鉴定. 中国畜牧兽医学报, 1992, 6(3): 3-5.
- [6] Zhou W, Shen B, Yang B, *et al.* Isolation and identification of chicken infectious anemia virus in China. *Avian Dis*, 1997, 41(2): 361-364.
- [7] 吉荣, 崔治中, 王锡乐, 等. 分子克隆化禽网状内皮组织增生病毒传染性及其前病毒全基因组序列研究. 病毒学报, 2005, 21: 448-455.
- [8] 刘岳龙, 崔治中, 段玉友. PCR 和斑点杂交检测鸡传染性贫血病毒. 中国兽医学报, 1996, 1: 38-42.
- [9] Renshaw RW, Soine C, Weinkle T, *et al.* A hypervariable region in VP1 of chicken infectious anemia virus mediates rate of spread and cell tropism in tissue culture. *J Virol*, 1996, 70(12): 8872-8878.
- [10] Meehan BM, Todd D, Creelan JL, *et al.* Characterization of viral DNAs from cells infected with chicken anaemia agent: Sequence analysis of the cloned replicative form and transfection capabilities of cloned genome fragments. *Arch Virol*, 1992, 124: 301-319.
- [11] Chowdhury SM, Omar AR, Aini I, *et al.* sequence and phylogenetic analysis of Malaysian Chicken anaemia virus obtained after low and high passages in MSB-1 cells. *Arch Virol*, 2003, 148(12): 2437-2448.
- [12] 何成强, 丁乃峥, 李景鹏, 等. 鸡贫血病毒哈尔滨分离株全基因组克隆和序列分析. 微生物学报, 2002, 42(4): 436-441.
- [13] Noteborn MHM, de Boer GF, van Roozelaar DJ, *et al.* Characterization of cloned chicken anemia virus DNA that contains all elements for the infectious replication cycle. *J Virol*, 1991, 65: 3131-3139.
- [14] Adair BM. Immunopathogenesis of chicken anemia virus infection. *Dev Comp Immunol*, 2000, 24(2-3): 247-255.
- [15] McNeilly F, Smyth JA, Adair BM, *et al.* Synergism between chicken anemia virus (CAV) and avian reovirus following dual infection of 1-Day-Old chicks by a natural route. *Avian Dis*, 1995, 39: 532-537.
- [16] Jeurissen SHM, de Boer GF. Chicken anaemia virus influences the pathogenesis of Marek's disease in experimental infections, depending on the dose of Marek's disease virus. *Vet Q*, 1993, 15: 81-84.
- [17] Colud SS, Rosenberger JK, Lilleho HS. Immune dysfunction following infection with chicken anemia agent and infectious bursal disease virus. *Vet Immunol Immunopathol*, 1992, 34: 353-366.
- [18] De Boer GF, van Roozelaar DJ. Interaction between chicken anaemia virus and live New-castle disease vaccine. *Avian Pathol*, 1994, 23: 263-275.
- [19] 姜世金, 孟珊珊, 崔治中, 等. 我国自然发病鸡中 MDV、REV 和 CAV 共感染的检测. 中国病毒学, 2005, 20(2): 164-167.
- [20] Jones KA, Kadonaga JT, Rosenfeld PJ. A cellular DNA-binding protein that activates eukaryotic transcription and DNA replication. *Cell*, 1987, 48: 79-89.
- [21] Farkas T, Tanaka A, Kai K, *et al.* Cloning and sequencing of the genome of chicken anemia virus (CAV) TK-5803 strain and comparison with other CAV strains. *J Vet Med Sci*, 1996, 58: 681-684.

Pathogenicity and genomic sequence comparison of a chicken infectious anemia virus field isolate

LI Yan-peng, CUI Zhi-zhong*

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, Tai'an 271000, China)

Abstract : A field strain C14 of chicken infectious anemia virus (CAV) was isolated from a 14 day-old broiler flock with growth runting syndromes. Antibody reactions to inactivated vaccines to avian influenza viruses (AIV) were suppressed in SPF chickens inoculated with C14 strain CAV at 1 day-old. Also C14 strain CAV and reticuloendotheliosis Virus demonstrated a synergism in immunosuppression when chickens were infected with both virus. The viral genomic DNA was amplified by PCR in 3 overlapped fragments and PCR products were cloned into T-vector plasmid for sequencing. The sequencing results indicated that the total genome of C14 strain CAV was 2298bp, it contained 3 overlapped ORF and 1 non-coding regulation fragment. Its whole genome had 97.2% - 99.2% of homogeneity to other several published CAV reference strains. Sequence data indicated that there are many motifs in the non-coding area of about 400bp as the binding sites for transcriptional factors. All these motifs were very conservative. There were some mutations in 3 genes VP1, VP2 and VP3. Relatively, VP1 was less conservative than VP2 and VP3. Among different strains, mutations in these 3 genes were not correlated.

Keywords : Chicken infectious anemia virus (CAV); pathogenicity; genome; sequence comparison

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

* Corresponding author. Tel: 86-518-8249937; Fax: 86-538-8241419; E-mail: zzcui@sdau.edu.cn

Received: 24 January 2007/Accepted: 30 April 2007/Revised: 23 June 2007 © 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>