

以杆状病毒为载体在鸡原代骨骼肌细胞中表达 IBDV VP2 基因

葛菁萍, 高冬妮, 楼庄伟, 平文祥*

(微生物黑龙江省高校重点实验室, 黑龙江大学生命科学学院, 哈尔滨 150080)

摘要 【目的】本研究旨在构建在鸡原代骨骼肌细胞中表达 IBDV 病毒 VP2 基因的重组杆状病毒。【方法】从 IBDV 适应细胞毒中提取 RNA, 用 RT-PCR 技术扩增 VP2 基因, 将其克隆到自主构建的杆状病毒转移载体的 CMV 启动子之下, 通过 Bac-to-Bac 系统获得 VP2 重组 Bacmid, 并将其转染 Sf9 昆虫细胞, 获得了 VP2 重组杆状病毒。重组病毒经扩增后以 50 个 MOI 感染鸡原代骨骼肌细胞, 接种 72 h 后裂解细胞收获蛋白。【结果】蛋白样品经 SDS-PAGE 和 Western blot 证实 VP2 蛋白获得表达, 分子量约 48kDa, 与预测蛋白大小一致, 且能被 IBDV 阳性血清所识别。【结论】重组杆状病毒可以有效地将 VP2 基因导入鸡原代细胞, 并在 CMV 的启动子下表达具有抗原性的 VP2 蛋白, 本研究为研制 IBDV 及其他重要禽类传染病的杆状病毒载体疫苗奠定了基础。

关键词: IBDV; VP2 基因; 杆状病毒; 鸡原代骨骼肌细胞; 表达

中图分类号: R392 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209(2009)09-1259-06

传染性法氏囊病(*Infectious bursal disease*, IBD)是由鸡传染性法氏囊病毒(*Infectious bursal disease virus*, IBDV)引起的鸡和火鸡的一种高度接触性传染病^[1], 是危害世界养禽业的主要传染病之一。该病主要侵害雏鸡与青年鸡的中枢免疫系统—法氏囊, 破坏 B 淋巴细胞, 导致免疫缺陷性和免疫抑制性疾病, 从而增加病鸡对并发和继发性病毒的易感性, 因此被认为是“家禽的艾滋病”。

目前对于 IBD 的防治, 普遍使用驯化或灭活的病原体制备的病毒疫苗。然而, 弱毒苗存在易受母源抗体干扰、毒力返强以及对变异株缺乏免疫保护作用的特点; 中等毒力疫苗损伤法氏囊, 且抗原性不稳定; 而灭活苗虽然安全, 但对超强毒的感染无法提供有效的保护。因此研制高效、实用的新型疫苗已

显十分紧迫。

VP2 作为 IBDV 的主要宿主保护性抗原, 已经在大肠杆菌、酵母、昆虫细胞以及禽痘病毒、腺病毒、火鸡疱疹病毒、马立克氏病毒等活病毒载体中得到表达^[2-4]。但在许多表达系统中, 存在不能高效诱导中和性抗体或无法避免法氏囊损伤的缺点, 而且马立克氏病毒、禽痘病毒本身就是重大禽病的病原, 即使经过减毒修饰, 也可能发生回复突变导致毒力返强。因此, VP2 基因表达系统的选择对诱导中和抗体的产生和疫苗使用的安全性尤为重要。

杆状病毒作为一种“非复制型载体”近年来成为疫苗开发、基因治疗等领域的研究热点。经过改造的杆状病毒可以介导外源基因在哺乳动物体内进行持久、高效的表达^[5]。重要的是, 杆状病毒在哺乳动

基金项目: 教育部留学回国人员启动基金; 黑龙江省自然科学基金(D0249); 黑龙江省教育厅骨干教师项目资助计划(1055G034); 黑龙江大学杰出青年基金(JC200310); 黑龙江大学青年教师基金(QL200815)

* 通信作者。Tel: +86-451-86608046; Fax: +86-451-86609016; E-mail: wensiangp@yahoo.com.cn

作者简介: 葛菁萍(1972-), 女, 黑龙江省人, 教授, 博士, 从事病毒分子生物学研究。E-mail: gejingping@126.com.

收稿日期: 2009-04-26; 修回日期: 2009-06-23

物细胞中不复制,具有良好的生物安全性,而且可容纳大片段外源基因,易于操作,被认为是安全优良的构建基因工程疫苗的理想载体。

本研究首先构建具有 CMV 启动子的杆状病毒转移载体 pFastBac-pCMV。通过 RT-PCR 法克隆到 IBDV J1C7 株的 VP2 基因,将 VP2 基因亚克隆至 pFastBac-pCMV 的 CMV 启动子下游。重组质粒 pFastBac-pCMV-VP2 转化 *E. coli* DH10Bac 感受态细胞,提取重组 Bacmid DNA 后转染 Sf9 昆虫细胞,从而获得带有 CMV-VP2 表达盒的重组杆状病毒。重组病毒转染鸡原代骨骼肌细胞,利用 SDS-PAGE 和 Western blot 成功检测到抗原蛋白 VP2 的表达。本试验证明了重组杆状病毒可以有效地将外源基因导入鸡原代细胞,并在 CMV 的启动下表达具有抗原性的 VP2 蛋白,为进一步研制以杆状病毒为载体的基因工程疫苗奠定了基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株和细胞:IBDV J1C7 弱毒疫苗株由哈药集团·黑龙江省生物制品一厂馈赠;大肠杆菌(*E. coli*) DH5 α 、*E. coli* DH10Bac 由本实验室保存;Sf9 细胞由本实验室保存;鸡原代骨骼肌细胞由本实验室制备。

1.1.2 主要试剂:pFastBac1 质粒、pcDNA3.1 质粒、Cellfectin[®] Reagent、Sf900 II SFM 培养基购自 Invitrogen 公司;Reverse Transcription System Kit、Agarose 低熔点琼脂糖购自 Promega 公司;DMEM 培养基购自 Hyclone 公司;胎牛血清购自 PAA 公司;各种限制性内切酶、*Taq* DNA 聚合酶、pMD18-T 载体、T4 DNA 连接酶、胰蛋白酶、细胞裂解液、DNA Marker、蛋白 Marker 购自 TaKaRa 公司;DNA 胶回收试剂盒购自华舜公司。

1.2 VP2 基因的克隆

利用蛋白酶 K/酚/氯仿法抽提 IBDV J1C7 株病毒 dsRNA 基因组^[6],所有器皿和试剂均经 0.1% DEPC 水溶液处理去除 RNase。参考 Reverse Transcription System Kit 说明书进行反转录,生成 cDNA 第一链。参考 GenBank 中 IBDV HZ2 株序列设计特异引物,以多聚蛋白 VP2-4-3 ORF 的起始密码子为起始子,在 VP2 和 VP4 蛋白裂解位点处加上终止子,构成一个完整的 VP2 ORF。上游引物 P1:5'-GCCGCCACCATGACAAACCTGCAAGATCAA-3',其中 GCCACCATGA 为增强真核基因表达水平的 Kozak 序

列;下游引物 P2:5'-GCGTTACCTTATGGCCCGGAT TATGTC-3',引物由上海生工合成。以 cDNA 第一链为模板,PCR 扩增约 1.4Kb 的 VP2 基因,1% 琼脂糖电泳鉴定 PCR 产物。按华舜小量胶回收试剂盒说明书回收 PCR 产物,与 pMD18-T 载体于 16 $^{\circ}$ C 连接过夜,转化 *E. coli* DH5 α 感受态细胞,经蓝白斑筛选,以碱裂解法小量制备质粒,并进行酶切和 PCR 鉴定,将阳性重组质粒命名为 pMD-VP2。

1.3 杆状病毒转移载体 pFastBac-pCMV 的构建

利用限制性内切酶 *Nru*I 和 *Bst*Z17I 将质粒 pcDNA3.1(-)双酶切,得到包括 CMV-IE 启动子、多克隆位点(MCS)和新霉素抗性标记在内的 3100 bp 片段。用限制性内切酶 *Sna*BI 和 *Hpa*I 双酶切 pFastBac1 质粒,去除杆状病毒多角体蛋白启动子和多克隆位点。将上述 3100bp 片段与 pFastBac1 质粒骨架通过平末端连接,连接产物转化 *E. coli* DH5 α 感受态细胞,经抗性筛选,以碱裂解法小量制备质粒,并进行单酶切鉴定,获得含有 CMV-IE 启动子的杆状病毒转移载体 pFastBac-pCMV。

1.4 含 VP2 基因表达盒转移载体的构建

将初步鉴定的阳性质粒 pMD-VP2 和 pFastBac-pCMV 转移载体分别经 *Hind*III 和 *Eco*R I 双酶切(如图 1),利用 T4 DNA 连接酶将两者连接,转化 *E. coli* DH5 α 感受态细胞,挑取单菌落,以碱裂解法小量制备质粒,经酶切和 PCR 鉴定筛选到阳性重组子,命名为 pFastBac-pCMV-VP2,送交上海生物工程有限公司测序。

1.5 VP2 重组杆状病毒的构建

重组质粒 pFastBac-pCMV-VP2 转化 *E. coli* DH10Bac 感受态细胞,经蓝白斑筛选,碱裂解法提取 Bacmid DNA,利用 M13 引物 PCR 鉴定筛选,重组 Bacmid 命名为 Bacmid-VP2。按 Cellfectin[®] Reagent 转染试剂盒说明书将 1 μ g 重组 Bacmid DNA 转染对数生长期的 Sf9 昆虫细胞,转染后,倒置显微镜下观察 Sf9 细胞逐渐发生改变,至细胞出现感染迹象时,收获细胞培养上清,即 P-1 病毒储备 4 $^{\circ}$ C 保存备用。提取所获病毒 DNA,利用 VP2 基因的特异引物进行 PCR 鉴定,获得含有 VP2 基因的重组杆状病毒。将重组杆状病毒反复感染对数生长期的 Sf9 昆虫细胞 3 次,获得高滴度的重组杆状病毒储备。参考 Bacto-Bac 表达系统说明书,采用空斑分析法测定病毒滴度。以 10 倍梯度对病毒进行 10⁻¹ 至 10⁻⁸ 稀释,不同稀释度的病毒室温感染昆虫细胞 1h,移走病毒液后覆盖营养琼脂,27 $^{\circ}$ C 培养 7~10 d,选择含 3~20

个空斑的孔计数,病毒滴度(pfu/mL)= 每孔空斑数 × 稀释倍数 × 1/每孔病毒量(mL)。P-4 代重组杆状病毒的滴度为 1.2×10^8 pfu/mL。

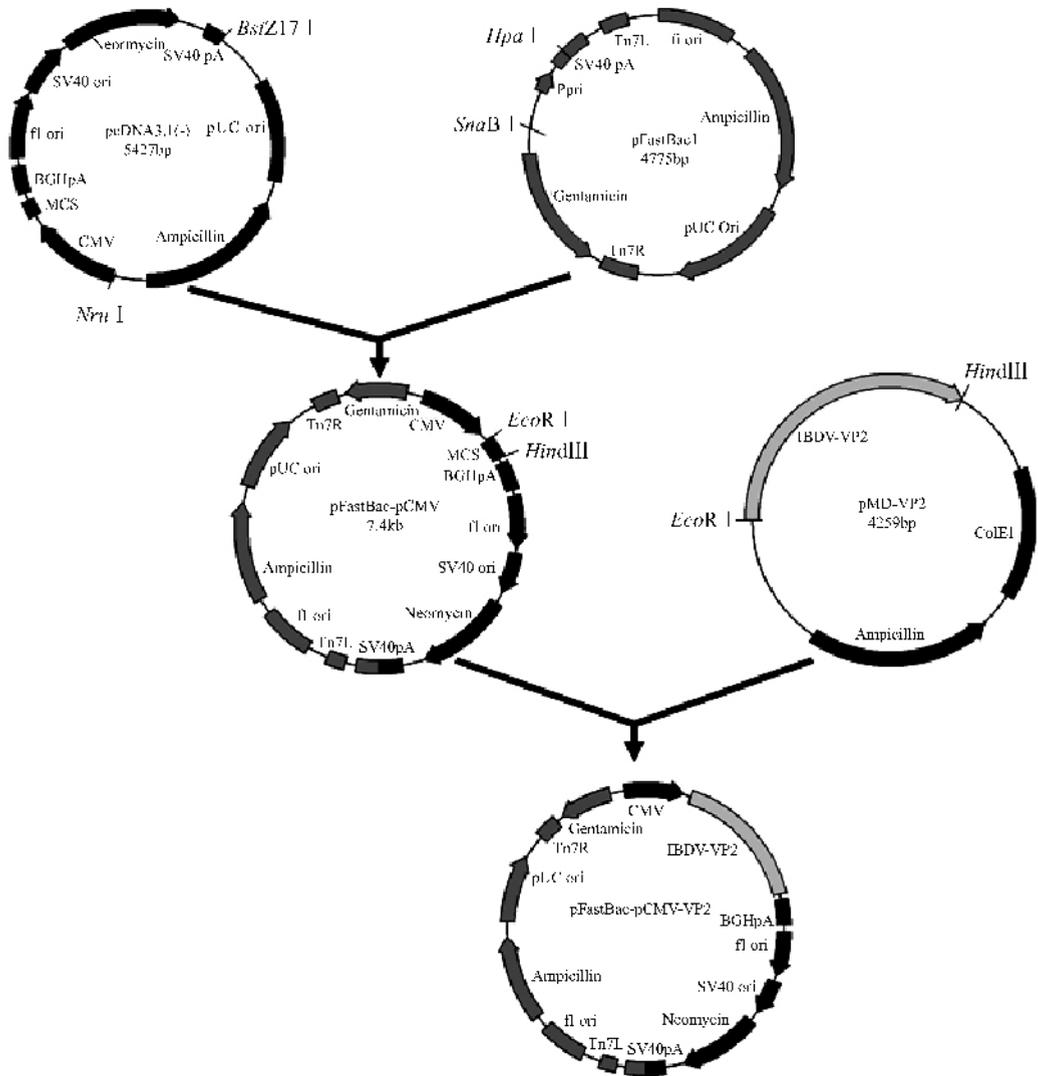


图1 含 VP2 基因表达盒转移载体的构建示意图

Fig.1 Scheme for construction of transfer plasmid vector.

1.6 VP2 重组杆状病毒在鸡原代细胞中的表达与检测

制备 13 日龄 SPF 鸡胚的骨骼肌细胞,以每孔 1×10^6 个细胞接种到六孔细胞培养板中。置于 37°C 、5% CO_2 培养箱培养至细胞铺满率达 80% 时,将确定滴度的 VP2 重组杆状病毒,以 MOI (Multiplicity of Infection, MOI) = 50 接种细胞,并添加终浓度为 5 mmol/L 的丁酸钠盐^[7]。病毒侵染细胞 2 h 后,弃去病毒液,每孔加入 3 mL 维持液(DMEM 培养基加 2% 胎牛血清),置 37°C 、5% CO_2 培养箱培养 72 h,用细胞裂解液裂解细胞后收获蛋白样品,进行 SDS-PAGE 检测,以正常骨骼肌细胞裂解物作为阴性对照。在 Western blot 检测中,将电泳蛋白带转印至硝酸纤维

素膜上, TBST 洗涤硝酸纤维素膜后,用含 1% BSA 的 TBST 37°C 封闭 45 min,再经 TBST 洗涤后加入 1:1000 稀释的 IBDV 感染鸡血清于 37°C 作用 1 h。TBST 洗涤后加入 1:5000 稀释的 AP-羊抗鸡 IgY 37°C 作用 1 h。充分洗涤后,浸入显影液中显色,观察特异性条带。

2 结果和分析

2.1 VP2 基因的克隆

2.1.1 RT-PCR:以提取的病毒 RNA 为模板反转录合成 cDNA,以 P1 和 P2 为引物,通过 PCR 扩增得到大小约为 1367 bp 的 VP2 基因片段,与预期大小一致。

2.1.2 重组质粒的酶切及 PCR 鉴定

重组质粒经 *EcoR* I 和 *Hind* III 双酶切,酶切产物经琼脂糖凝胶电泳检测,显示有一条约 1.4kb 的 VP2 片段和一条 2.8 kb 的 pMD18-T 载体片段。以重组质粒为模板,用引物 P1 和 P2 进行扩增,获得 1367bp 的片段,说明插入片段为目的基因 VP2。

2.2 杆状病毒转移载体 pFastBac-pCMV 的鉴定

重组杆状病毒转移载体 pFastBac-pCMV 经多克隆位点中的 *EcoR* I 单酶切后,0.8% 琼脂糖凝胶电泳鉴定,显示有与预期 7400 bp 相符的酶切片段(如图 2)。

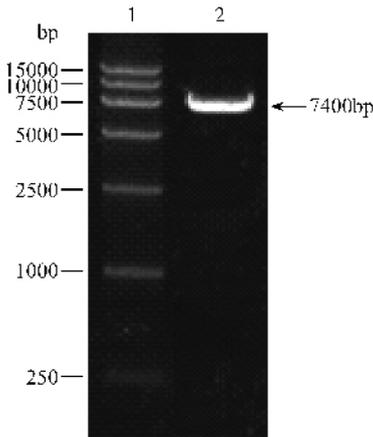


图 2 pFastBac-pCMV 单酶切产物电泳图

Fig.2 The identification of pFastBac-pCMV. Lane 1 is DL15,000 DNA Marker; Lane 2 is Product digested with *EcoR* I.

2.3 含 VP2 基因表达盒转移载体的鉴定

重组转移载体 pFastBac-pCMV-VP2 用 PCR 扩增得到约为 1367 bp 的片段,与预期大小相符,初步证明目的基因与转移载体正确连接。将初步鉴定正确的 pFastBac-pCMV-VP2 进行测序确证,序列分析表明目的基因的阅读框架长 1359 bp,编码 452 个氨基酸,并按正确的读码框架成功连接(序列略)。

2.4 VP2 重组杆状病毒的筛选与鉴定

将利用 M13 引物 PCR 鉴定筛选的重组 Bacmid-VP2 DNA 转染 Sf9 昆虫细胞,120 h 后细胞出现感染迹象。收取发生病变的细胞上清,提取病毒 DNA,以引物 P1 和 P2 进行 PCR 扩增,获得约为 1367 bp 的片段(如图 3),与预期大小相符,表明获得了 VP2 重组杆状病毒。

2.5 VP2 基因表达产物的 SDS-PAGE 和 Western blot 检测

将鉴定正确的 VP2 重组杆状病毒接种于 SPF 鸡胚原代骨骼肌细胞,感染 72 h 后裂解细胞收取蛋白,进行 SDS-PAGE 分析,结果表明 IBDV VP2 基因

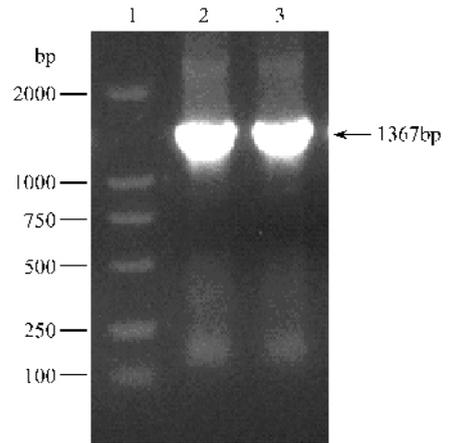


图 3 VP2 重组杆状病毒 PCR 鉴定结果

Fig.3 Identification of VP2 recombinant baculovirus by PCR. Lane 1 is DL2,000 DNA Marker; Lane 2 and 3 are PCR products of recombinant baculovirus.

在鸡原代骨骼肌细胞中进行了成功的表达,且大小与预测的 VP2 蛋白大小一致,约为 48 kDa(如图 4-A)。对上述表达产物进行 Western blot 分析,结果表明出现一条特异性反应条带,而正常骨骼肌细胞无任何反应条带(如图 4-B)。证明 VP2 基因的表达产物能与 IBDV 阳性血清发生反应,且具有很高的特异性。

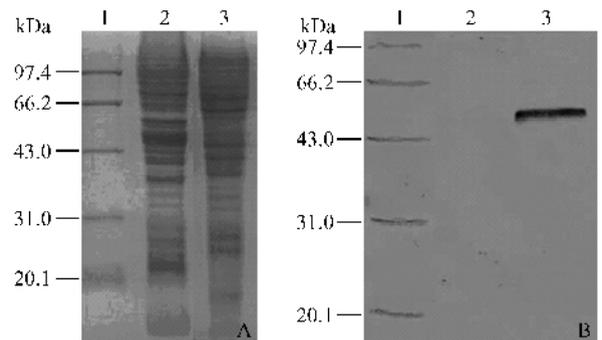


图 4 VP2 基因表达产物 SDS-PAGE(A)和 western blot 分析(B)

Fig.4 Analysis of the expressed VP2 protein product by SDS-PAGE (A) and western blot (B). A: Lane1 is protein molecular weight marker; Lanes2 is the sediment of chicken myoblast cell infected by recombinant baculovirus; Lane3 is normal chicken myoblast cell. B: Lanes1 is protein molecular weight marker; Lane2 is normal chicken myoblast cell; Lane3 is chicken myoblast cell infected with recombinant baculovirus.

3 讨论

当前,在完善生物安全体系的理念下,IBD 疫苗的研究正朝着限制弱毒苗使用、优先发展灭活苗、采用基因工程技术开发无感染性新型疫苗的方向发

展。杆状病毒作为“非复制型”的基因表达载体能够将外源基因导入哺乳动物细胞中进行表达,已被广泛用于基因治疗、疫苗生产、药物开发等领域。杆状病毒还可以介导外源基因在鸡原代细胞^[8]以及鱼细胞^[9]等非哺乳动物细胞中高水平表达。与其它病毒载体相比,杆状病毒具有其特有的优势:杆状病毒在非宿主细胞中不复制、无细胞毒性,生物安全性好;非宿主体内没有潜在的抗体和特异性 T 细胞,可有效避免抗体中和作用;其基因组可容纳 38kb 甚至更大的外源片段;构建杆状病毒操作简单,易获得高滴度的病毒粒子,感染效率高。

IBDV 的 VP2 蛋白与病毒中和抗体的诱导与识别、病毒毒力变异、病毒的抗原漂移、细胞凋亡等有关。因此,VP2 基因成为 IBDV 免疫防制的热点基因,是研制基因工程疫苗主要利用的目标基因。一些学者从维持 VP2 天然构象角度考虑,选取 VP2-4-3 作为目的基因表达。但以 VP2-4-3 作为目的基因的疫苗研究,实际效果并不优于单独用 VP2,至少两者的免疫原性是相同的^[10]。尽管 VP2-4-3 作为免疫原可形成病毒样颗粒(VLPs),从而可能增强免疫原性,但在大肠杆菌、酵母、重组活载体病毒系统中 VP2 合成的数量远低于 VP3 和 VP4^[11-12],无法有效地刺激机体产生免疫反应,这说明 VP2-4-3 作为基因工程疫苗开发的目的基因效果并不较 VP2 有优势。因此,本试验将 VP2 基因亚克隆到自主构建的杆状病毒转移载体 pFastBac- pCMV 中,通过 Bac-to-Bac 系统筛选带有 CMV-VP2 表达盒的重组杆状病毒,依靠杆状病毒感染鸡原代骨骼肌细胞的形式呈递 IBDV VP2 抗原,表达了具有免疫原性的 VP2 蛋白。

CMV 是公认的构建真核表达载体的强启动子,在研究重组杆状病毒表达中也是应用最多的,其在很多细胞类型中都表现出较强的调控功能。以 CMV 为启动子构建的 IBDV 重组活载体疫苗和 DNA 疫苗,在体外鸡细胞短暂转染实验和动物体内实验都能有效启动抗原基因的表达^[13-14],说明 CMV 对于禽类细胞也是有效的启动子。本试验构建的带有 CMV-VP2 表达盒的重组杆状病毒在鸡原代骨骼肌细胞中成功表达 VP2 蛋白,说明 CMV 可有效启动重组病毒在非宿主的鸡原代细胞中表达。这与本实验小组报道的,CMV 启动子可以启动重组杆状病毒携带的 GFP 报告基因在鸡原代细胞中表达的结果一致^[8]。

在各种重组杆状病毒转导细胞的研究中发现,加入乙酰化抑制剂,如丁酸钠盐(butyrate)^[15]能增强

重组杆状病毒的转导和表达效率。丁酸钠盐可通过诱导组氨酸高度乙酰化而使染色质处于松弛状态,有效促进外源载体 DNA 进入细胞并提高其表达效率^[16]。

应用杆状病毒作为基因转移载体构建基因工程疫苗,可以同活病毒载体一样以自然感染的方式向机体呈递抗原基因。重组杆状病毒研制的疫苗同时还可以发挥与 DNA 疫苗相似的作用,将编码抗原蛋白的基因直接导入体内,不仅可以诱导机体产生持久的体液免疫,产生较高水平的专一性抗体去中和病毒,还可以诱导较强的细胞免疫应答,利用 CD8⁺ T 细胞消除病毒,起到预防与治疗的双重作用。本试验利用杆状病毒作为基因转移载体,将 IBDV VP2 抗原基因导入鸡原代骨骼肌细胞中,利用 SDS-PAGE 和 Western blot 检测到表达的具有免疫原性的 VP2 抗原蛋白,为进一步研制 IBDV VP2 杆状病毒活载体基因工程疫苗奠定了坚实基础。

参考文献

- [1] Müllera H, Islam MR, Raue R. Research on infectious bursal disease-the past, the present and the future. *Veterinary Microbiology*, 2003, 97: 153-165.
- [2] Heine HG, Boyle DB. Infectious bursal disease virus structural protein VP2 expressed by a fowlpox virus recombinant confers protection against disease in chickens. *Archives Virology*, 1993, 131: 277-292.
- [3] Darteil R, Bublot M, Laplace E, et al. Herpesvirus of turkey recombinant viruses expressing infectious bursal disease virus (IBDV) VP2 immunogen induces protection against an IBDV virulent challenge in chickens. *Virology*, 1995, 211: 481-490.
- [4] Sheppard M, Werner W, Tsatas E, et al. Fowl adenovirus recombinant expressing VP2 of infectious bursal disease virus induces protective immunity against bursal disease. *Archives Virology*, 1998, 143: 915-930.
- [5] Hu YC. Baculoviral Vectors for Gene Delivery: A Review. *Current Gene Therapy*, 2008, 8: 54-65.
- [6] Boot HJ, Agnes HM, Ter Huurne. Generation of full-length cDNA of the two genomic dsRNA segments of Infectious Bursal Disease virus. *Journal of Virological Methods*, 2000, 84: 49-58.
- [7] Song JH, Liang CY, Chen XW. Transduction of avian cells with recombinant baculovirus. *Journal of Virological Methods*, 2006, 135: 157-162.
- [8] Ping WX, Ge JP, Li SX, et al. Baculovirus-mediated gene expression in chicken primary cells. *Avian Diseases*, 2006, 50(1): 59-63.

- [9] Leisy DJ , Lewis TD , Leong JA , et al. Transduction of cultured fish cells with recombinant baculovirus. *Journal of General Virology* , 2003 , 84(5) : 1173 – 1178 .
- [10] Dybing JK , Jackwood DJ. Antigenic and immunogenic properties of baculovirus expressed infectious bursal disease virus proteins. *Avian Disease* , 1998 , 42 : 80 – 91 .
- [11] Jagadish MN , Vaughn PR , Irving RA , et al. Expression and characterization of infectious bursal disease virus polyprotein in yeast. *Gene* , 1990 , 95 : 179 – 186 .
- [12] Macreadie IG , Azad AA. Internal initiation and frameshifting in infectious bursal disease virus sequence expression in *E. coli*. *Virology* , 1991 , 184 : 773 – 776 .
- [13] Dartail R , Bublot M , Aplace E , et al. Herpesvirus of turkey recombinant viruses expressing infectious bursal disease virus (IBDV) VP2 immunogen induce protection against an IBDV virulent challenge in chickens. *Virology* , 1995 , 211 : 481 – 490 .
- [14] 刘毅 , 金宁一 , 古长庆. IBDV VP2/VP2-4-3 基因疫苗表达质粒的构建与表达. *中国兽医学报* (*Chinese Journal of Veterinary Science*) , 2000 , 20(4) : 321 – 323 .
- [15] Hu YC , Tsai CT , Chang YJ , et al. Enhancement and prolongation of baculovirus-mediated expression in mammalian cells : focuses on strategic infection and feeding. *Biotechnology Progress* , 2003 , 19 : 373 – 379 .
- [16] Kramer OH , Gottliche M , Heinzel T. Histone deacetylase as a therapeutic target. *Trends in Endocrinology and Metabolism* , 2001 , 12 : 294 – 300 .

The expression of IBDV VP2 in chicken primary myoblast cells using the baculovirus vector

Jingping Ge , Dongni Gao , Zhuangwei Lou , Wenxiang Ping*

(Key Laboratory of Microbiology , College of Life Science , Heilongjiang University , Harbin 150080 , China)

Abstract [Objective] To construct the recombinant baculovirus expressing *Infectious bursal disease*(IBDV) VP2 gene in the chicken primary myoblast cells. **[Methods]** A proteinase K digestion and phenol-chloroform extraction method was used to extract dsRNA genome from IBDV. VP2 gene was amplified by Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction(RT-PCR) with the genome RNA as template. The pFastBac-pCMV-VP2 baculovirus transfer vector was constructed by inserting VP2 gene under the immediate-early promoter of cytomegalovirus. The VP2 recombinant bacmid was obtained by Bac-to-Bac system and transfected sf9 insect cell to acquire VP2 recombinant baculovirus. After amplification of recombinant baculovirus on cell passages , the recombinant virus was seeded on chicken primary myoblast cells with 50 multiplicity of infection(MOI) , and the cells were harvested at 72 hours after infection. **[Results]** Sodium Dodecyl Sulphate Poly-Acrylamide Gel Electrophoresis(SDS-PAGE) and Western blot results showed that the VP2 gene was successfully expressed in chicken primary myoblast cells. The product was a 48kDa protein and could be recognized by anti-IBDV serum. **[Conclusion]** The recombinant baculovirus could efficiently delivery IBDV VP2 gene into chicken primary cells and that CMV , a mammalian-cell-active promoter , was functional in chicken primary cells and could direct the expression of VP2 antigen protein. The research can be a potential basis for the development of baculovirus vector vaccines for IBDV and other avian infectious disease .

Keywords : IBDV ; VP2 protein ; baculovirus ; chicken primary myoblast cell ; expression

(本文责编 : 张晓丽)

Supported by the SRF for ROCS of SEM , the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province of China (D0249) , the Outstanding Teacher Funds of Heilongjiang Province of China (1055G034) , the Outstanding Teacher Funds of Heilongjiang University (JC200310) and the Young Teachers Funds of Heilongjiang University (QL200815)

* Corresponding author. Tel : + 86-451-86608046 ; Fax : + 86-451-86609016 ; E-mail : wenxiangp@yahoo.com.cn

Received : 26 April 2009/Revised : 23 June 2009