

能作为定位于膜的锚定蛋白或者离子通道等。

对哺乳动物 RPS5 基因的许多研究表明, RPS5 基因是一个高度保守的基因, 本文的研究结果也显示, 在氨基酸序列相吻合的区域, 羊驼 RPS5 基因编码的氨基酸序列与其它哺乳动物的相比, 没有出现突变点, 说明羊驼的该氨基酸序列保守性相对较高。

此外, 多数研究认为 RPS5 基因在氨基酸组成上也有特点, 因含有大量精氨酸和赖氨酸而呈碱性, 且碱性氨基酸都在某几个区域较集中^[1]。本试验经过核对发现, 该基因编码的 117 个氨基酸中碱性、酸性氨基酸各为 22 个(分别占 18.8%), 碱性、酸性氨基酸都集中在某几个区域。这种中性的蛋白质, 在与其它蛋白质或基团结合时, 非特异性结合明显降低; 同时, 碱性、酸性氨基酸集中在某几个区段, 可能提高了这种特异性结合的水平, 在功能上将表现为蛋白质之间结合的特异性增强, 功能较为专一。

3.2 RPS5 基因对皮肤损伤的消炎和修复作用

细胞凋亡是单个细胞的死亡, 它受基因调控, 通过细胞内核酸内切酶的作用导致 DNA 片段形成的一个主动细胞死亡过程, 同时依赖线粒体产生的能量, 伴随蛋白质合成。细胞凋亡对皮肤的作用主要在于对损伤皮肤伤口中真皮层炎性浸润具有消炎的重要作用^[2], 同时在调节表皮角质形成细胞和真皮成纤维细胞的组织平衡和修复中起重要作用^[3]。

在炎症疾病中, 各种炎症细胞, 包括中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞等, 参与炎症的启动、发生和发展。赖克方^[4](2002)研究了急性肺部炎症的动态过程, 有力表明凋亡是炎症部位中性粒细胞消除的主要机制。中性粒细胞膜表面死亡受体抗原与相应的死亡受体配基交联、吞噬细菌或其他病原体均可加速中性粒细胞的凋亡。加速粒细胞凋亡, 为抗炎治疗提供了新的途径。在小鼠过敏性肺部炎症模型中, 通过气管内滴入死亡受体抗体, 可以迅速诱导肺内嗜酸性粒细胞的凋亡并被单核细胞吞噬, 嗜酸性粒细胞凋亡的同时伴有肺部炎症的

鸡传染性贫血病毒 分子生物学研究进展

王 娟 张维军 刘桂林

(山西农业大学动物科技学院, 山西 太谷 030801)

中图分类号: S852.23 文献标识码: A 文章编号: 1008-0414(2006)12(下)-0008-04

鸡传染性贫血 (chicken infectious anemia, CIA) 是由鸡传染性贫血病毒 (chicken infectious anemia virus CIAV) 引起的一种以雏鸡再生障碍性贫血和全身淋巴组织萎缩为主要特征的病毒性传染病, 是鸡重要的免疫抑制性疾病之一^[1]。CIA 主要发生于 2~3 周龄的雏鸡, 病鸡的造血器官和淋病组织受损, 主要导致贫血、免疫抑制, 甚至造成死亡。1979 年 Yuasa N 等^[2]首次在日本发现, 此后在英国、德国、澳大利亚、美国等世界许多国家相继报道了该病的发生。我国于 1992 年由崔现兰等^[3]报道发现, 近几年来各地又陆续报道有本病毒的存在, 证实了国内鸡群中 CIAV 感染较为普遍^[4]。CIAV 在鸡群中广泛存在, 可经水平传播和垂直传播。成鸡感染 CIAV 后呈亚临床带毒状态, 易被忽视, 是养鸡业上潜藏的巨大威胁。因此对本病的防制越来越引起国内外兽医工作者和养禽界的高度重视, 并被列为禽病研究的前沿课题^[5]。

收稿日期: 2006-11-09

对种鸡群进行抗体监测, 以避免垂直传播是控制该病的主要方法。根据该病流行特点及成鸡对 CIAV 感染致病具有年龄依赖性抗性的特点, 对产蛋前几周的母鸡进行免疫接种, 能有效地预防子代鸡致病。但由于非致病株或毒力不返强的毒株至今未分离或培育出, 因而活疫苗的应用受到了严格的限制。而使用灭活的 CIAV 作疫苗, 其免疫效果仍有争议。因此目前还没有可以广泛使用的、安全的疫苗来预防该病, 故研究者试图通过基因工程的方法寻找一种重组亚单位疫苗或致弱活疫苗。

由于 CIAV 无法在体外常规的细胞单层上复制, 因而于发现该病的最初几年在病毒学研究上无很大进展。直到 1983 年 Yuasa N 等^[6]人发现 CIAV 在鸡马立克氏病病毒转化的 T 淋巴细胞系 (MDCC-MSB1, 简称 MSB1) 上能进行增殖, 才使得 CIAV 的病原学研究进展突飞猛进。

近年来, 随着基因重组及核酸序列分析、多聚合酶链反应 (PCR) 等新技术的不断运用, 国内外在 CIAV 的分子生物学研究方面取得了重大进

消退^[7]。

RPS5 基因在发挥细胞凋亡的功能时, 必须先与启动酶及相关因子连接才能发挥其生物功能。其实 RPS5 基因具有 DNA 连接蛋白 II 的功能也是通过其特殊功能域—CARD 结构域实现这一功能的, Keith S 等认为二者在保守区域内有共同的结构特征, 是二者具有共同功能的基础。此外,

Keiths 还认为, RPS5 基因在与抗生素协同发挥抗菌消炎作用时, RPS5 基因是核糖体与抗生素连接的中介因子。由此可见, RPS5 基因的蛋白质连接功能是通过 CARD 结构域来实现的。若羊驼发生皮肤组织损伤时有发生, 这时通过炎症部位的刺激作用启动细胞凋亡系统, 即 RPS5 基因的 CARD 结构通过启动酶 Caspase-9 激活, 在连

展。研究表明,相对目前已知的其它动物病毒而言,CIAV是一种独特的病毒,具有许多独有的特性。笔者就近年来该病毒在分子生物学方面的研究进展作一综述。

1 鸡传染性贫血病毒的基本特征

CIAV在1995年的第六次国际病毒分类委员会(International Committee on Taxonomy of Virus, ICTV)维也纳会议报告中被归为圆环病毒科(circoviridae),环状病毒属^[1]。该科还包括猪圆环病毒(porcine circovirus, PCV)、鸚鵡喙羽病病毒(psittacine beak and feather disease virus, PBFDV)^[2]。它们具备圆球形形态、单股环型DNA结构、无囊膜等共性。1998年Nia-gro等^[3]建议将圆环病毒科重新分为3个群,即:第1群为PCV和PBFDV;第2群为植物圆环病毒;第3群包括CIAV、输血传播病毒(transfusion transmitted virus, TTV)、TT样小病毒(TTV-like minivirus, TLMV)。

游离CIAV无囊膜,球形,直径约23~25 nm,能通过25 nm直径的滤膜,二十面体对称,有精细的表面结构。CIAV对理化因素的抵抗力很强,对丙酮、氯仿、乙醚均不敏感,耐酸、耐热。然而CIAV生长要求苛刻,只能在马立克氏病及某些白血病的肿瘤淋巴细胞系中生长,最常用的是MDCC-MSB1细胞。从世界各地分离毒株的血清学分析表明,目前现有CIAV毒株属同一血清型。

2 CIAV基因组结构

很多毒株的基因组序列测定已经完成,不同分离株的基因组结构和序列比较研究表明,毒株间仅存在微小

差异。CIAV是目前已知的最小病毒之一,全基因组大小仅为2.3 kb,包括3个部分或完全重叠的开放阅读框(ORF),大小分别为1 347、648和363个核苷酸残基,其中648 nt的ORF完全重叠,与1 347 nt的ORF部分重叠。这3个开放阅读框都位于正链DNA上。计算机检索结果表明,CIAV编码区序列与Gen-Bank中已知序列无重要意义的同源性。已知转录因子结合位点分析表明,CIAV基因组上仅有一个区域具有潜在的启动子/增强子特性。其基因组也仅含有1个polyA信号。这两个转录元件和以上提及的开放阅读框一样,也位于正链DNA上。序列比较发现,各国CIAV分离株间DNA序列同源性极高。刘岳龙等对5株不同来源的CIAV的VP3序列的测定发现,5个中国毒株的VP3序列与美国CIA-1株的VP3序列完全相同;其中完成的两株(HA9805、JN0007)全基因组序列与国际上已知的德国CUX-1株、CIA-1株、日本TR20株和澳大利亚CAU269-7株同源性高达95%以上;不同地区分离株的基因组序列同源性很高,但CIAV单克隆抗体分析显示不同毒株之间的抗原性有所差异,其致病性也存在着差异。Toro等的研究表明TK-5803株、10343株和GIFU株比早期日本分离株82-2株毒力强,尤其10343株对10周龄成鸡能致病。有关CIAV的抗原性、致病性与DNA序列之间的相关性仍需进一步研究来确定。

3 基因组的复制模式

病毒DNA的复制方式很特殊,目前还没有一种动物病毒模式适用于它复制的情况。研究发现在感染CIAV后发病的鸡体内,病毒DNA主要以单

链环状形式存在于内脏器官中,其中胸腺、脾脏中含量较高。体外细胞培养方面的研究表明,CIAV感染细胞中存在3种DNA主带,即开环dsDNA、线性和闭合环状dsDNA、闭合环状ssDNA。研究者在CIAV感染的细胞中鉴定出了闭环复制型中间体和开环复制型中间体的存在。根据复制中间体DNA的存在,推测CIAV复制模式类似于大肠杆菌噬菌体ΦX174和M13噬菌体一样的滚环式复制。但由于CIAV增殖率低并且难以获得一步法生长周期的所需条件,因此用于阐明噬菌体DNA复制模式的实验不能在CIAV研究中重复。

4 CIAV基因组转录

据国外报道,用斑点杂交法在感染后8 h即可检测到CIAV,其水平在感染后32 h迅速上升,48 h达到最高。对CIAVcux-1株的研究表明,其转录的主要产物为一个长约201 kb含poly(A)的mRNA。Northern blot分析表明,2.1 kb的转录物为编码:个蛋白的多顺反子mRNA没有经过任何拼接。除5'近端的起始密码子外,另外两个基因内部AUG也被用作起始密码子,这对于DNA病毒来说是独特的。据推测,在翻译过程中,核糖体扫描CIAV mRNA并交替在3个ORF的起始密码子处开始翻译。

S1核酶酶切图谱、引物延伸试验、克隆和序列分析结果表明,CIAV从1个单一位点起始转录,且仅有1个转录终止位点。对CIAVcux-1株基因组的分析表明,其转录起始点位于324 nt的TATA盒下游30 nt和第一个ORF(380 nt)的起始密码子上游26 nt处CIAV mRNA的poly(A)位于仅有的完整poly(A)信号(AAUAAA:2 317

接因子的参与下,诱发细胞凋亡的发生,近年来研究表明,在炎症消退过程中,细胞凋亡是炎症细胞清除的一个主要方式^[4]。而清除炎症细胞,抑制受伤组织发生感染,促进皮肤组织的再生和修复。

参考文献

[1]Fisher, E. M. C, Beer-Romero, P, Brown,

L. G, Ridley, A, McNeil, J. A, Lawrence, J. B, Williard, H. F, Bieber, F. R. and Page, D. C. (1990)

[2]陈志强,徐文严.细胞凋亡与皮肤和皮肤病.国外医学皮肤性病学分册.1995,21(4):200-204

[3]曹卫红,杨志祥等.急性放射性皮肤溃疡中凋亡细胞及其相关基因变化的意义.中华放射医学与防护杂志.2003,23(3):184-186

[4]赖克方.细胞凋亡在炎症消退中的作用.国外医学呼吸系统分册,1999,19(3):119-121

[5]Shogo Tsuyuki, Claude Bertrand, Francois Erand, Activation of the Fas receptor on lung eosinophils leads to apoptosis and the resolution of eosinophilic inflammation of the airways. J. Clin. Invest, 1995, 96: 2924-2931.

[6]严威,付少颖.细胞凋亡的研究,黑龙江医学,2002,26(5):418-450

nt)上游 25 nt 处。在转录起始位点上游存在一套完整的启动子(增强子元件,它以 324 nt 处的 TATA 盒为起始。在 TATA 盒上游,存在 1 个 SP1 结合位点(5'-GGCCGG:位于 305~10nt)和 CCAAT-TE 结合位点(位于 260~266 nt)。在其更上游,有一非转录区,该区含有一组 4 或 5 个(与不同的毒株相关)近乎完全的 21 nt 直接重复序列,被 1 个 12 bp 的插入序列间断,终止于 CCAAT 盒上游 3 nt 处。试验证明,该非转录区有许多起调控作用的基元序列,具有启动子活性。Phenix 和 Noteborn 等通过瞬时基因表达法证明,该区能刺激人的生长激素基因和乙酰氨基转移酶基因的高效表达。每一个单的直接重复单元或 12 bp 的插入序列都能增强转录活性,但其效率相对较低。在重复序列中,每一拷贝重复序列都有 ACGTCA 基元,此基元序列是 ATF(腺病毒转录因子)和 CREB(AMP 应答因子结合蛋白)结合位点保守序列,在 Somatostatin-cfos 等细胞基因、巨细胞病毒增强子和 II 型人 T 细胞白血病病毒等序列中均存在。对不同分离株的分析结果表明,直接重复元件和 12 bp 的插入序列对全世界的 CIAV 分离株具有代表性。大多数 CIAV 分离株具有 4 个直接重复序列,中间被 12 bp 的插入序列间断;但有两个欧洲株和一个日本分离株(82-2)代之以 5 个直接重复序列。电泳迁移率变动分析实验显示单一的直接重复单元和 12 bp 插入序列均与鸡 T 细胞核转录调控有关。竞争试验则揭示重复单元比 12 bp 插入序列更易结合其它因子,但后者对于纯化的人 SPI 转录因子具有强亲和力。

5 CIAV 编码的 3 种蛋白及其功能

CIAV 基因组单链有完全重叠的 3 个开放阅读框(ORF),分别编码衣壳蛋白 VP1、相关蛋白 VP2、细胞凋亡因子 VP3 蛋白,这 3 个蛋白均可在 CIAV 感染的细胞中确切地表达。

VP1 是纯化的 CIAV 游离病毒子表面唯一衣壳蛋白,分子量大小为 50 Ku。研究发现,VP1 的 N-端含有一组氨基酸残基-组蛋白前体,主要由精

氨酸组成,能够与病毒衣壳内的单链环状 DNA 链牢固地结合在一起,起保护 DNA 的作用。近年来,一些研究表明 VP1 基因对 CIAV 致病性也有影响。Renshaw 等曾经报道在一些 CIAV 分离株 VP1 氨基酸序列的研究中发现该蛋白的 139~151 氨基酸区域为一高变区,该区域中 139 和 144 氨基酸的改变对病毒的复制频率和感染的传播速度有影响。利用嵌合病毒对 VP1 基因的研究表明,该中存在 1 个二级调控因子区,这一区域的某个氨基酸的变化,可导致 VP2 蛋白和 VP3 核定位信号区域的氨基酸序列发生改变。Scott 等通过研究认为,VP1 编码区 6 个氨基酸(75、89、125、141、144 和 251)的变异导致了在 MDCC-SSB1# 细胞上传代 310 次的 Cux-1 株与针对 VP1 的单抗(MAb29 和 4H4)的结合能力减弱和致病性的降低,并认为 VP1 89 位氨基酸是决定病毒与 MAb29 结合能力强弱的关键位点。

VP2 位于感染细胞核内包涵体中,游离的 CIAV 病毒子中未发现明显 VP2 蛋白的存在,但在病毒感染细胞中却表达了 VP2,分子量大小为 24Ku。表明其在 CIAV 的核酸复制和病毒装配过程中可能起着重要作用。据 Koch 等[22]报道,在杆状病毒表达系统中,VP1 和 VP2 同时合成,能诱导针对 CIAV 的中和抗体及保护性免疫应答,而 2 种或 3 种单独表达产物(VP1、VP2、VP3)的简单混合不能刺激机体产生中和抗体。这表明 VP2 可能参与感染某些阶段的病毒组装过程。因此,他们推测 VP2 可能在病毒子的组装过程中充当一个折叠蛋白,但病毒装配为成熟粒子后逐渐消失。1998 年,Noteborn 等的研究也证实了这一观点。他们发现用间接免疫荧光试验检测分别表达重组 VP1 或 VP2 蛋白的昆虫细胞时,二者与 CIAV 特异的中和抗体反应很弱,而同时表达 VP1 和 VP2 蛋白的昆虫细胞则反应很强。免疫沉淀试验也表明,VP1 和 VP2 直接发生相互作用,证实 VP1 和 VP2 共同参与中和肽的形成。但其详细特性及其与宿主的相互作用有待进一步研究。

研究表明,不同来源毒株的 VP3

基因序列很保守,其编码的氨基酸序列有共同的特征,即含有 2 个脯氨酸丰富区域和 2 个强碱性氨基酸—精氨酸和赖氨酸的密集区域,这个特征对 CIAV 在体内外的易感靶细胞内的核定位和病毒的致病作用很重要。VP3 是非结构蛋白,在病毒感染细胞中表达,位于感染细胞核内包涵体中,是 CIAV 最早表达的蛋白,分子量大小为 13.6 Ku;缺失 VP3 的 C-端,病毒的复制速度明显降低。这意味着 VP3 可能参与了病毒的转录或复制环节。Noteborn 发现 CIAV 编码的 VP3 能诱导鸡单核细胞产生凋亡(apoptosis)。因此,他建议将 VP3 命名为凋亡素(apoptin)。它通过与宿主染色质的相互作用而直接引起细胞凋亡,造成细胞程序性死亡(cell programmed death, CPD),主要是造血细胞和淋巴细胞的程序性死亡,进而造成感染鸡的贫血、出血及免疫抑制。这是目前唯一已知道的 CIAV 致病机制。VP3 触发的细胞凋亡过程,与整个 CIAV 诱发的细胞凋亡过程一致,使成淋巴细胞、成红细胞的凋亡,且对人白血病和淋巴瘤细胞也同样起作用。这将可能在人类医学肿瘤治疗上发挥作用。

6 CIAV 基因疫苗研究

Koch 等报道用杆状病毒表达了 CIAV 的 VP1、VP2 和 VP3 蛋白。这些重组 CIAV 蛋白在昆虫细胞中分别表达时,接种鸡群不能诱导中和抗体产生。但用 VP1 和 VP2 重组杆状病毒同时感染昆虫细胞时,表达的 CIAV 蛋白接种鸡群后可诱导 CIAV 中和抗体的产生,并可保护其后代抵抗 CIAV 的攻击。表明被表达的重组 VP1、VP2 蛋白可被用作一种亚单位疫苗。杆状病毒表达系统是近年来发展比较成熟的一个真核表达系统,该系统表达的外源蛋白含量高,可对所表达蛋白进行修饰,而且杆状病毒是一种昆虫特异病毒,对脊椎动物无致病性,因此,它可被培养并用作疫苗单位疫苗免疫鸡而无不当的危险。

7 CIAV 分子生物学检测

常规的实验室诊断方法有病毒分离与鉴定、血清学试验、电镜检查、测量血细胞压积值(HCT)、单克隆抗体免

疫组化法检查 CIAV 抗原和抗体等。这些方法要求纯化病毒、获得病毒感染的 MSB1 细胞、阳性血清或单克隆抗体等,造成成本高、花费时间较多,且具有特异性差、敏感度低、不适于大批量检测等缺点,而不能满足临床快速诊断的需要。而基于核酸技术的诊断方法的特点恰能弥补常规诊断方法的这些不足。

7.1 聚合酶链式反应(PCR)检测

用 PCR 方法检测 CIAV 是近期的一个新发展。已有几个实验室建立了用来检测 CIAV 感染的 MSB1 细胞、病料组织或疫苗中 CIAV-DNA 的 PCR 方法。吉荣等设计一对扩增部分 VP1 序列的引物对临床上表现为免疫抑制状态的鸡群进行 CIAV 和 REV 共感染的检测;刘岳龙等根据已发表的 Cux-1 株基因组序列设计了一对扩增整个 VP3 序列及部分 VP1 序列的引物,用于 CIAV 的临床诊断;谢芝勋等设计一对扩增部分 VP3 序列和部分 VP1 序列的引物进行 PCR 检测人工感染鸡体内的 CIAV 动态的研究,并从 PCR 检测结果为阳性的组织中分离到了 CIAV。宋秀龙等设计两对引物建立了用套式 PCR 检测 CIAV 的方法,并证明该法具有较高敏感性和特异性。此外,Car-rieJ 等报道用实时 PCR(real-timePCR)对 CIAV 感染的细胞中的 DNA 进行了定量检测,并证实其敏感性、特异性优于套式 PCR。这些研究说明,用 PCR 对 CIAV 进行临床诊断不仅切实可行,且具有快速、准确、特异的优点,满足了临床诊断的要求。用优化的 PCR 方法不仅能从实验和自然感染鸡的临床样品中检出 CIAV-DNA,而且还可为 SPF 鸡群的监测、活毒疫苗中 CIAV 污染的检测以及 CIAV 的进一步研究开辟一条新的途径。

7.2 核酸探针检测

利用核酸探针技术作为临床检测手段,可提高诊断的敏感性及特异性,为证明病原在体内的存在、复制提供直接的依据,在兽医临床中可作为流行病学调查、临床检测和诊断手段之一。用于临床诊断 CIAV 的探针有全基因组 DNA、VP1 基因片段、部分 VP1 序列和部分非编码区序列等,一

般用地高辛标记。如段玉友等^[1]用 VP1 基因片段制成探针江苏等地随机采集的病鸡样品进行了 CIAV 感染情况的检测;金文杰等^[4]用 CIAV 全基因组探针从江西、广西等地被诊断为 IBD 的病料样品中检测到了 CIAV;孙伟等用含 CIAV 部分 VP1 序列和部分非编码区序列的探针从疑为 CIAV 的 15~30 日龄鸡的 20 份肝 DNA 中检测到了 6 份阳性。CIAV 探针可用于检测临床病料组织中 DNA、受感染的 MSB1 细胞 DNA,具有特异性强、重复性好、一次可检测多份样品的优点。因此,可用于对田间大批量样品进行 CIAV 带毒检测和流行病学调查。

7.3 竞争性聚合酶链式反应定量检测法

日本学者山口成夫用缺失一段核苷酸序列的 CIAV DNA 通过 PCR 扩增,分之克隆,构建成了竞争性模板,然后将竞争性模板 DNA、样品 DNA 和 PCR 反应试剂一起加入到反应管中进行 PCR 扩增,通过比较竞争性模板 DNA 和样品 DNA 的扩增产物量即可得出样品 DNA 含量。这种方法不仅特异性强,而且敏感性高,较传统的血清中和反应作定量检测大大节约时间和成本,因此该方法常用于分析病毒的定量和病毒在体内的分布等。

PCR 或核酸探针技术是快速诊断 CIAV 的首选方法,临床实际检测中,常将两者结合起来,将其结果进行比较,从而对疾病作出确诊,成为控制该病发生的一项重要措施。

8 研究展望

尽管对 CIAV 的研究已取得了许多进步,但关于 CIAV 仍有许多方面有待进一步研究:

8.1 CIAV 的转录调控原理及病毒复制致病机理的研究。

8.2 目前还没有一种安全、有效的疫苗能用于预防 CIAV,因此研制高效廉价 CIA 疫苗也是当前研究 CIA 的一个热点。不少专家正致力于用基因工程的方法构建能在体内复制的重组疫苗。

8.3 凋亡素 VP3 不仅能引起鸡成淋巴细胞的凋亡,且对人白血病及淋巴瘤细胞也同样起作用,这将有可能会

用于治疗某些人类疾病。

8.4 CIAV 是一种特殊的病毒,具备一些常见动物病毒所没有的特性,将发展成为一个研究动物病毒与宿主之间相互关系认识的理想模型,尤其是非编码区的特征性调控元件,如重复序列和淋巴组织特异的转录因子值得深入研究。

8.5 建立并应用一种能与禽类其它疾病尤其是免疫抑制性疾病相鉴别的一种快速、特异、敏感的诊断方法,进行临床病例的诊断和地区流行病学调查。这也是目前需优先解决的问题。

主要参考文献

- [1] 刘秀梵.免疫抑制性病毒感染及其对禽病控制的影响. 跨世纪禽业论坛, 1999, 323~325
- [2] Yuasa N, aniguchi T, Yoshida I. Isolation and characterization of an agent inducing anemia in chicks. Avian Diseases, 1979, 366~385
- [3] 崔现兰, 辛桂香, 吴冬来. 鸡传染性贫血病毒的鉴定. 中国畜禽传染病, 1992(6): 3~5
- [4] 金文杰, 崔治中, 刘岳龙, 等. 传染性法式囊病料中 MDV、CAV、REV 的共感染检测. 中国兽医学报, 2001, 21(1): 6~8
- [5] 段玉友, 肖雪君, 潘志明, 等. 用 digoxigenin 标记 DNA 探针检测鸡贫血病病毒感染. 中国畜禽传染病, 1997(1): 16~17
- [6] 王笑梅, 王秀荣, 邱冬, 等. 雏鸡混合感染 IBV 与 CAV 的研究. 中国预防兽医学报, 2000, 22(5): 321~324
- [7] Yuasa N, Taniguchi T, Imada T, et al. Isolation of chicken anemia agent with MD-CC-MSB1 cells from chickens in the field. Natl Inst Anim Health Q (Jpn), 1983(23): 75~77
- [8] Lukert P G F, de Boer, Dale J L, et al. Family Circoviridae. Virus Taxonomy—classification and nomenclature of ciruses, 6th Report of the International Committee on Taxonomy of viruses. Springer-Verlag Vienna, 199, 166~168
- [9] 陆承平. 最新脊椎动物病毒分类简介. 中国兽医学报, 1996, 16(1): 94~100
- [10] Niagro F D, Forsthoefel A N, Lawthe R P, et al. Beak and feather disease virus and porcine circoviruses and plant circoviruses genomes: intermediates between the geminiviruses and plant circoviruses. Arch Virol, 1998, 143(9): 1723~1744