

doi: 103969/j. issn. 0490-6756. 2016. 03. 030

# A型口蹄疫病毒(FMDV)VP1基因遗传进化分析

杨江<sup>1</sup>, 范辰韵<sup>1</sup>, 高文倩<sup>1</sup>, 罗晓林<sup>2</sup>, 安添午<sup>2</sup>, 庞倩<sup>2</sup>,  
许路来<sup>1</sup>, 徐岳松<sup>1</sup>, 徐鹏卫<sup>1</sup>, 杨鑫<sup>1</sup>

(1. 四川大学生命科学学院, 动物疫病与食品安全四川省重点实验室, 生物资源与生态环境教育部重点实验室, “985工程”西南资源环境与灾害防治科技创新平台, 成都 610064; 2. 四川省草原科学研究院, 成都 611731)

**摘要:** 对疑似感染 FMDV 的样本进行了 FMDV VP1 基因 RT-PCR 鉴定, 测定了其中 1 个阳性样本序列(命名为 HY)。采用生物信息学软件比较了 HY 与参考序列的同源性, 并构建 VP1 基因的分子系统树。结果表明: HY 属 A 型 FMDV 亚洲拓扑型东南亚-97 谱系, 与我国近年来报道的 A/GDMM/CHA/2013 的序列相似性为 99.1%, 与 AF/72 疫苗株的相似性仅为 79.0%。提示我国近年来报道的 A 型毒株与 AF/72 疫苗株的序列差异较大, 应及时更换 A 型口蹄疫疫苗毒株。

**关键词:** 口蹄疫病毒; VP1; A 型; 进化树分析

中图分类号: Q933;S852

文献标识码: A

文章编号: 0490-6756(2016)02-0430-07

## The Phylogenetic Analysis of Foot-and-mouth Disease Virus (FMDV) Serotype A Based on VP1 Gene

YANG Jiang<sup>1</sup>, FAN Chen-Yun<sup>1</sup>, GAO Wen-Qian<sup>1</sup>, LUO Xiao-Lin<sup>2</sup>, AN Tian-Wu<sup>2</sup>,  
PANG Qian<sup>2</sup>, XU Lu-Lai<sup>1</sup>, XU Yue-Song<sup>1</sup>, XU Peng-Wei<sup>1</sup>, YANG Xin<sup>1</sup>

(1. Animal Disease Prevention and Food Safety Key Laboratory of Sichuan Province. Key Laboratory of Bio-resources and Eco-environment, Ministry of Education. “985 Project” Science Innovative Platform for Resource and Environment Protection of Southwestern. College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China; 2. Sichuan Academy of Grassland Science. Chengdu 611731, China)

**Abstract:** The samples suspected infection of FMDV were identified by RT-PCR method based on VP1 gene. One of the positive samples was sequenced and applied to homologous analysis with other reference sequences, to construct phylogenetic tree of VP1 gene. The results showed that the isolated VP1 belonged to serotype A, Asia topological type, and Sea-97 lineage. It has a high sequence similarity (99.1%) to A/GDMM/CHA/2013, a Chinese A type FMDV isolated in 2013, whereas has a low sequence similarity to the vaccine strain AF/72 (79.0%). The low sequence similarity between vaccine strain AF/72 and the A-type FMDV viruses reported recently indicated that AF/72 vaccine strain might only provide limited protection and the vaccine strain should be made up to date as soon as possible.

**Key words:** Foot-and-mouth disease virus; VP1; Serotype A; Phylogenetic analysis

收稿日期: 2014-11-27

基金项目: 四川省科技支撑计划(2012NZ0047); 四川省科技基础条件平台项目(14010136); 国家自然科学基金项目(J1103518)

作者简介: 杨江(1990-), 男, 重庆黔江区人, 硕士研究生, 从事动物疫病防控研究. E-mail: qjyj626@hotmail.com

通讯作者: 杨鑫. E-mail: yangxin0822@163.com

## 1 引言

口蹄疫(foot-and-mouth, FMD)是由口蹄疫病毒(foot-and-mouth disease virus, FMDV)引起的在猪、牛和羊等偶蹄动物发生的一种急性、高度接触性传染病,被世界动物卫生组织(office international des epizooties, OIE)规定为必报动物疫病之一。FMDV 为微小 RNA 病毒科(*Picornaviridae*)口蹄疫病毒属(*Aphthovirus*)病毒。病毒基因组为单股正链 RNA,长度约 8500 个核苷酸(nucleotides, nts),编码一条多聚蛋白。多聚蛋白由自身编码的蛋白酶经初级、次级、成熟裂解后,形成结构蛋白和非结构蛋白,其中结构蛋白 VP1、VP2、VP3、VP4 组成衣壳蛋白,由 60 个拷贝的衣壳蛋白形成包裹病毒 RNA 基因组的衣壳<sup>[1]</sup>。FMDV 有 O、A、C、Asia1、SAT1、SAT2、SAT3 共 7 个血清型,各血清型间无交叉免疫保护作用<sup>[2]</sup>,7 个血清型的 FMDV 在长期感染动物的进化过程中,产生了许多变异毒株和亚型,已有 65 个亚型被报道<sup>[3]</sup>,我国流行的主要有 O、A、Asia1 三个血清型<sup>[4]</sup>。

在口蹄疫病毒结构基因中,VP1 基因具有血清型特异性,是 FMD 病毒株遗传特性及其比较分析的首选基因<sup>[5]</sup>。VP1 蛋白上突出的 G-H 环中的 133-158 位氨基酸残基是 FMDV 主要抗原决定簇部位,也是抗原性的高变区<sup>[6]</sup>,其中 RGD(Arginine-Glycine-Aspartic acid, 精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸)三肽基序<sup>[7]</sup>高度保守,但其侧翼序列高度易变,VP1 的变异可引起疫苗对其病毒的免疫失效<sup>[8]</sup>。

A 型 FMDV 在 7 个血清型中其抗原多样性最广、发生重组事件也最为频繁。流行病学资料证实,韩国(2010)、蒙古(2013)、伊朗(2011、2012、2013)、阿富汗(2010、2011、2013)、吉尔吉斯斯坦(2007)、巴基斯坦(2012、2013、2014)、缅甸(2011)、老挝(2006、2014)、越南(2009、2012、2013)、泰国(2011、2012、2013、2014)、马来西亚(2012、2013)、土耳其(2012、2013)、埃及(2013)、坦桑尼亚(2012、2013)先后有 A 型 FMDV (<http://web.oie.int/wahis/public.php>)报道。近几十年(1973-1998),我国未有 A 型 FMD 发生的报道,但 2003 年在青海、2009 年在上海和武汉<sup>[4]</sup>、2013 年在广州、西藏有 A 型 FMD 的报道<sup>[9]</sup>。本研究采用 RT-PCR 方法对疑似感染 FMDV 的样本进行 FMDV VP1 鉴

定和测序,与国内外的参考毒株进行了序列比较和遗传进化分析,为口蹄疫的防控提供了科学依据。

## 2 材料和方法

### 2.1 材料

2.2.1 病毒 2013 年,收集到采自藏区牦牛的 5 份疑似感染 FMDV 的水疱液、水疱皮样本。样品低温保存于 Trizol 试剂中,用于 RNA 提取和序列测定。

2.1.2 菌种与试剂 感受态 DH5 $\alpha$  由本实验室保存;RNA 提取试剂 Trizol Plus,反转录试剂盒 PrimeScript<sup>R</sup> RT Reagent Kit, DNA ligation kit, pMD19-T 载体, DNA Marke 购自 Takara 公司;KOD-plus-高保真酶购自 TOYOBO 公司;胶回收纯化试剂盒购自 OMEGA 公司。

### 2.2 方法

2.2.1 引物设计与合成 根据参考毒株基因组序列,使用 Primer 5.0 软件设计了扩增 A 型、O 型口蹄疫 VP1 基因全序列的 2 对引物,目的片段为 710bp 左右。O 型引物序列为,上游引物:5'-ACTTTGAGCTGCGCCTGCC-3',下游引物为:5'-CTCCCGCCAACTTGAGCAg-3';A 型引物序列为,上游引物:5'-TTCAAAGGCCCGCTA-CATGG-3',下游引物为:5'-AACCGGTTA-AAGTCGGGTCCG-3'。由华大基因公司合成。

2.2.2 样品 RNA 提取和 RT-PCR 扩增 VP1 片段 参照 Trizol Plus 试剂说明书提取样品总 RNA。按照 TaKaRa PrimeScript<sup>R</sup> RT Reagent Kit 说明书进行反转录合成 cDNA,然后进行 PCR 反应扩增 VP1 基因。PCR 反应条件为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,57 $^{\circ}$ C 退火 30 s,68 $^{\circ}$ C 延伸 50 s,共 30 个循环;最后 68 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳后观察。

2.2.3 目的片段的克隆、鉴定与 VP1 基因序列的测定 按胶回收试剂盒说明书操作,回收 PCR 产物并与 pMD19-T 载体(50 ng/ $\mu$ L)连接,连接产物转化入 DH5 $\alpha$  感受态细胞,挑取单个菌落进行 PCR 鉴定,阳性重组子的测序由华大基因公司完成。

2.2.4 VP1 基因序列分析 考虑本次为来自牦牛的牛源样品,因此参考序列主要选用牛源毒株,3 株为猪源,14 株未知来源。参考毒株序列来自 NCBI,疫苗株 AF/72 序列来自刘新生等发表的

文章<sup>[10]</sup>, 使用 DNASTAR 软件进行序列同源性分析; 使用 Mega 6.0 软件, 并采用 neighbor-joining 算法构建无根进化树. 谱系的划分参照了联合国粮农组织口蹄疫参考实验室(The FAO World

Reference Laboratory for Food-and-Mouth Disease, WRLFMD)和白兴文等<sup>[4]</sup>对 A 型口蹄疫谱系的划分.

表 1 FMDV 参考毒株序列信息

Tab. 1 Reference FMDV Strains selected from Gene Bank

Genebank 登录号	毒株名称	毒株来源	离地点	分离时间	序列信息
AJ131663	A/NM/EL/CHA/60	未知	中国	1960	VP1
AJ131664	A/NM/XZ/CHA/64	未知	中国	1964	VP1
AJ131665	A/XJ/KT/CHA/58	未知	中国	1958	VP1
AJ131666	A/GS/LX/CHA/62	未知	中国	1962	VP1
JF792355	A/HuBWH/CHA/2009	牛	中国	2009	VP1
KF450794	A/GDMM/CHA/2013	猪	中国	2013	VP1
GU441855	A/Pocheon/KOR/2010	牛	韩国	2010	VP1
GQ406252	A/VN/20/2009	牛	越南	2009	全基因组
HQ116368	A/VIT/14/2005	牛	越南	2005	VP1
EU667457	A/LAO/6/2006	牛	老挝	2006	VP1
EU667456	A/LAO/1/2006	牛	老挝	2006	VP1
EU667455	A/LAO/36/2003	牛	老挝	2003	VP1
HQ116312	A/TAI/7/2003	牛	泰国	2003	VP1
EF208778	A/TAI/2/97	未知	泰国	1997	VP1
EF208777	A/TAI/118/87	未知	泰国	1987	VP1
AY593755	A15/Bangkok/TAI/60	牛	泰国	1960	全基因组
EU414533	A/MAY/2/2002	牛	马来西亚	2002	VP1
KF601577	A/Sleman/Kurdistan/2013	牛	伊拉克	2013	VP1
AY593763	A22/IRQ/24/64	牛	伊拉克	1964	全基因组
EF208770	A/IRN/2/87	牛	伊朗	1987	VP1
FJ755031	A/IRN/17/2005	牛	伊朗	2005	VP1
EF208771	A/IRN/1/96	牛	伊朗	1996	VP1
JQ765588	A/Mainkum/02/2012	未知	哈萨克斯坦	2012	VP1
EF208772	A/IRN/22/99	牛	阿塞拜疆	1999	VP1
KM268896	A/TUR/11/2013	牛	土耳其	2013	VP1
FJ755133	A/TUR/1/2008	牛	土耳其	2008	VP1
AY593765	A22/Tur/66/65	未知	土耳其	1965	VP1
KC924746	A/Rafah/Gaza/164294/2013	未知	加沙地区	2013	VP1
KC795954	A/BAN/CH/Ra-26/2012	牛	孟加拉	2012	VP1
KJ754939	A/BAN/GA/Sa-197/2013	牛	孟加拉	2013	全基因组
AY593768	A24/Cruzeiro/BRA/55	未知	巴西	1955	全基因组
AY593780	A5/Allier/FRA/60	未知	法国	1960	全基因组
KJ210071	A/1D/Egypt/AL-Fayoum/2013	牛	埃及	2013	VP1
KC440881	A/EGY/9/2011	未知	埃及	2011	全基因组
KC440882	A/EGY/1/2012	未知	埃及	2012	全基因组
AF390592	A/IND/104/2000	牛	印度	1999	VP1
DQ101240	Asia1/IND/762/2003	牛	印度	2003	VP1
AY593795	Asia1/PAK/1/54	未知	巴基斯坦	1954	全基因组
AJ294911	O/HKN/21/70	猪	香港地区	1970	VP1
AF308157	O/Yunlin/Taiwan/97	猪	台湾地区	1997	全基因组

2.6.3 构建 FMDV VP1 序列的系统树 将本研究获得的 1 条 FMDV VP1 序列(HY-VP1)、疫苗株 AF/72 VP1 序列以及从 NCBI 下载的 1077 条 FMDV VP1 序列导入 Mega 6.0 软件, 使用 Clustal W 方法进行 Alignment 比对, 采用 neighbor-joining 算法构建无根进化树。

### 3 结 果

#### 3.1 VP1 基因的 RT-PCR 鉴定结果

提取 5 份疑似感染 FMDV 样品的 RNA, 进行反转录后, 分别用 A 型和 O 型 VP1 引物进行 PCR 扩增。结果显示, A 型引物在 4 份样品均扩增出约 700 bp 的扩增带, 与 VP1 预期的大小一致(图 1)。对扩增片段进行 TA 克隆、测序和序列比对, 确定其中包含 A 型口蹄疫病毒的 636 bp 全长 VP1 基因, 编码 212 个氨基酸, 将其命名为 HY-VP1。

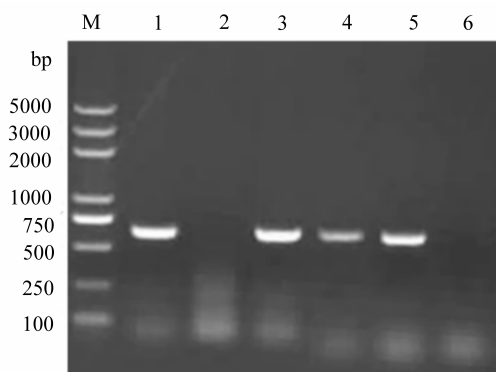


图 1 FMDV RT-PCR 扩增片段的凝胶电泳图鉴定结果

图中 1~5 道为样品编号, 第 6 道为空白对照, M 道为 DNA 分子量 Marker, Trans 2000 plus

Fig.1 Electrophoresis of the amplified VP1 by RT-PCR from five field samples

#### 3.2 HY-VP1 片段的序列比较分析

将 HY-VP1 与其它参考毒株的 VP1 共同构建系统树, 发现 HY-VP1 被划分到 A 型血清型、亚洲拓扑型(topotype)、东南亚谱系中, 与 2013 年中国广东的家猪分离株(A/GDMM/CHA/2013)同处于一个分支(图 2)。系统树中新近分离鉴定的毒株, 如: 伊拉克(A/Sleman/Kurdistan/2013)、加沙地区(A/Rafah/Gaza/164294/2013)、土耳其(A/TUR/11/2013)、埃及(A/1D/Egypt/AL-Fayoum/2013, A/EGY/1/2012)、孟加拉共和国(A/BAN/GA/Sa-197/2013, A/BAN/CH/Ra-26/2012)、

哈萨克斯坦(A/Mainkum/02/2012)分离株, 均与 Sea-97 谱系相距较远(图 2), 它们分属 Iran-05 和 VP359 deletion lineage 分支。疫苗株 AF/72 与我国 50-60 年代报道的 4 株毒株(A/NM/EL/CHA/60、A/NM/XZ/CHA/64、A/XJ/KT/CHA/58、A/GS/LX/CHA/62)同处于 AKT58 分支(图 2), 遗传关系较近。

对近年报道的毒株进行序列相似性分析, 结果显示: HY-VP1 基因序列与国内现有疫苗株 AF/72 以及我国在 20 世纪 50~60 年代报道的 A/XJ/KT/CHA/58、A/NM/EL/CHA/60、A/GS/LX/CHA/62、A/NM/XZ/CHA/64 毒株的相似性(Percent identity)分别为 79.0%、77.8%、79.4%、78.1%和 79.0%, 遗传差异(Genetic divergence)较大, 而疫苗株 AF/72 与上述 4 株毒株的相似性很高, 分别为 91.7%、98.1%、95.4%和 97.9%(图 3), 这与图 2 的聚类分析结果相符(图 2 AKT58); HY-VP1 基因序列与我国及周边国家近 5 年内报道的毒株, 如: A/GDMM/CHA/2013、A/HuBWH/CHA/2009、A/Porcheon/KOR/2010 的相似性较高, 分别为 99.1%、89.5%和 89.2%, 与其它相距较远国家和地区近年流行的毒株, 如: A/BAN/GA/Sa-197/2013、A/Sleman/Kurdistan/2013、A/Rafah/Gaza/164294/2013、A/TUR/11/2013、A/EGY/1/2012、A/BAN/CH/Ra-26/2012 的相似性分别为 79.9%、77.2%、75.6%、75.0%、76.5%、79.9%, 存在着较大的序列差异, 而这些毒株与我国现有疫苗株 AF/72 的序列相似性也仅在 79.3-82.9%之间(图 3)。以上结果提示: 1)近年来国内和周边国家报道的 A 型口蹄疫毒株与世界其它国家的毒株有较大的序列差异; 2)国内现使用的 A 型疫苗株(AKT58 类)与国内 50-60 年代报道的毒株有较高的序列相似度, 与国内外当前分离毒株却具有较大的序列差异。

#### 3.3 构建 A 型 FMDV VP1 的系统树

为了进一步了解 A 型口蹄疫在全球范围的分布、各亚型的流行区域和选择抗原性更适合的毒株构建疫苗株, 从 NCBI 下载了 A 型口蹄疫病毒的 VP1 基因, 构建了 A 型口蹄疫 VP1 的系统树(图 4)。在建立的进化树中, 1079 条 VP1 序列被分为 3 个大群(Cluster), 24 个亚群。Cluster 1.1-1.10 为非洲分离株, 主要分布于肯尼亚、埃塞俄比亚、坦桑尼亚、埃及、苏丹、乌干达等国。Cluster 2 为欧洲-南美洲分离株, 主要分布于巴西、阿根廷、委内瑞拉、德国、意大利、希腊、摩洛哥等国。Cluster 3.1-3.13 为亚洲分离株,

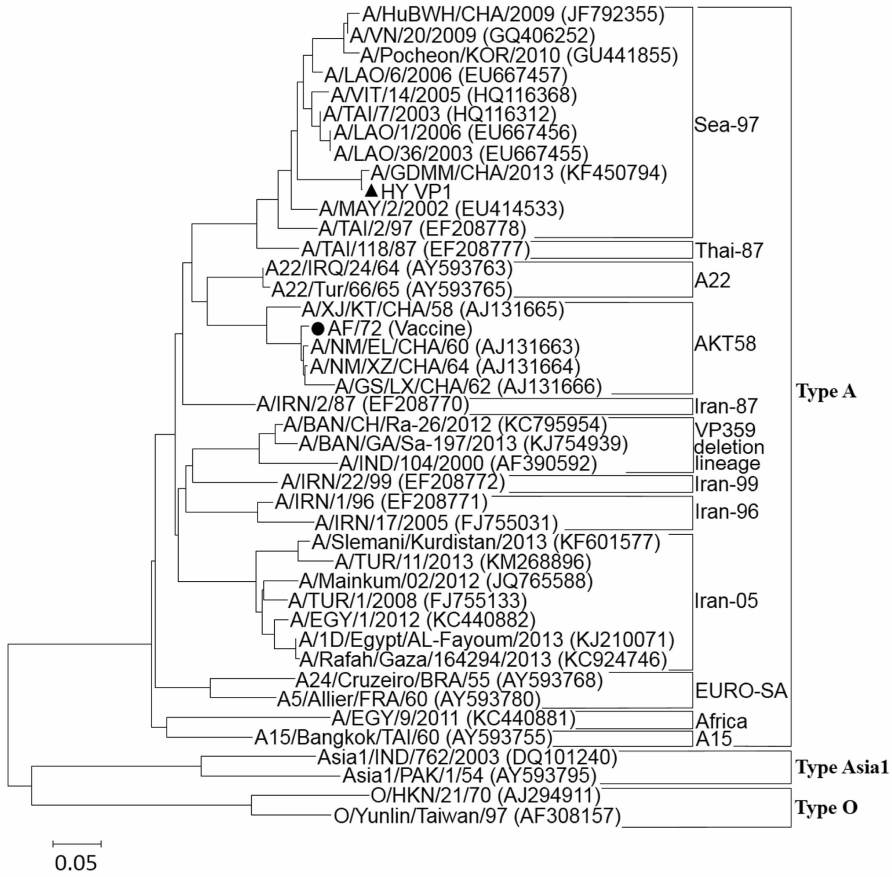


图 2 A 型口蹄疫病毒 VP1 的遗传系谱分析

用 HY-VP1(▲)和 41 株口蹄疫病毒参考株的 VP1 基因构建的系统树显示, HY-VP1 处于 Sea-97 分支, 疫苗株 AF/72(●)与我国 50-60 年代报道的 4 株(old CHA)同属一个分支

Fig. 2 A phylogenetic tree constructed with the isolated VP1 and the reference sequences

		Percent Identity																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		
Divergence	1	■	79.0	77.8	79.4	78.1	79.0	99.1	89.5	89.2	75.9	79.9	77.2	75.6	75.0	76.5	79.9	1	HY VP1
	2	24.9	■	91.7	98.1	95.4	97.9	79.3	79.6	79.3	82.9	79.5	80.7	82.3	79.5	82.6	80.4	2	AF72 (Vaccine)
	3	27.1	8.5	■	92.3	90.5	92.4	78.1	78.7	78.4	80.7	79.2	81.3	80.7	79.2	81.0	80.1	3	A XJ KT CHA (AJ131665)
	4	24.5	1.6	8.2	■	96.6	99.1	79.8	79.8	79.4	81.8	79.3	79.6	81.5	78.4	81.5	80.2	4	A NM EL CHA 60 (AJ131663)
	5	26.4	4.4	10.2	3.5	■	96.9	78.4	78.1	77.8	79.5	77.4	78.0	79.5	76.8	79.2	78.3	5	A GS LX CHA 62 (AJ131666)
	6	25.1	1.9	8.1	0.9	3.1	■	79.3	79.3	79.0	81.7	78.6	79.5	81.7	78.3	81.3	79.5	6	A NM XZ CHA 64 (AJ131664)
	7	0.9	24.4	26.6	24.0	26.0	24.6	■	89.2	88.9	75.6	79.0	76.2	75.3	74.1	76.2	79.6	7	A GDMM CHA 2013 (KF450794)
	8	11.4	23.7	25.4	23.8	26.2	24.4	11.8	■	97.2	76.5	75.3	76.2	75.9	74.4	76.9	76.5	8	A HuBWH CHA 2009 (JF792355)
	9	11.8	24.2	25.9	24.3	26.7	24.9	12.2	2.8	■	76.2	75.6	76.2	76.2	74.4	76.9	76.9	9	A Pocheon KOR 2010 (GU441855)
	10	30.0	19.5	22.7	21.3	24.4	21.4	30.5	28.7	29.2	■	79.5	90.5	99.4	89.3	96.3	80.4	10	A 1D Egypt AL-Fayoum 2013 (KJ210071)
	11	23.7	24.2	25.0	24.8	27.5	25.5	25.1	30.5	30.1	24.4	■	79.5	78.9	80.4	80.1	97.2	11	A BAN GA Sa-197 2013 (KJ754939)
	12	28.1	22.4	21.9	24.3	26.6	24.5	29.7	29.4	29.5	10.3	24.5	■	89.9	94.8	90.2	79.2	12	A Slemani Kurdistan 2013 (KF601577)
	13	30.5	20.3	22.7	21.7	24.4	21.4	31.1	29.7	29.2	0.6	25.3	11.0	■	88.7	95.7	79.8	13	A Rafah Gaza 164294 2013 (KC924746)
	14	31.6	24.2	25.0	26.1	28.4	26.2	33.2	32.4	32.5	11.7	23.2	5.5	12.5	■	90.2	79.5	14	A TUR 11 2013 (KM268896)
	15	29.1	19.9	22.4	21.7	24.8	21.9	29.7	28.3	28.4	3.8	23.6	10.7	4.5	10.6	■	81.0	15	A EGY 1 2012 (KC440882)
	16	23.7	22.8	23.7	23.4	26.1	24.4	24.1	28.5	28.1	23.1	2.8	25.0	24.0	24.5	22.3	■	16	A BAN CH Ra-26 2012 (KC795954)

图 3 HY-VP1 基因序列与疫苗株等参考毒株的序列相似性分析

HY-VP1 与 28 个参考毒株和疫苗株 AF/72 的序列相似性(Percent identity)和遗传差异性(Genetic divergence)矩阵图,由 DNA star 和 Mega 6.0 构建

Fig. 3 Sequence identity and genetic divergence among the isolated VP1 and other reference sequences

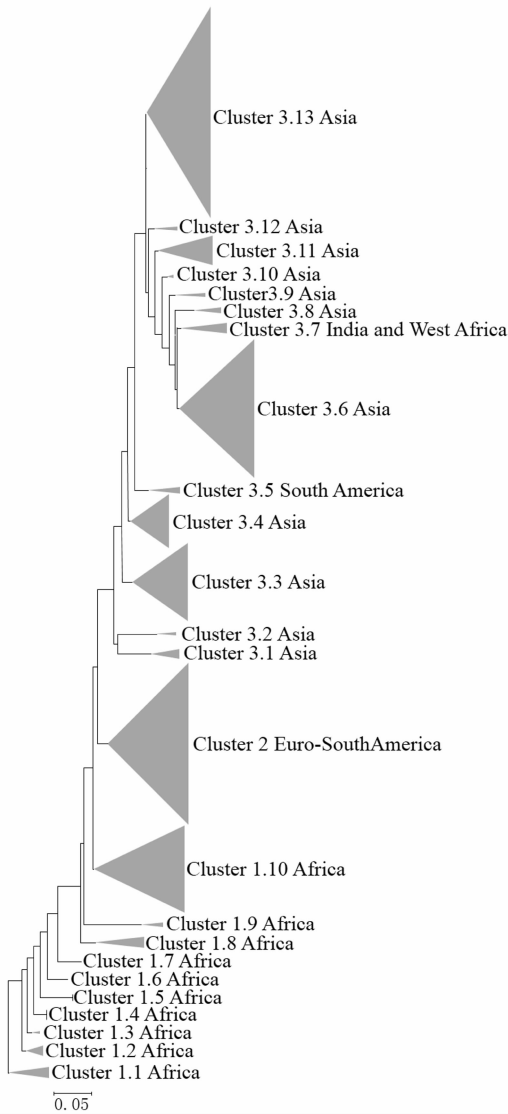


图 4 A 型 FMDV VP1 基因的系统进化树  
使用 Mega 6.0 对 HY-VP1 与 1077 个参考毒株和疫苗株 AF/72 进行了系统进化分析, 发现中国报道的毒株均处于 Cluster 3.6 和 3.8 分支中

Fig. 4 The phylogenetic tree of A type FMDV constructed on VP1 gene

其中 Cluster 3.1、3.11、3.12 和 3.13 为中亚分离株, 主要分布于阿富汗、伊朗、伊拉克、巴基斯坦、土耳其、约旦 和沙特; Cluster 3.2、3.3、3.4、3.9 和 3.10 为南亚分离株, 主要分布于印度、孟加拉和尼泊尔; Cluster 3.6 主要包括东南亚国家(如: 泰国、越南、老挝、柬埔寨、马来西亚)的分离株, 部分为土耳其、伊拉克和韩国分离株, 中国近年来报道的毒株(如: A/GDMM/CHA/2013、A/HuBWH/CHA/2009)和本研究测定 HY-VP1 也处于该分支; Cluster 3.8 为包括我国现使用的疫苗株 AF/72 和我国 20 世纪 50~60 年代报道的 AKT58

毒株, 另有两个分支也值得关注, Cluster 3.5 为南美国家巴西和玻利维亚分离株, Cluster 3.7 为印度和西非国家贝宁、塞内加尔、冈比亚分离株, 这两个分支中出现了非亚洲分离株, 说明这两个分支中的毒株可能以某种方式在亚洲与非洲大陆之间进行传播。

目前 NCBI 上 A 型 FMDV 的中国分离株序列还极少, 还未发现分布于 Cluster 3.6 和 3.8 之外的中国分离株。虽然我们没有从 NCBI 查找到谢毅等 2013 年报道的 A/HeN/1/2009 毒株的序列<sup>[11]</sup>, 但从该作者描述的系统树分析仍可得知它属于 Cluster 3.6。从 1079 条 FMDV VP1 基因序列分析的情况来看, 由于地理隔离、发展程度不一、各国对病毒的严格检疫等原因, 部分国家流行的毒株还比较单一, FMDV 也可以根据国家来进行群的划分。

## 4 讨论

我国 A 型口蹄疫历史可追溯到 1958 年在新疆阿克陶地区的分离株<sup>[11]</sup>, 2009 年至 2013 年, 口蹄疫在亚洲、非洲地区呈爆发性流行, 全球共有 44 个国家和地区报告了口蹄疫疫情, 其中 A 型口蹄疫异常活跃, 俄罗斯和蒙古国更是在 2013 年报道了其国内的首次 A 型口蹄疫<sup>[12]</sup>。本研究测定的 HY-VP1 基因序列全长为 636bp, 与我国近年公布的 2 条 A 型 FMDV VP1 基因序列(A/GDMM/CHA/2013, A/HuBWH/CHA/2009), 同属 A 型血清型亚洲拓扑型东南亚谱系。HY-VP1 和东南亚谱系中的毒株与疫苗株 AF/72 的 VP1 基因的相似性都较低, 提示 AF/72 不是预防我国近年来报道的 A 型口蹄疫的最佳疫苗选择。2014 年 11 月, 中国农业科学院兰州兽医研究所潘丽在东亚口蹄疫防治与控制研讨会(Symposium on Prevention and Control of FMD in East Asia)上报了 A 型重组疫苗株 Re-A/WH/09<sup>[9]</sup>, 它的 VP1-VP4 来自 A/HuBWH/2009, 是 A 型抗原最接近我国 2013 年来报道的 A 型毒株的疫苗株。

本研究对全球 A 型口蹄疫亚型分布分析使我们更加清楚地认识到口蹄疫病毒的遗传多样性, 不同亚型病毒在基因序列上差异较大。虽然口蹄疫病毒的流行具有一定的地域性, 但在不同地区也有遗传关系较近的分离株被发现, 提示我们应当加强进出口产品的监管、杜绝非法运输和买卖, 并加强 FMD 时空传播的研究。

近年来我国口蹄疫防控形式严峻, A、O 型口蹄疫时有报道. 2013 年共报道 15 起, 2014 年到目前为止共报道 5 起<sup>[13]</sup>. 不同血清型、不同遗传谱系混杂存在, 猪牛羊交叉感染和病毒跨境传播进一步加大了我国 FMD 防控的难度. 同时, 本研究结果也证实了加强流行病学调查, 对病毒的亚型进行实时监测, 根据流行病学调查结果更新疫苗株和选用合适的疫苗是防控 FMD 的关键路径.

#### 参考文献:

- [1] Jamal S M B. Foot-and-mouth disease: past, present and future[J]. *Vet Res*, 2013,44(1):116.
- [2] Brown F. The history of research in foot-and-mouth disease[J]. *Virus Res*, 2003,91(1): 3.
- [3] 张显升, 刘在新, 赵启祖, 等. 口蹄疫病毒基因组 RNA 结构与功能研究进展[J]. *病毒学报*, 2001,17(4):375.
- [4] 白兴文. 我国 O 型泛亚 1 系口蹄疫病毒表型差异的分子基础[D]. 中国农业科学院, 2012.
- [5] Domingo E, Escarm S C, Baranowski E, *et al.* Evolution of foot-and-mouth disease virus[J]. *Virus Res*, 2003,91(5):47.
- [6] Verdager N, Mateu M G, Andreu D, *et al.* Structure of the major antigenic loop of foot-and-mouth disease virus complexed with a neutralizing antibody: direct involvement of the Arg-Gly-Asp motif in the interaction[J]. *Embo J*, 1995,14(8): 1690.
- [7] Mateu M G, Valero M L, Andreu D, *et al.* Systematic replacement of amino acid residues within an Arg-Gly-Asp-containing loop of foot-and-mouth disease virus and effect on cell recognition[J]. *J Biol Chem*, 1996,271(22): 12814.
- [8] Paton D J, Valarcher J F, Bergmann I, *et al.* Selection of foot and mouth disease vaccine strains—a review[J]. *Rev Sci Tech*, 2005, 24(3): 981.
- [9] Li P. Related to FMD prevention, Control and Research activities in LVRI[R]. Tokyo: 2014.
- [10] 刘新生, 王永录. 口蹄疫病毒株 AF/72 结构蛋白 VP1 克隆及其 T 细胞表位预测[J]. *华北农学报*, 2010,25(5):28.
- [11] 谢毅, 牟一娇, 朱琳, 等. A 型口蹄疫病毒 A/HeN/1/2009 株全基因组序列的测定及其基因特征分析[J]. *安徽农业科学*, 2013(2):640.
- [12] 宋建德, 朱迪国, 袁丽萍, 等. 2013 年全球口蹄疫流行状况[J]. *中国动物检疫*, 2014,31(6):10.
- [13] 农业部. 疫情发布[EB/OL]. <http://www.moa.gov.cn/zwillm/yjgl/yqfb/>.