

2013–2017 年中国小反刍兽疫病毒 *P* 基因遗传演化特征

盛琰翔¹, 刘春菊², 王清华², 迟田英², 马洪超², 王志亮², 吴晓东², 包静月²

(1. 浙江农林大学 动物科技学院, 浙江 杭州 311300; 2. 中国动物卫生与流行病学中心, 山东 青岛 266032)

摘要: 【目的】探究中国小反刍兽疫病毒 (PPRV) 田间流行毒株 *P* 基因的分子进化特征。【方法】对 2013–2017 年中国 21 省份 37 个疫点的小反刍兽疫病毒流行毒株进行磷蛋白基因 (*P* 基因) 序列比较和分子进化分析。【结果】37 个毒株 *P* 基因核苷酸序列间的遗传距离为 0–0.009 2, 变异分布在 47 个位点; *P* 蛋白氨基酸序列间的遗传距离为 0–0.007 9, 变异分布在 26 个位点。与 15 株代表毒株的序列比对发现: 2013–2017 年中国 37 株 PPRV 流行毒株 *P* 基因的 10 个位点发生了核苷酸序列突变, 其中 3 个导致了氨基酸序列的改变。以最大似然法构建分子进化树, 发现 2013–2017 年中国流行的 37 个毒株构成基因 IV 系中 1 个独立的进化分支, 与 2007 年传入西藏的毒株处于不同的进化分支。【结论】2013–2017 年中国小反刍兽疫病毒 *P* 基因变异较大; 随毒株流行时间增长, *P* 基因的突变位点增多, 但不同毒株突变位点不同, 表现为相对随机的突变。图 3 表 4 参 12

关键词: 小反刍兽疫病毒; *P* 基因; 序列变异; 遗传演化

中图分类号: S852 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2020)06-1136-07

Evolution characterization of *P* gene of peste des petits ruminants virus in China from 2013 to 2017

SHENG Yanxiang¹, LIU Chunju², WANG Qinghua², CHI Tianying², MA Hongchao²,
WANG Zhiliang², WU Xiaodong², BAO Jingyue²

(1. College of Animal Science and Technology, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China;

2. China Animal Health and Epidemiology Center, Qingdao 266032, Shandong, China)

Abstract: [Objective] The objective of this study is to explore the molecular evolution characteristics of *P* gene of peste des petits ruminants virus (PPRV) during an epidemic in China. [Method] Bioinformatics analysis on the sequences of *P* gene of PPRV strains from 37 epidemic sites in 21 provinces of China from 2013 to 2017 was carried out. [Result] The genetic distances among the nucleotide sequences of *P* gene of 37 strains was 0–0.009 2, and the variation sites were distributed in 47 sites. The genetic distances among the amino acid sequences of *P* gene of these strains ranged from 0–0.007 9, and the variation sites were distributed in 26 sites. Sequence comparison with 15 representative strains showed that nucleotide sequence mutations occurred at 10 sites of *P* gene of 37 PPRV epidemic strains in China since 2013, and 3 of them led to the change of amino acid sequence. Phylogenetic analysis of *P* gene using maximum likelihood method revealed that all the 37 PPRV strains prevalent in China from 2013 to 2017 could be grouped into an independent clade in lineage IV, different from the strain introduced into Tibet in 2007. [Conclusion] From 2013 to 2017, the *P* gene mutation of peste des petits ruminants virus in China was relatively large. With the increase of epidemic time, the mutation sites of *P* gene increased, but the mutation sites of different strains were different, showing a relatively random

收稿日期: 2019-12-10; 修回日期: 2020-08-08

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目 (2017YF0501800); 农业农村部动物疫情监测与防治项目 (08-52)

作者简介: 盛琰翔, 从事小反刍兽疫病毒分子溯源研究。E-mail: 873959343@qq.com。通信作者: 包静月, 研究员, 从事外来动物疫病病原分子溯源研究。E-mail: baojingyue88@163.com

mutation. [Ch, 3 fig. 4 tab. 12 ref.]

Key words: peste des petits ruminants virus; *P* gene; sequence mutation; genetic evolution

小反刍兽疫 (peste des petits ruminants, PPR) 是由小反刍兽疫病毒 (peste des petits ruminants virus, PPRV) 引起的一种急性病毒性传染病, 主要感染山羊 *Capra hircus*、绵羊 *Ovis aries* 以及其他野生小反刍兽, 以发热, 眼、鼻分泌物增多, 胃炎、腹泻和肺炎为特征。该病主要流行于亚洲和非洲, 2007 年中国在西藏阿里地区首次发现该病, 2010 年 8 月在阿里地区日土县再次发生疫情^[1-2]。2013 年末, 该病传入中国新疆地区, 并迅速传播至 22 个省份, 对中国养羊业造成严重危害^[3-4]。PPRV 属于副黏病毒科 Paramyxoviridae 麻疹病毒属 *Morbovirus*; 基因组为单股负链 RNA, 长度为 15 948 nt 或者 15 954 nt; 基因组 3'末端为前导序列 (leader), 5'末端为尾随序列 (trailer); 6 个基因排列顺序为 3'-*N-P-M-F-H-L*-5', 依次编码 6 个结构蛋白: 核衣壳蛋白 (N)、磷蛋白 (P)、基质蛋白 (M)、融合蛋白 (F)、血凝蛋白 (H) 和大蛋白 (L); *P* 基因还编码 2 个非结构蛋白 C 和 V。根据 *F* 基因或 *N* 基因部分核苷酸序列差异可将 PPRV 毒株分为 4 个基因系^[5-6], 亚洲国家流行的毒株属于基因 IV 系^[1]。小反刍兽疫病毒在流行过程中, 基因组发生点突变, 核苷酸变异速率大约为 9×10^{-4} 位点 $\cdot a^{-1}$ ^[7-8]。对中国 2013 年 11 月至 2014 年 6 月间 25 个毒株的基因组序列的比对和分析发现: *P* 基因变异最大, 非同义突变率最高^[8]。随着全面免疫的实施, 受免疫选择压的作用, 病毒各基因尤其是 *P* 基因的变异率及非同义突变率发生变化, 有必要进一步研究。PPRV *P* 基因核苷酸长度为 1 530 nt, 编码 509 个氨基酸, 编码的 P 蛋白分子量约 54.9 kD。P 蛋白在病毒 RNA 的转录和复制过程中发挥作用, 也能单独与 N 蛋白-RNA 模板复合物结合激活转录, 同时与 L 蛋白相结合形成依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶, 并与 N 蛋白-RNA 模板结合形成核糖核蛋白复合体, 进行病毒 RNA 的转录和复制^[9]。本研究对 2013 年以来中国 PPRV 流行毒株 *P* 基因进行序列测定和分析, 探讨病毒流行过程中 *P* 基因的序列变异情况。

1 材料与方法

1.1 病毒来源

2014—2017 年, 采集到 9 个省 12 个疫点的 PPRV 阳性组织样品 12 份, 由中国动物卫生与流行病学中心保存并提供, 具体样品信息见表 1。

表 1 2014—2017 年中国 12 株 PPRV 毒株信息

Table 1 Details of the 12 PPRV strains collected in China during 2014–2017

毒株编号	采样时间(年-月-日)	来源省份	毒株编号	采样时间(年-月-日)	来源省份
JL472014	2014-04-06	吉林	JS142016	2016-01-20	江苏
JX62014	2014-07-21	江西	GX22016	2016-08-22	广西
ZJ82014	2014-10-11	浙江	HN182016	2016-10-16	湖南
JX172015	2015-03-30	江西	XJ302017	2017-02-12	新疆
AH162015	2015-04-09	安徽	HN02017	2017-03-05	湖南
GZ112015	2015-09-02	贵州	GZ252017	2017-09-21	贵州

1.2 病毒 RNA 提取

取肠系淋巴结组织 100 mg, 用组织匀浆仪匀浆后, 根据 High Pure Viral RNA Kit (Roche) 的操作说明提取病毒 RNA, -80°C 保存备用。

1.3 反转录-聚合酶链式反应 (RT-PCR)

采用 Prime ScriptTM One Step RT-PCR Kit (TaKaRa) 扩增 PPRV *P* 基因。反应体系共 50 μL , 包括 2×1 Step Buffer 25 μL , Primerscript 1 step Enzyme Mix 2 μL , 上、下游引物各 2 μL , 病毒 RNA 5 μL 。RT-PCR 反应条件为: 50°C 逆转录 30 min, 94°C 2 min, 进行 *Taq* 酶激活; 40 个循环的聚合酶链式反应 (PCR) (94°C 1 min, 68°C 1 min, 72°C 4 min); 72°C 7 min 再延伸。对 PCR 产物进行切胶回收。

1.4 序列测定和进化树绘制

纯化后的 PCR 产物送青岛华大公司测序, 获得 12 个毒株的 *P* 基因序列; 从 GenBank 中下载 2013–2014 年中国 25 个 PPRV 流行毒株的基因组序列^[8](表 2), 截取 *P* 基因序列后进行核苷酸和氨基酸序列比对。从 GenBank 中下载中国及其他 10 个国家共 15 个 PPRV 代表毒株的基因组序列(表 3), 绘制系统进化树。用 MEGA 4.0 软件进行序列比对, 用最大似然法构建分子进化树, bootstrap 测试 1 000 次重复。用 Simplot 软件进行序列同源性分析。

表 2 2013–2014 年中国 PPRV 流行毒株信息

Table 2 Details of the PPRV strains collected in China during 2013–2014

病毒名称	采样时间(年-月-日)	来源省份	宿主	病毒名称	采样时间(年-月-日)	来源省份	宿主
XJYL2013	2013-11-30	新疆	山羊	JL2014	2014-04-01	吉林	绵羊
XJ22013	2013-12-20	新疆	山羊	JS2014	2014-04-02	江苏	山羊
XJ32013	2013-12-21	新疆	绵羊	HeN2014	2014-04-03	河南	山羊
XJ42013	2013-12-22	新疆	山羊	HB2014	2014-04-03	湖北	山羊
XJ52013	2013-12-29	新疆	山羊	AH2014	2014-04-03	安徽	山羊
GS2014	2014-01-22	甘肃	绵羊	SX2014	2014-04-05	山西	山羊
NX2014	2014-02-17	宁夏	绵羊	GX2014	2014-04-16	广西	山羊
LN2014	2014-03-17	辽宁	山羊	GZ2014	2014-04-21	贵州	山羊
CQ2014	2014-03-30	重庆	山羊	ZJ2014	2014-04-25	浙江	山羊
HLJ2014	2014-03-31	黑龙江	山羊	HN2014	2014-04-25	湖南	山羊
YN2014	2014-04-01	云南	山羊	GD2014	2014-05-15	广东	山羊
SaX2014	2014-04-01	陕西	山羊	SC2014	2014-06-10	四川	山羊
JX2014	2014-04-01	江西	山羊				

表 3 PPRV 参考毒株信息

Table 3 Details of the PPRV reference strains used in this study

毒株	分离年	来源地	宿主	GenBank号	毒株	分离年	来源地	宿主	GenBank号
Tibet/30/2007	2007	中国西藏	山羊	FJ905304	Ethiopia 2010	2010	埃塞俄比亚	山羊	KJ867541
Tibet/33/2007	2007	中国西藏	山羊	KX421388	Ghana NK1 2010	2010	加纳	山羊	KJ466104
Tibet/Bharal/2008	2008	中国西藏	山羊	JX217850	Oman 1983	1983	阿曼	山羊	KJ867544
Côte d' Ivoire 89	1989	科特迪瓦	山羊	EU267273	UAE 1986	1986	阿联酋	山羊	KJ867545
Nigeria 76/1	1976	尼日利亚	山羊	EU267274	India TN Gingee 2014	2014	印度	山羊	KR261605
Turkey 2000	2000	土耳其	山羊	NC-006383	Uganda 2012	2012	乌干达	山羊	KJ867543
CIV 01 P 2009	2009	科特迪瓦	山羊	KR781451	Morocco 2008	2008	摩洛哥	山羊	KC594074
Ethiopia 1994	1994	埃塞俄比亚	山羊	KJ867540					

2 结果与分析

2.1 *P* 基因核苷酸序列比较

2013–2017 年, 来自中国 21 个省份 37 个疫点的 37 株 PPRV 毒株 *P* 基因核苷酸序列间遗传距离为 0~0.009 2。其中, 2013 年 11 月至 2014 年 10 月间的 18 个毒株 *P* 基因序列完全一致。这些毒株分别来自新疆(XJYL2013、XJ22013、XJ32013、XJ42013、XJ52013)、甘肃(GS2014)、辽宁(LN2014)、重庆(CQ2014)、云南(YN2014)、江苏(JS2014)、湖北(HB2014)、河南(HeN2014)、山西(SX2014)、吉林(JL2014)、贵州(GZ2014)、湖南(HN2014)、四川(SC2014)、浙江(ZJ2014)等 14 个省份。毒株 XJ302017 与 GZ252017 间的基因核苷酸序列差异最大, 为 0.009 2, 共 14 个位点存在序列差异。

为考察毒株序列变异与流行时间的关系, 选取最早采集的 XJYL2013 毒株作为参照, 将其余 36 个毒株与其进行 *P* 基因核苷酸序列比对。结果发现: 36 个毒株分别在 0~8 个位点发生了突变。其中 2013 年 11 月至 2014 年 10 月间来自 14 省份的 17 个毒株与 XJYL2013 的 *P* 基因核苷酸序列完全一致。

2014 年 3 月至 2015 年 3 月黑龙江的 HLJ2014、江西的 JX2014、安徽的 AH2014、广西的 GX2014 和广东的 GD2014 等 5 个毒株在不同位点发生了 1 个变异。2014 年 2 月至 2016 年 8 月宁夏的 NX2014、陕西的 SX2014、吉林的 JL2014、江西的 JX2014 和 JX62014、浙江的 ZJ2014、广西的 GX62016 等 7 个毒株在 2 个位点发生了变异。2015 年 4 月安徽的 AH162015 和 2016 年 1 月的江苏 JS142016 等 2 个毒株在 3 个位点发生了变异。2015 年 9 月贵州的 GZ112015、2016 年 10 月湖南的 HN182016、2017 年 3 月湖南的 HN02017 等 3 个毒株在 4 个位点发生了变异。2017 年 9 月贵州的 GZ252017、2017 年 2 月新疆的 XJ302017 分别在 6 和 8 个位点发生了变异。37 个毒株之间的核苷酸变异位点分布于 P 基因的 47 个位点，其中 45 个突变位点仅存在于 1 个毒株中，2 个突变位点分别为 3 个毒株共有。上述结果表明 P 基因核苷酸序列突变位点数与毒株流行时间正相关，突变无地域相关性。利用 Simplot 软件对核苷酸序列发生变异的 19 株 PPRV 毒株与 XJYL2013 进行 P 基因核苷酸序列同源性比较分析(图 1)，结果显示：P 基因序列的 850~1 250 nt 间序列同源性较高，突变分布少，500~800 nt 区域变异较大。

P 基因的 47 个核苷酸变异位点中，有 26 个核苷酸变异导致了氨基酸序列的改变(表 4)：17 个变异发生于第 1 位密码子，其中的 16 个位点导致氨基酸改变；9 个变异位于第 2 位密码子，全部导致氨基酸改变；21 个变异位于第 3 位密码子，1 个位点导致氨基酸改变。

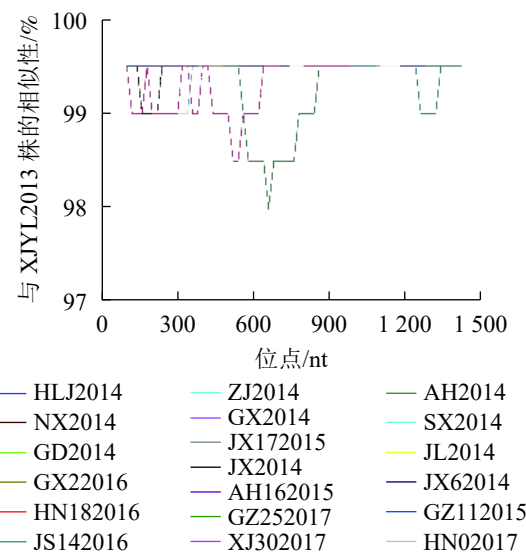


图 1 2013—2017 年中国 PPRV 毒株 P 基因核苷酸序列同源性 Simplot 分析

Figure 1 P gene nucleotide sequence similarity of China 2013–2017 PPRV strains using Simplot analysis

表 4 2013—2017 年中国 PPRV 毒株 P 基因核苷酸和氨基酸序列变异情况

Table 4 Nucleotide and amino acid diversity of China 2013–2017 PPRV strains				
变异位点		核苷酸/个	氨基酸/个	非同义突变率/%
中国2013–2017年流行毒株	第1位密码子	17	16	94.12
	第2位密码子	9	9	100.00
	第3位密码子	21	1	4.76
	合计	47	26	55.32
中国2013–2017年流行毒株与其他代表毒株	第1位密码子	2	1	50.00
	第2位密码子	2	2	100.00
	第3位密码子	6	0	0.00
	合计	10	3	30.00

2.2 P 基因氨基酸序列比较

2013–2017 年中国 37 个 PPRV 毒株 P 基因氨基酸序列之间的遗传距离为 0~0.007 9。P 基因编码的 509 个氨基酸位点中，25 个发生了突变，其中氨基端 (1~250 位氨基酸)16 个，羧基端 (251~509 位氨基酸) 9 个(图 2)。第 21、83、505 位氨基酸位点分别有 2 个、3 个和 3 个毒株发生了变异。在第 21 位氨基酸位点，XJ302017 第 1 位密码子发生突变，导致丙氨酸 (A) 突变为苏氨酸 (T)，HN182016 第 2 位密码子发生突变，导致丙氨酸 (A) 突变至缬氨酸 (V)。第 83 位氨基酸位点，3 个毒株在同一个核苷酸位点发生不同突变，JL2014 和 JX2014 导致苯丙氨酸 (F) 突变至亮氨酸 (L)，SaX2014 苯丙氨酸 (F) 突变为缬氨酸 (V)。第 505 位氨基酸位点，3 个毒株在同一个核苷酸位点发生相同突变，JX62014、HN182016 和 GZ112015 均发生了亮氨酸 (L) 至缬氨酸 (V) 的突变。

2.3 P 基因序列差异分析

比较 2013–2017 年中国 37 株 PPRV 流行毒株与之前 15 株代表毒株的 *P* 基因核苷酸序列, 发现遗传距离为 0.025 4~0.139 7, 其中与 2007–2008 年中国西藏地区 3 个毒株 *P* 基因核苷酸序列遗传距离为 0.025 4~0.031 5, 而西藏地区 3 个流行毒株之间的 *P* 基因核苷酸序列遗传距离为 0~0.001 3。与 15 株代表毒株的氨基酸序列比对发现: 2013–2017 年中国 37 株 PPRV 流行毒株 *P* 基因的 10 个位点发生了核苷酸序列突变, 其中 3 个导致了氨基酸序列的改变 (表 4); 2 个变异发生于第 1 位密码子, 其中 1 个导致氨基酸改变; 2 个变异位于第 2 位密码子, 全部导致氨基酸改变; 6 个变异位于第 3 位密码子, 未导致氨基

XJYL2013	MAEEQAYHVNKGLKSLKASPPDLSTIRDTIESWREGLSPSGRATPNPDTSEGDHQNINQSCSPAIGPNKYLSPEDNLGFREITGNDCAGLGGVQREGNSQVQRHYHYSHGEEIEGLEADSLVYQADPPVAVNFVNGEDGSDSDSDVSGPDGPDGRTLYDRGS	[170]
XJ2013		[170]
XJ32013		[170]
XJ42013		[170]
XJ52013		[170]
GS2014		[170]
NX2014		[170]
LN2014		[170]
CQ2014		[170]
HLJ2014		[170]
YN2014		[170]
JL2014		[170]
JX2014		[170]
SaX2014		[170]
JS2014		[170]
HB2014		[170]
HeN2014		[170]
AH2014		[170]
SX2014		[170]
JL472014		[170]
GX2014		[170]
GZ2014		[170]
HN2014		[170]
ZJ2014		[170]
GD2014		[170]
SC2014		[170]
JX62014		[170]
ZJ82014		[170]
JX172015		[170]
AH162015		[170]
GZ112015		[170]
JS142016		[170]
GX22016		[170]
HN182016		[170]
XJ302017		[170]
HN02017		[170]
GZ252017		[170]
XJYL2013	VAGNGIARSTVDEKLEGADIQEVLNSQKGGGRFQGGKTLRVPEIPDVKHSPSAQSIKKGTGNSVSSGTVIECLISIGATQTVPESSWESSEQNASVGSVLSARSASAKTIQGSTQESGTIASLTQPKENDSEYEDDLTFTEIQDIRASIAKIHDDNKTILSKLDSIL	[340]
XJ2013		[340]
XJ32013		[340]
XJ42013		[340]
XJ52013		[340]
GS2014		[340]
NX2014		[340]
LN2014		[340]
CQ2014		[340]
HLJ2014		[340]
YN2014		[340]
JL2014		[340]
JX2014		[340]
SaX2014		[340]
JS2014		[340]
HB2014		[340]
HeN2014		[340]
AH2014		[340]
SX2014		[340]
JL472014		[340]
GX2014		[340]
GZ2014		[340]
HN2014		[340]
ZJ2014		[340]
GD2014		[340]
SC2014		[340]
JX62014		[340]
ZJ82014		[340]
JX172015		[340]
AH162015		[340]
GZ112015		[340]
JS142016		[340]
GX22016		[340]
HN182016		[340]
XJ302017		[340]
HN02017		[340]
GZ252017		[340]
XJYL2013	LLAGEVDTIKKQISKQNSISTIEGLHSSIMIAIPGFGKDIKDPTESEVLNPDLRPIISRDSGRALAEVLKPPAVDRSQIGTKANSSKGLLKDILQKPKVQKQASSAIGFVPSDHESSRNVRISIKKSKLNIIDHDKYLLDLNDVKGSKDLKEFHMTAILAKIP	[509]
XJ2013		[509]
XJ32013		[509]
XJ42013		[509]
XJ52013		[509]
GS2014		[509]
NX2014		[509]
LN2014		[509]
CQ2014		[509]
HLJ2014		[509]
YN2014		[509]
JL2014		[509]
JX2014		[509]
SaX2014		[509]
JS2014		[509]
HB2014		[509]
HeN2014		[509]
AH2014		[509]
SX2014		[509]
JL472014		[509]
GX2014		[509]
GZ2014		[509]
HN2014		[509]
ZJ2014		[509]
GD2014		[509]
SC2014		[509]
JX62014		[509]
ZJ82014		[509]
JX172015		[509]
AH162015		[509]
GZ112015		[509]
JS142016		[509]
GX22016		[509]
HN182016		[509]
XJ302017		[509]
HN02017		[509]
GZ252017		[509]

图 2 2013–2017 年中国 37 个 PPRV 毒株 P 蛋白氨基酸序列比对

Figure 2 P protein amino acid sequence alignment of China 2013–2017 PPRV strains

酸改变。

2013—2017 年, 中国 37 株 PPRV 流行毒株与 15 株代表毒株 *P* 基因氨基酸序列的 3 个变异位点均位于 175~243 位氨基酸, 全部处在 *P* 蛋白的氨基端, 其中 175 和 176 等 2 个相邻位点都为变异位点。

2.4 系统发育树构建

基于 *P* 基因核苷酸序列构建系统发育树, 发现 2013—2017 年中国 37 株 PPRV 流行毒株构成基因 IV 系中 1 个独立的进化小分支, 而中国西藏地区流行毒株与印度 2014 年毒株形成 1 个小分支 (图 3)。

3 讨论

本研究对 2013—2017 年中国 21 个省份 37 个疫点的 PPRV 流行毒株 *P* 基因进行序列分析, 探明了 PPRV 流行过程中 *P* 基因序列变异情况, 为 PPR 控制和消灭策略的制定提供了数据支持。

2013—2017 年中国 37 个 PPRV 流行毒株的 *P* 基因变异较大。PPRV 在中国流行的 4 a 间, *P* 基因 47 个核苷酸位点发生了突变, 其中 26 个导致了氨基酸序列的改变, 非同义突变率为 55.3%。研究^[8]发现: 2013 年 11 月至 2014 年 6 月, 25 个毒株 *P* 基因在 12 个位点发生突变, 其中 10 个导致了氨基酸序列的改变, 非同义突变率为 83.3%, 高于 *F*、*H*、*L*、*N* 和 *M* 基因。已有研究^[10]表明: 2013—2017 年中国 37 个 PPRV 流行毒株 *H* 基因的非同义突变率为 58.5%, 高于本研究中的 *P* 基因。这一结果提示: 实施全面免疫后, PPRV 在中国的流行受到了免疫选择压的作用, *P* 基因的非同义突变率降低。

2013—2017 年中国流行的 PPRV 毒株 *P* 蛋白氨基酸序列在 10 个位点发生了特征性的核苷酸突变, 其中第 21、83 和 505 位 3 个导致了氨基酸序列改变。已有研究^[9]表明: *P* 蛋白对病毒 RNA 合成至关重要, 可以分别与 *N* 蛋白、*L* 蛋白及核衣壳结合形成不同的复合体发挥作用。*P* 蛋白与 *L* 蛋白结合形成依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶进行病毒基因组 RNA 的转录, *L* 蛋白发挥 RNA 聚合酶 (RdRp) 的作用, 而 *P* 蛋白的作用是引导 *P*-*L* 复合体与核衣壳结合。一旦获得足够多的病毒蛋白, *N* 蛋白就与病毒 RNA 结合, 在这个过程中, *P* 蛋白发挥蛋白伴侣的作用, 引导 *N* 蛋白以游离形式与 RNA 结合。通常认为^[9]: *N*-*P* 复合体调节从转录到复制的转变。*P*-*L* 复合体负责病毒基因组的复制, 也就是说, 先合成全长正链反向基因组 RNA, 然后以其为模板合成负链基因组 RNA, 用以组装病毒粒子^[11]。*P* 蛋白通过与游离的 *N* 蛋白结合, 从而阻止 *N* 蛋白发生非特异性的自我组装, 形成的 *N*0-*P* 复合物在复制过程中对新合成的 RNA 进行加帽化。副粘病毒 *P* 蛋白 C 末端的 X-domain 是主要的 *N* 蛋白结合位点^[9]。PPRV 第 429~509 位氨基酸区域高度保守, 推测可能为 *N* 蛋白结合位点^[12]。*P* 蛋白与其他蛋白相互作用的功能域主要分布于羧基端, 因此, 在病毒演化过程中, *P* 蛋白的羧基端较为保守。本研究发现: 2013—2017 年

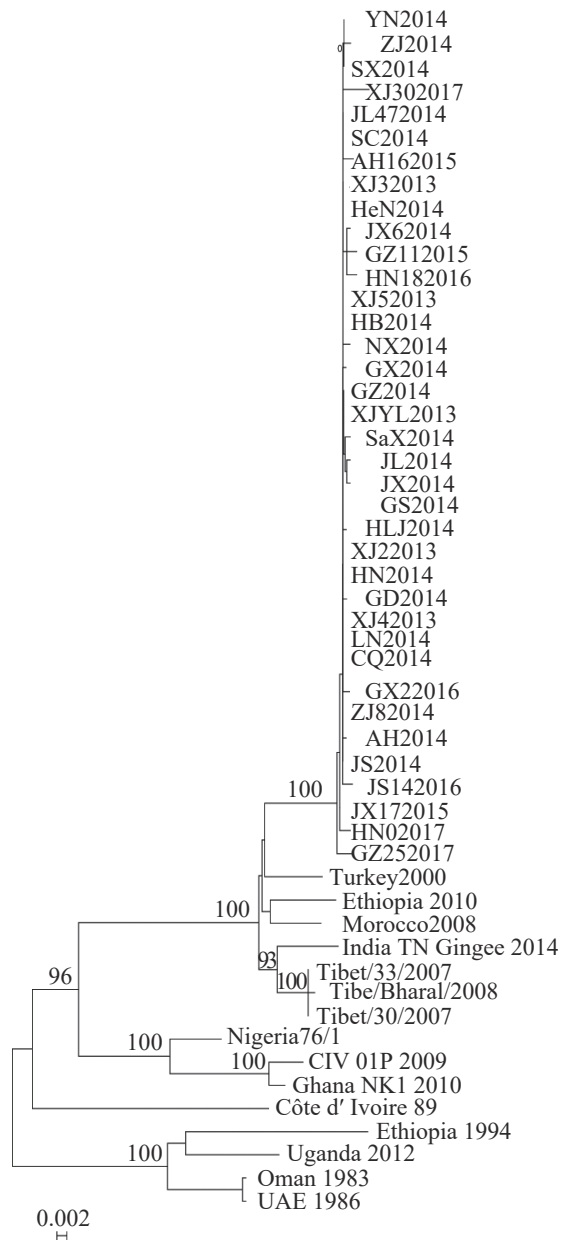


图 3 52 个 PPRV 毒株 *P* 基因分子进化树

Figure 3 Phylogenetic relationships of 52 PPRV genome sequences

中国流行的 PPRV 毒株 P 蛋白氨基酸序列在 505 位发生了高频突变。该突变对其结构及功能的影响还需要进一步的研究。

在中国流行过程中, PPRV 毒株 P 基因突变位点的数量与毒株流行时间呈正相关。本研究发现: 相对于最早分离的 XJYL2013, 2013–2014 年流行的毒株 P 基因突变位点为 0~2 个, 而 2017 年流行毒株 P 基因突变位点为 4~8 个, 随着毒株流行时间增长, P 基因突变位点增多。已有研究^[8]表明: PPRV 毒株基因组在流行过程中的核苷酸突变进化速率为 9.54×10^{-4} 位点 $\cdot$ a⁻¹。在流行过程中 PPRV 毒株 P 基因持续发生突变, 但不同毒株突变位点不同, 表现为相对随机的突变。随着流行时间的增长, 在稳定免疫选择压的作用下, 是否会出现变异位点的稳定和定植, 还有待进一步的研究。持续实时监测 PPRV 各基因分子变异, 对于该病的防控具有重要意义。

4 参考文献

- [1] WANG Zhiliang, BAO Jingyue, WU Xiaodong, *et al.* Peste des petits ruminants virus in Tibet, China [J]. *Emerging Infect Dis*, 2009, **15**(2): 299 – 301.
- [2] BAO Jingyue, WANG Zhiliang, LI Lin, *et al.* Detection and genetic characterization of peste des petits ruminants virus in free-living bharals (*Pseudois nayaur*) in Tibet, China [J]. *Res Vet Sci*, 2011, **90**(2): 238 – 240.
- [3] WU X, LI Linde, LI Jinming, *et al.* Peste des petits ruminants viruses re-emerging in China, 2013–2014 [J]. *Transboundary Emerging Dis*, 2016, **63**(5): e441 – 446. doi: 10.1111/tbed.12308.
- [4] 王清华, 刘春菊, 吴晓东, 等. 新疆小反刍兽疫疫情诊断[J]. *中国动物检疫*, 2014, **31**(1): 72 – 75.
WANG Qinghua, LIU Chunju, WU Xiaodong, *et al.* Diagnosis of peste des petits ruminants in goats in Xinjiang, China [J]. *China Anim Health Insp*, 2014, **31**(1): 72 – 75.
- [5] KWIAŁTEK O, MINET C, GRILLET C, *et al.* Peste des petits ruminants (PPR) outbreak in Tajikistan [J]. *J Comp Pathol*, 2007, **136**(2/3): 111 – 119.
- [6] SHAILA M S, SHAMAKI D, FORSYTH M A, *et al.* Geographic distribution and epidemiology of peste des petits ruminants viruses [J]. *Virus Res*, 1996, **43**(2): 149 – 153.
- [7] MUNIRAJU M, MUNIR M, PARTHIBAN A B R, *et al.* Molecular evolution of peste des petits ruminants virus [J]. *Emerging Infect Dis*, 2014, **20**(12): 2023 – 2033.
- [8] BAO Jingyue, WANG Qinghua, LI Lin, *et al.* Evolutionary dynamics of recent peste des petits ruminants virus epidemic in China during 2013–2014 [J]. *Virology*, 2017, **510**: 156 – 164.
- [9] SHAJI D, SHAILA M S. Domains of rinderpest virus phosphoprotein involved in interaction with itself and the nucleocapsid protein [J]. *Virology*, 1999, **258**(2): 415 – 424.
- [10] 刘春菊, 盛琰翔, 王清华, 等. 2013–2017 年我国小反刍兽疫病毒 H 基因分子演化特征[J]. *中国动物检疫*, 2019, **36**(9): 19 – 24.
LIU Chunju, SHENG Yanxiang, WANG Qinghua, *et al.* Molecular evolution characterization of H gene of peste des petits ruminants virus in China during 2013 to 2017 [J]. *China Anim Health Insp*, 2019, **36**(9): 19 – 24.
- [11] KARLIN D, FERRON F, CANARD B, *et al.* Structural disorder and modular organization in Paramyxovirinae N and P [J]. *J Gen Virol*, 2003, **84**(12): 3239 – 3252.
- [12] 包静月, 赵文姬, 李林, 等. 中国西藏小反刍兽疫病毒 China/Tib/Gei/07-30 磷蛋白基因的分子特征及其编码蛋白特性分析[J]. *病毒学报*, 2011, **27**(1): 26 – 33.
BAO Jingyue, ZHAO Wenji, LI Lin, *et al.* Sequence analysis of the phosphoprotein gene of peste des petits ruminants virus of Chinese origin [J]. *Chin J Virol*, 2011, **27**(1): 26 – 33.