

刘妮妮,张 靓,伍冰倩,等. 新型免疫分子 TRIM39 及其缺失体参与抗禽白血病病毒作用[J]. 江苏农业科学,2019,47(16):63-66.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.16.013

新型免疫分子 TRIM39 及其缺失体参与 抗禽白血病病毒作用

刘妮妮,张 靓,伍冰倩,周泽建,赵 珩

(中央民族大学生命与环境科学学院,北京 100081)

摘要:禽白血病病毒(avian leukemia virus,简称 ALV)引发的禽白血病致死率高达 10%~20%,严重阻碍养殖业发展。通过构建 TRIM39(tripartite motif 39)重组原核表达载体,分析其在抗禽白血病病毒中的作用,利用酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测鸡白血病病毒抗原,获得细胞内外病毒浓度变化,发现 *TRIM39*、*TRIM39*ΔRING(RING 结构域缺失体)、*TRIM39*ΔB30.2(B-box 结构域缺失体)对禽白血病病毒均有一定的抑制作用,并且缺失体的抑制效果明显更弱。研究结果提示,*TRIM39* 参与抗禽白血病病毒的作用,且 RING 结构域和 B-box 结构域起着重要的作用。

关键词:TRIM39;TRIM39 缺失体;新型免疫分子;禽白血病病毒

中图分类号:S852.65⁺7 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)16-0063-04

三重基序(TRIM)蛋白几乎存在于所有多细胞动物中,是一个古老且数量庞大的蛋白家族^[1]。随着脊椎动物的进化,TRIM 蛋白种类显著增加,迄今为止仅在人类基因组中就已发现近 70 种^[2]。TRIM 蛋白家族成员都拥有保守的 RBCC 结构,从 N 端至 C 端依次为 RING 结构域、1 或 2 个 B-box 结构域及 1 个卷曲螺旋结构域(coil-coiled domain,简称 CCD)^[3]。这些结构域都具备各自的功能,RING 结构域是由 10~20 个氨基酸组成的锌结合序列,研究发现,有些 TRIM 蛋白能够依赖 RING 结构域发挥 E3 连接酶活性,如 TRIM21^[4]、TRIM25^[5]、TRIM11^[6]等;B-box 结构域同样是锌结合序列,目前对其功能研究还不够清楚,但其被证实对人类免疫缺陷病毒(HIV)具有抗性,能够影响 TRIM5α 对病毒的识别^[7]以及 TRIM15 限制病毒复制的能力^[8];卷曲螺旋结构域几乎总是跟随着 B-box 结构域,它主要会影响 TRIM 蛋白与其他蛋白相互作用的能力^[9]。另外,TRIM 蛋白 C 端结构域具有多样性且在不同蛋白之间的差异较大,通常由 1 个或多个类型不固定的结构域组成,根据 C 端结构域的不同,TRIM 蛋白还被分为 11 类亚家族^[10]。TRIM 蛋白家族具有非常广泛的功能,参与了一系列重要的生命活动,例如转录调控、先天性免疫调控、细胞增殖与分化、细胞自噬与细胞凋亡、细胞周期调控等^[11],在生物机体中发挥着越来越重要的作用。

大量研究证实,TRIM 蛋白家族成员具有抗病毒活性,它们不仅能够直接作用于病毒蛋白进而限制病毒的复制,还能参与调节免疫信号通路,诱导细胞因子的产生^[12]。Stremlau 等在非洲绿猴和猕猴中首次发现 TRIM5α 能够限制 I 型艾滋

病病毒(human immunodeficiency virus,简称 HIV-1)的感染^[13];Hattmann 等报道 TRIM21 能够与脑心肌炎病毒(encephalomyocarditis virus,简称 EMCV)蛋白酶 3C、流感病毒(influenza virus,简称 IV)核蛋白(NP)相互作用,诱导蛋白发生泛素化降解以抑制病毒的复制^[14];Bonilla 等发现,脑膜炎病毒(lymphocytic choriomeningitis virus,简称 LCMV)致死 *TRIM19*/*PML* 缺失的小鼠的概率更高,说明 TRIM19 也具有抵病毒作用^[15];另外,*TRIM5*/6/11/14/25/26/31/41 可以限制乙型肝炎病毒(hepatitis B virus,简称 HBV)启动子增强剂的转录活性^[16]。还有一些研究证明,TRIM 蛋白能够使靶蛋白发生泛素化降解或蛋白酶体降解^[17-19],从而负调控免疫信号通路,如 NF-κB、TLRs、RIG-I 等^[20-21]。鸡马立克氏病与 MHC-B 亚区有关,通过对 MHC-B 亚区进行分析发现了许多 *TRIM* 基因,而且这些基因表现出极高的单核苷酸多态性(SNP),说明 *TRIM* 基因可能具有抗马立克氏病的作用,但现在还没有足够的证据^[22]。

禽白血病病毒(avian leukemia virus,简称 ALV)属于反转录病毒科(Retroviridae),禽 C 型反转录病毒属,病毒粒子的直径为 80~100 nm,由外部的囊膜和内部电子致密的核心构成^[23],是鸡群中普遍存在并常诱发肿瘤的病毒之一,其引发的禽白血病被我国政府列为二类动物疫病。根据病毒宿主范围、囊膜特性以及交叉中和反应的不同,可将 ALV 分为 A~J 10 个亚群^[24],其中 A、B、C、D、E、J 6 个亚群能够感染鸡群,在我国 A、B、J 亚群的感染现象较为普遍,它们可诱发鸡群淋巴瘤、纤维肉瘤、髓细胞瘤、成红细胞瘤、骨硬化、血管瘤等不同类型的肿瘤^[25],还具有破坏免疫器官、组织和细胞的能力,使机体的免疫应答功能暂时性或永久性丧失,导致鸡的死亡率显著提高;另外,ALV 的感染还会使鸡群的生长速度变缓,体质量增加变慢,产蛋率和蛋品质下降,而且由于禽白血病病毒具有横向及纵向传播特点^[26-27],加上家禽养殖高度集约化,使该病毒引发的禽白血病很难控制,目前尚未找到有效的防控方法,这对我国养殖业造成了巨大的经济损失。本研

收稿日期:2018-04-21

基金项目:中央民族大学一流学科建设项目(编号:YDZXXK201618)。

作者简介:刘妮妮(1992—),女,湖北汉川人,硕士,主要从事免疫学研究。E-mail:747497765@qq.com。

通信作者:赵 珩,博士,教授,主要从事免疫学研究。E-mail:hengzhao2000@sina.com。

究以鸡 *TRIM39* 为研究对象,构建 *TRIM39* 及其缺失体的真核表达载体,以研究 *TRIM39* 抗禽白血病毒的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物及病毒 鸡脾组织(英国剑桥大学 Kaufma 教授提供);禽白血病毒(ALV)(中国农业科学院生物技术研究所张志芳研究员提供)。试验时间为 2016 年 8 月至 2018 年 3 月;试验地点为中央民族大学生命与环境科学学院。

1.1.2 表达载体及菌株 pDsRed2 - C1 真核表达载体为笔者所在实验室保存;载体、大肠杆菌(*Escherichia coli*)Top10 感受态细胞购自北京全式金生物技术有限公司。

1.1.3 酶和试剂 Trizol、Oligo - dT18、三氯甲烷、异丙醇、无水乙醇、RNase 抑制剂、质粒小提试剂盒、琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒、96 孔酶标板、胎牛血清素、胰酶细胞消化液、D - Hanks 平衡盐溶液、禽白血病毒检测试剂盒,均购自天根生化科技(北京)有限公司。EasyTaq DNA 聚合酶、DNA Marker、Pfu DNA 聚合酶、限制性内切酶、T4 DNA 连接酶,均购自 NEB 公司。PCR 仪(Bio - Rad 公司)、台式高速冷冻离心机(Eppendorf 公司)、冷冻高速离心机(美国贝克曼公司)、倒置显微镜(日本 Olympus 公司)、酶标仪(美国 Thermo 公司)、生化培养箱(上海一恒科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 引物设计 根据 GenBank 中鸡 *TRIM39* 基因序列号(NM_001006196.3),*TRIM39* 结构域的生物信息学分析,利用 DNAMAN 对 *TRIM39* 进行比对,确定 *TRIM39* 缺 RING 结构域设计位置。利用 Primer 5.0 软件,依据 pEGFP - N1 真核表达载体及目的基因的结构特点,在引物上游加入 *Sal* I 酶切位点,下游加入 *Bam*H I 酶切位点。*TRIM39* 完整序列引物为 P39F:5' - ACGCGTCGACATGGATGAAGATAACCCAG - 3' 和 P39R:5' - CGGGATCCTCA - CGGGGACAGCGTGAAGCG - 3'; *TRIM39*ΔRING 序列引物为 P39ΔRINGF:5' - ACGCGTCGACATGGATGAAGATAACCCAG - 3' 和 P39ΔRINGR:5' - CGGGATTCTCACGGGACAGCGTGAAGCG - 3',所有引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.2.2 目的基因的获得 利用改良 Trizol 法提取鸡脾脏中的总 RNA。逆转录获得 cDNA 后,分别以 P39F2/P39R2、P39ΔRINGF/P39ΔRINGR、P39ΔB30.2F/P39ΔB30.2R 为引物进行 *TRIM39* 完整序列、*TRIM39*ΔRING 序列扩增,PCR 反应体系为 50 μL,包括 10 × buffer(缓冲液)5 μL、上下游引物(10 μmol/L)各 2.5 μL、dNTPs(2.5 mmol/L)1.5 μL、Pfu DNA 聚合酶(2 U/μL)1 μL、cDNA 1 μL、ddH₂O 36.5 μL。反应体系:94 ℃ 预变性 3 min;94 ℃ 变性 30 s,60 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 3 min,共 34 个循环;72 ℃ 延伸 10 min,4 ℃ 保存。胶回收 *TRIM39* 基因片段,与 pEASY - Blunt Simple 载体连接,转化大肠杆菌(*Escherichia coli*)Top10 感受态细胞,挑取单克隆进行菌落 PCR 检测,筛选阳性克隆送至北京睿博兴科生物技术有限公司测序。

1.2.3 重组表达载体的构建与鉴定 以 *Sal* I 和 *Bam*H I 双酶切含有 *TRIM39* 的 pEASY - Blunt Simple 载体和

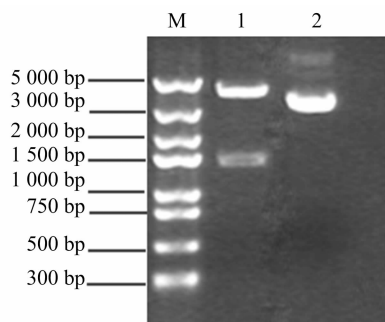
pEGFP - N1 真核表达载体,分离胶纯化回收目的片段。连接 2 个目的片段,转化 *E. coli* Top10 感受态细胞,挑取单克隆进行菌落 PCR 检测,筛选阳性克隆,提取质粒并用 *Bam*H I 和 *Sal* I 进行双酶切验证。*TRIM39* 完整序列、*TRIM39*ΔRING 序列以及 pDsRed2 - C1 真核表达载体的连接以及鉴定的具体操作方法同上。

1.2.4 鸡白血病毒抗原(ALV - AG)酶联免疫吸附分析(ELISA) 用无菌管吸取细胞培养液,3 000 r/min 离心 2 min,收集上清用以检测细胞外病毒;用 D - Hanks 平衡盐溶液洗掉残余的细胞培养液,用胰酶消化液将细胞悬浮起来,收集于离心管中,12 000 r/min 离心 2 min 使细胞沉淀,弃去胰酶消化液,加入磷酸缓冲盐溶液(PBS)重悬细胞,通过反复冻融使细胞破裂释放出细胞内成分,3 000 r/min 离心 2 min,收集上清用以检测细胞内病毒。采用禽白血病毒检测试剂盒,ELISA 法测定 ALV - AG,检测细胞内外病毒浓度,具体步骤严格按照惠特比科技发展(北京)有限公司提供的说明书进行。

2 结果与分析

2.1 *TRIM39*、*TRIM39*ΔRING、*TRIM39*ΔB30.2 片段的克隆

PCR 扩增产物经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定,由图 1 可知,获得的 *TRIM39* 完整序列长度约为 1 410 bp, *TRIM39*ΔRING 序列长度约为 1 241 bp, *TRIM39*ΔB30.2 序列长度约为 894 bp,与预期基因大小相符。筛选阳性克隆送至北京睿博兴科生物技术有限公司测序,测序结果正确,表明 pEASY - Blunt Simple - *TRIM39* 克隆载体构建成功。



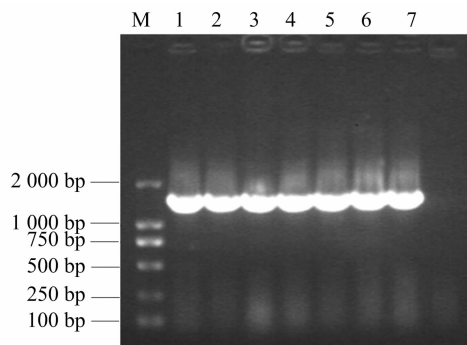
M—marker; 1—pEASY-Blunt Simple-*TRIM39* 双酶切; 2—pEASY-Blunt Simple-*TRIM39* 质粒

图1 克隆载体 pEASY-Blunt Simple-*TRIM39* 经 *Bam*H I 和 *Sal*I 双酶切鉴定结果

2.2 重组表达载体 pDsRed2 - C1 - *TRIM39*、pDsRed2 - C1 - *TRIM39*ΔRING、pDsRed2 - C1 - *TRIM39*ΔB30.2 的鉴定

使用菌落 PCR 法鉴定阳性重组子,由图 2 可知,菌落 PCR 获得条带大小与 PCR 扩增获得的条带大小一致,说明 *TRIM39* 及其突变体已经构建到 pDsRed2 - C1 真核表达载体上并成功转化大肠杆菌。

由图 3 可知, *TRIM39* 完整序列、*TRIM39* 缺 RING 突变体、*TRIM39* 缺 B30.2 突变体构建到 pDsRed2 - C1 的菌落 PCR 鉴定结果,与预期一致。图 3 的左图中 *TRIM39* 缺 RING 突变体条带明显比 *TRIM39* 缺 RING 突变体小,说明 *TRIM39* 缺 RING 突变体构建成功;图 3 的右图中 2 号和 7 号条带序列较 *TRIM39* 完整序列小,说明突变体构建成功。



1~7—以 7 个单菌落为模板的 PCR

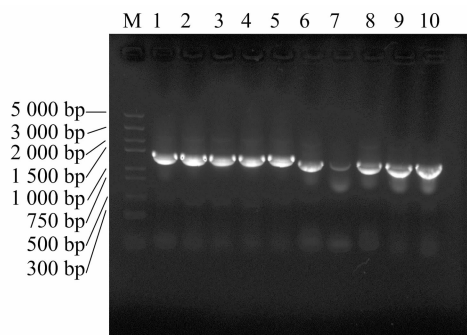
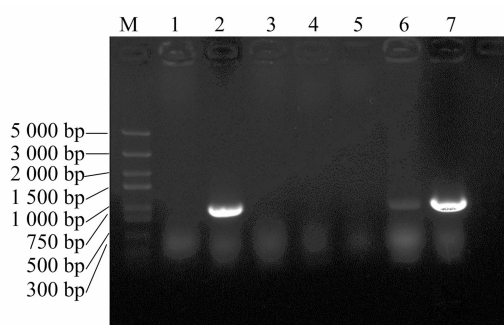
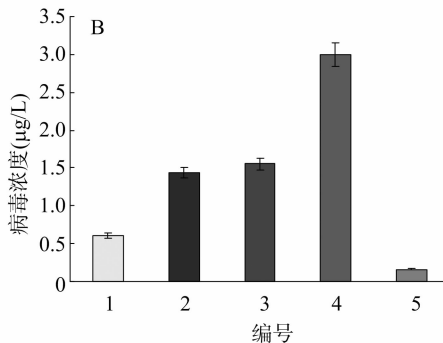
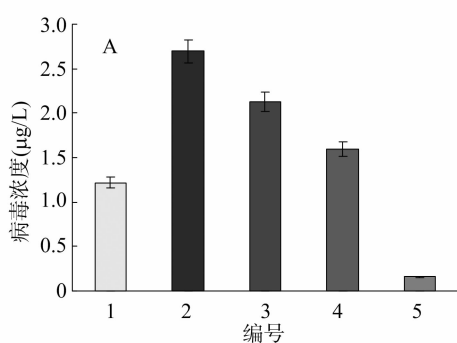
图2 表达载体 pET-30a-*TRIM39* 的菌落 PCR 鉴定结果

2.3 禽病毒蛋白 (ALV) 滴度测定

细胞攻毒后 7 d 进行禽白血病病毒滴度测定,以标准物的浓度为纵坐标、以 3 次平行测定的 $D_{540\text{ nm}}$ 均值为横坐标作图,所得标准曲线中 R^2 达到 0.988 5 (补充材料),禽病毒蛋白浓度曲线拟合曲线符合相关性检验 ($0 < R^2 < 1$),说明病毒

浓度与 $D_{540\text{ nm}}$ 存在明显的线性正相关。

由图 4-A 可知,pDsRed2-C1-*TRIM39* 完整序列转鸡胚成纤维细胞胞外禽白血病病毒浓度高于对照组但相差不大;pDsRed2-C1-*TRIM39* 缺 RING 突变体转鸡胚成纤维细胞禽白血病病毒浓度与 pDsRed2-C1-*TRIM39* 缺 B30.2 突变体转鸡胚成纤维细胞相差明显且高于 pDsRed2-C1-*TRIM39* 完整序列转鸡胚成纤维细胞;鸡胚成纤维细胞直接攻禽白血病病毒浓度较高,说明 *TRIM39* 具有一定的降低禽白血病病毒胞外分泌的作用。图 4-B 可知,pDsRed2-C1-*TRIM39* 完整序列转鸡胚成纤维细胞胞内禽白血病病毒浓度明显高于对照组;pDsRed2-C1-*TRIM39* 缺 RING 突变体转鸡胚成纤维细胞禽白血病病毒浓度与 pDsRed2-C1-*TRIM39* 缺 B30.2 突变体转鸡胚成纤维细胞相差明显且明显高于 pDsRed2-C1-*TRIM39* 完整序列转鸡胚成纤维细胞;鸡胚成纤维细胞直接攻禽白血病病毒浓度较 pDsRed2-C1-*TRIM39* 完整序列转鸡胚成纤维细胞高,且低于 pDsRed2-C1-*TRIM39* 缺 B30.2 突变体转鸡胚成纤维细胞,说明 *TRIM39* 具有一定的降低胞内禽白血病病毒的作用。

1~5—*TRIM39* 完整序列; 6~10—*TRIM39* 缺 RING 突变体1~7—*TRIM39* 缺 B30.2 突变体图3 *TRIM39* 完整序列、*TRIM39* 缺 RING 突变体(左图)与 *TRIM39* 缺 B30.2 突变体(右图)构建到 pDsRed2-C1 的菌落 PCR 鉴定结果

A. 不同处理样品胞外分泌成分中病毒浓度; B. 不同处理样品胞内成分中病毒浓度

1 号样为 pDsRed2-C1-*TRIM39* 完整序列转鸡胚成纤维细胞; 2 号样为 pDsRed2-C1-*TRIM39* 缺 RING 突变体转鸡胚成纤维细胞; 3 号样为 pDsRed2-C1-*TRIM39* 缺 B30.2 突变体转鸡胚成纤维细胞; 4 号鸡胚成纤维细胞直接攻禽白血病病毒样品; 5 号样为鸡胚成纤维细胞未经任何处理样品

图4 不同处理样品细胞分泌成分及胞内成分的病毒浓度

3 讨论

本研究通过基因重组技术获得了鸡 *TRIM39* 基因的原核表达载体,为避免基因反向插入的问题,在设计引物时有意识地引入了 *Bam*H I 和 *Sal* I 双酶切位点,保证了目的片段正确插入原核表达载体并与载体拥有一致的开放阅读框。研究

选用 *E. coli* Rosetta 作为表达菌株,它是一个广泛用于表达外源蛋白的菌株,外源基因的诱导表达受温度、诱导时间等的影响。首先,诱导温度的高低会影响表达蛋白的溶解性,37 ℃ 诱导的上清液中可溶性蛋白含量明显少于 28 ℃ 诱导的,说明低温条件有利于 *TRIM39* 的可溶性表达,因此本试验中采用 28 ℃ 诱导重组蛋白的表达,以获得具有活性的可溶性蛋白

用于纯化,但是诱导时间长短对蛋白表达量影响并不大。

另外,本研究中采用生物信息学分析手段设计引物并成功获得了 *TRIM39* 基因的 2 个突变体,即 *TRIM39ΔRING*、*TRIM39ΔB30.2*。据报道,*TRIM* 蛋白家族对逆转录病毒具有一定的抑制作用,因此本研究以禽白血病毒为模型,研究了 *TRIM39*、*TRIM39ΔRING*、*TRIM39ΔB30.2* 蛋白对禽白血病毒的抑制作用,发现三者均有抗病毒效应,但是 *TRIM39ΔRING*、*TRIM39ΔB30.2* 蛋白的抑制效果明显弱于 *TRIM39* 蛋白,说明 *RING* 结构域及 *B-box* 结构域可能对 *TRIM39* 的抗病毒效应有一定的影响。另外,本试验结果还表明,*TRIM39*、*TRIM39ΔRING*、*TRIM39ΔB30.2* 蛋白还可能影响禽白血病毒细胞的细胞外释放,而且 *TRIM39ΔRING*、*TRIM39ΔB30.2* 处理组细胞的病毒胞外释放量高于 *TRIM39* 处理组,说明 *TRIM39* 的抑制作用可能通过抑制病毒的释放实现,但 *RING* 结构域及 *B-box* 结构域在此过程中是否发挥作用还需进一步验证。

参考文献:

- [1] Boudinot P, van Der Aa L M, Jouneau L, et al. Origin and evolution of *TRIM* proteins; new insights from the complete *TRIM* repertoire of zebrafish and pufferfish[J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22022.
- [2] Napolitano L M, Meroni G. *TRIM* family: pleiotropy and diversification through homomultimer and heteromultimer formation[J]. *IUBMB Life*, 2012, 64(1): 64–71.
- [3] Ikeda K, Inoue S. Trim proteins as ring finger E3 ubiquitin ligases[J]. *Advances in Experimental Medicine & Biology*, 2012, 54(770): 27–37.
- [4] Sabile A, Meyer A M, Wirbelauer C, et al. Regulation of p27 degradation and S-phase progression by Ro52 RING finger protein[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2006, 26(16): 5994–6004.
- [5] Gack M U, Shin Y C, Joo C H, et al. *TRIM25* RING-finger E3 ubiquitin ligase is essential for RIG-I-mediated antiviral activity[J]. *Nature*, 2007, 446(7138): 916–920.
- [6] Ishikawa H, Tachikawa H, Miura Y, et al. *TRIM11* binds to and destabilizes a key component of the activator-mediated cofactor complex(ARC105) through the ubiquitin-proteasome system[J]. *FEBS Letters*, 2006, 580(20): 4784–4792.
- [7] Li X, Song B, Xiang S H, et al. Functional interplay between the B-box 2 and the B30.2 (SPRY) domains of *TRIM5 alpha*[J]. *Virology*, 2007, 366(2): 234–244.
- [8] Brass A L, Dykxhoorn D M, Benita Y, et al. Identification of host proteins required for HIV infection through a functional genomic screen[J]. *Science*, 2008, 319(5865): 921–926.
- [9] Minucci S, Maccarana M, Ciocce M, et al. Oligomerization of RAR and AML1 transcription factors as a novel mechanism of oncogenic activation[J]. *Molecular Cell*, 2000, 5(5): 811–820.
- [10] Li Y, Wu H, Wu W, et al. Structural insights into the *TRIM* family of ubiquitin E3 ligases[J]. *Cell Research*, 2014, 24(6): 762–765.
- [11] Carthagena L, Bergamaschi A, Luna J M, et al. Human *TRIM* gene expression in response to interferons[J]. *PLoS One*, 2009, 4

- (3): e4894.
- [12] Rajsbaum R, Garcia-Sastre A, Versteeg G A. *TRIM* immunity: the roles of the *TRIM E3*-ubiquitin ligase family in innate antiviral immunity[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2014, 426(6, SI): 1265–1284.
- [13] Stremlau M, Owens C M, Perron M J, et al. The cytoplasmic body component *TRIM5alpha* restricts HIV-1 infection in Old World monkeys[J]. *Nature*, 2004, 427(6977): 848–853.
- [14] Hattlmann C J, Kelly J N, Barr S D. *TRIM22*: A diverse and dynamic antiviral protein[J]. *Molecular Biology International*, 2012, 84(2012): 10.
- [15] Bonilla W V, Pinschewer D D, Klenerman P, et al. Effects of promyelocytic leukemia protein on Virus-Host balance[J]. *Journal of Virology*, 2002, 76(8): 3810–3818.
- [16] Zhang S J, Guo J T, Wu J Z, et al. Identification and characterization of multiple *TRIM* proteins that inhibit hepatitis B virus transcription[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e70001.
- [17] Kawai T, Akira S. Regulation of innate immune signalling pathways by the tripartite motif (*TRIM*) family proteins[J]. *EMBO Molecular Medicine*, 2011, 3(9): 513–527.
- [18] Uchil P D, Hinz A, Siegel S A, et al. *TRIM* Protein-Mediated regulation of inflammatory and innate immune signaling and its association with antiretroviral activity[J]. *Journal of Virology*, 2013, 87(1): 257–272.
- [19] Lee Y, Song B, Park C, et al. *TRIM11* negatively regulates IFN beta production and antiviral activity by targeting *TBK1*[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63255.
- [20] Li Q, Yan J, Mao A P, et al. Tripartite motif 8 (*TRIM8*) modulates TNF alpha- and IL-1 beta-triggered NF-kappa B activation by targeting *TAK1* for K63-linked polyubiquitination[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(48): 19341–19346.
- [21] Xue Q, Zhou Z, Lei X B, et al. *TRIM38* negatively regulates *TLR3*-Mediated IFN-beta signaling by targeting *TRIF* for degradation[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e46825.
- [22] Shiina T, Briles W E, Goto R M, et al. Extended gene map reveals tripartite motif, C-type lectin, and Ig superfamily type genes within a subregion of the chicken MHC-B affecting infectious disease[J]. *Journal of Immunology*, 2007, 178(11): 7162–7172.
- [23] 刘公平, 赵振芬, 刘福安. 禽白血病毒研究进展[J]. 中国兽医学报, 2000, 20(6): 621–623.
- [24] 尹丽萍, 秦爱建, 钱琨, 等. 禽白血病毒衣壳蛋白单克隆抗体研制及其双夹心 ELISA 的建立[J]. 中国家禽, 2013, 35(3): 15–19.
- [25] 崔治中. 禽白血病毒研究的过去、现在和将来[J]. 生命科学, 2012, 24(4): 305–309.
- [26] 敖越, 吴佳宁. 禽白血对养鸡业的影响及防控[J]. 畜牧兽医科技信息, 2016(10): 20–21.
- [27] 梅梅, 胡晓田, 秦爱建, 等. A 亚群禽白血病毒 *env* 基因在昆虫细胞中的表达与鉴定[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(6): 1316–1320.