

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2019.07.02

2017-2018 年吉林部分地区规模化猪场猪细小环病毒的遗传变异分析

刘东旭^{1,2}, 李国江^{1,2}, 苗丽娟^{1,2}, 沙万里^{1,2}, 尹柏双^{1,2*}

(1. 吉林农业科技学院, 吉林吉林 132101; 2. 预防兽医学吉林省重点实验室, 吉林吉林 132101)

[收稿日期] 2019-04-07 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2019) 07-0008-10 [中图分类号] S852.65

[摘要] 为了解猪细小环病毒(TTSuVs)在吉林部分规模化猪场的遗传变异情况,对2017-2018年来自吉林部分地区的10家规模化猪场的574份血清样品进行TTSuVs流行情况调查,并根据收集地点对20株TTSuVs进行ORF1全基因序列扩增及遗传变异性分析。结果显示:10家规模化猪场中,TTSuV1感染率为36.75%,TTSuV2感染率为63.2%,TTSuV1与TTSuV2混合感染率为30.3%。10株TTSuV1测序株之间的核苷酸同源性为75.7%~94.7%,氨基酸同源性为48.1%~88.2%;10株TTSuV2测序株之间的核苷酸同源性为77.5%~94.0%,氨基酸同源性为70.6%~87.4%。研究表明:吉林地区部分规模化猪场流行的TTSuV1均属于TTSuV1-lb型,而TTSuV2流行情况较为复杂,各种亚型均有涉及且呈现遗传变异多样性。

[关键词] TTSuVs; 流行情况; ORF1; 遗传变异

Analysis of TTSuVs Prevalence and Genetic Variation in Some Large-scale Pig Farms of Jilin from 2017-2018

LIU Dong-xu^{1,2}, LI Guo-jiang^{1,2}, MIAO Li-juan^{1,2}, SHA Wan-li^{1,2}, YIN Bai-shuang^{1,2}

(1. Jilin Agricultural Science and Technology University, Jilin of Jilin Province 132101, China;

2. Key Lab of Preventive Veterinary Medicine in Jilin Province, Jilin of Jilin Province 132101, China)

Corresponding author: YIN Bai-shuang, E-mail: 349795028@qq.com

Abstract: In order to study the genetic variation of Torque teno sus virus (TTSuVs) in large-scale pig farms in Jilin, 574 serum samples from 10 large-scale pig farms in Jilin from 2017 to 2018 were tested for TTSuVs. According to the collection farms, the genetic variability of ORF1 gene sequence of 20 strains was analyzed. The results showed that the rate of TTSuV1 infection was 36.75%, the rate of TTSuV2 infection rate was 63.2%, and

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(20150623004TC);吉林农业科技学院博士启动基金项目(吉农院合字[2017]第412号);吉林农业科技学院青年基金资助项目(吉农院合字[2017]第217号)

作者简介: 刘东旭,博士研究生,从事预防兽医学研究。

通讯作者: 尹柏双。E-mail:349795028@qq.com

the mixed rate of TTSuV1 and TTSuV2 infection rate was 30.3%. The nucleotide homology of 10 TTSuV1 strains was 75.7% ~ 94.7%, amino acid homology was 48.1% ~ 88.2%. The nucleotide homology of 10 TTSuV2 strains was 77.5% ~ 94.0%, amino acid homology was 70.6% ~ 87.4%. The TTSuV1 in some large – scale pig farms in Jilin belongs to TTSuV1 – lb. The TTSuV2 epidemic situation was complex, various subtypes were involved, and showed genetic diversity.

Key words: TTSuVs; epidemic; ORF1; genetic variation

猪细环病毒(Torque teno sus virus,TTSuV)是一种无囊膜、环状、单股负链 DNA 病毒,病毒粒子直径约 30 ~ 32 nm^[1]。人细环病毒(Torque teno virus,TTV)是由日本学者 Nishizawa 等在 1997 年使用代表性差异分析技术发现的一种新病毒。1999 年,美国学者首次从猪血清中分离到该病毒后,已在中国、加拿大、日本等国家发现 TTSuVs 的流行^[2]。根据核苷酸序列差异,TTSuVs 可分为 TTSuV1 和 TTSuV2 两种基因型。其中 TTSuV1 有 4 种亚型,即 TTSuV1a、TTSuV1b、TTSuV1c 和 TSuV1d。TTSuV2 有四种亚型,即 TTSuV2a、TTSuV2b、TTSuV2c 和 TTSuV2d^[3]。该病毒编码区中包含 3 个开放阅读框(ORF1 – ORF3),1 个 TATA 盒和 1 个 PolyA。其中 ORF1 基因是编码衣壳蛋白和复制相关结构域的基因,不同毒株之间差异较大,可用于 TTSuVs 的分型鉴定。

吉林省虽是养猪大省,但到目前为止仍没有关于猪群 TTSuVs 遗传变异分析的报道。为此,本研究对 2017 – 2018 年吉林省猪生态养殖及疫病防控科技创新中心收集的 574 份血清样品进行检测,并对其部分毒株进行 ORF1 序列分析,了解吉林部分地区规模化猪场 TTSuVs 的基因特性,为进一步研究 TTSuVs 的遗传进化提供依据。

1 材料与方法

1.1 病料的收集 收集 2017 – 2018 年来自吉林地区 10 家规模化猪场的血清样品 574 份。猪场所在地分别为:长春市、吉林市、白城市、四平市、通化市、白山市、延吉市 7 个地区。同时记录每份样品的基本信息,包括猪的身体状况、年龄及品种等。

1.2 材料与试剂 UNIQ – 10 柱式病毒基因组抽提试剂盒购自上海生物工程技术服务有限公司;

PCR 克隆载体 pMD18 – T、感受态细胞 JM109、蛋白酶 K、DNA 分子量标准 DL2000、Taq 酶、dNTP 购自 TaKaRa 公司;DNA 凝胶回收试剂盒、溴化乙锭(EB)、琼脂糖、琼脂粉购自维特杰公司。

1.3 引物的设计与合成 在对比分析 GenBank 上公布的国内外不同 TTSuVs 毒株 ORF1 基因序列的基础上,选取保守区,并在引物设计软件 primer 6.0 的辅助下设计引物。各 PCR 反应体系的引物序列如表 1 所示。

表 1 分段扩增所用的引物序列
Tab 1 Primer sequences for segmented amplification

片段	引物	PCR 产物 大小/bp	引物序列(5' – 3')
Frag. 1	F1 – 1	292	ATCGGGCAGGAGCAGCT
	F1 – 2		ACGTAGAGCGCGCCCCT
Frag. 2	F2 – 1	298	ACGTAGAGCGCGCCCCT
	F2 – 2		TGTGGAGAAATATATGG
TTSuV1 Frag. 3	F3 – 1	813	CAGATGGGATAC
	F3 – 2		CAGATGGGATAC
Frag. 4	F4 – 1	306	CTGAGAGGCCTAGT
	F4 – 2		TTACACACCCCAAAT
Frag. 5	F5 – 1	483	CCCACAGGAATCC
	F5 – 2		GGGGGGGCTTGCCCCCGG
Frag. 1	P1 – 1	800	AGAAAGATGGCTGACGGTAG
	P1 – 2		GGACACAAATAAAATA
TTSuV2 Frag. 2	P2 – 1	300	TCAAAGCTGGACACAAATAA
	P2 – 2		CTAAAAAACTAAAAAT
Frag. 3	P3 – 1	400	GAACAAGACATTAATAAAA
	P3 – 2		ACTCAAAGACTATAATATA
Frag. 4	P4 – 1	600	TTTGCAACAACAGACCC
	P4 – 2		ATGGAAAAATTCATGCA

1.4 病毒 DNA 的提取及 TTSuVs 阳性率的检测

应用 UNIQ-10 柱式病毒基因组抽提试剂盒,按照说明书,提取 574 份检测样品中的病毒 DNA 并进行 PCR 鉴定,分析吉林部分地区规模化养猪场 TTSuVs 的阳性率。

1.5 TTSuVs ORF1 全基因扩增及测序

为研究 TTSuVs 在同一感染体内不同亚型间的基因特点,本研究根据所收集样品的地点,对每家规模化猪场选取同时感染 TTSuV1 和 TTSuV2 的样品 1 份,应用所设计的引物,扩增各代表株的 ORF1 全基因序列。将扩增产物纯化并与 pMD18-T 载体连接后,42 ℃热击转化到 JM109 感受态细胞中,进行蓝白斑筛选。筛选后挑取白色菌落,经鉴定后进行测序。

1.6 TTSuVs ORF1 基因的序列分析

采用DNAMAN、DNASar、MEUA 等生物信息学软件对 TTSuVs 测序株 ORF1 基因进行分析,使用参考株资料见表 2。

2 结果与分析

2.1 吉林部分地区规模化猪场 TTSuVs 流行情况调查

对从 10 家规模化猪场收集到的 574 份血清样品进行 PCR 鉴定,其中共检出 201 份 TTSuV1 阳性样品,其感染率为 36.75%;363 份 TTSuV2 阳性样品,感染率为 63.2%;TTSuV1 与 TTSuV2 的混合感染样品有 174 份,混合感染率为 30.3%。在吉林部分地区规模化猪场中,TTSuV1 感染率最高的城市是长春市,感染率为 48.97%;TTSuV2 感染率最高的城市是延吉市,感染率为 76.28%;而混合感染率最高的城市同样也是长春市,感染率为 42.82%。结果表明,吉林省部分地区规模化猪场中,TTSuV2 的感染率普遍高于 TTSuV1,且各个年龄段的猪均可感染 TTSuVs(表 3-表 5)。

2.2 TTSuVs ORF1 基因的扩增

根据所收集样品的地点,每家规模化猪场选取同时感染 TTSuV1 和 TTSuV2 的样品 1 份,并进行 TTSuV1、TTSuV2 ORF1 全基因序列扩增,扩增结果见图 1 和图 2。将 PCR 结果测序后,通过软件拼接为完整的 ORF1 全基因序列,大小为 2000 bp 左右,与预期结果相符,完成了 TTSuVs ORF1 基因的扩增与测序。

表 2 本研究使用参考株资料表

Tab 2 The reference strain list			
毒株	类型	国家	分离时间
GU570200	TTSuV1-1a	西班牙	2010
GU570198	TTSuV1-1a	西班牙	2010
GU570202	TTSuV1-1a	西班牙	2010
MH170071	TTSuV1-1a	巴西	2018
AY823990	TTSuV1-1b	巴西	2004
GQ120664	TTSuV1-1b	加拿大	2009
GU188045	TTSuV1-1b	德国	2009
GU450331	TTSuV1-1b	中国	2010
GU456384	TTSuV1-1b	美国	2010
HM633253	TTSuV1-1b	中国	2010
HM633254	TTSuV1-1b	中国	2010
HM633258	TTSuV1-1b	中国	2010
KY937993	TTSuV1-1b	中国	2017
AY823991	TTSuV2-2a	巴西	2004
GU570206	TTSuV2-2a	巴西	2010
GU570207	TTSuV2-2a	西班牙	2010
HM633233	TTSuV2-2a	中国	2010
HM633231	TTSuV2-2a	中国	2010
HM633240	TTSuV2-2a	中国	2010
GU570205	TTSuV2-2a	西班牙	2010
HM633220	TTSuV2-2a	中国	2010
HM633231	TTSuV2-2a	中国	2010
GU570197	TTSuV2-2a	西班牙	2010
JF937656	TTSuV2-2a	中国	2011
JQ782385	TTSuV2-2a	中国	2012
KR054750	TTSuV2-2a	日本	2015
GU456385	TTSuV2-2b	美国	2010
GU188046	TTSuV2-2b	德国	2010
HM633230	TTSuV2-2c	中国	2010
GU456386	TTSuV2-2c	美国	2010
JF694118	TTSuV2-2c	中国	2010

表 3 2017-2018 年吉林部分地区 TTSuVs 感染情况

Tab 3 The infection type of TTSuVs in the part of Jilin during 2017-2018			
感染类型	送检血清总数/份	阳性血清数/份	感染比例/%
TTSuV1	574	211	36.75(211/574)
TTSuV2		363	63.2(363/574)
TTSuV1 + TTSuV2		174	30.3(174/574)

表 4 吉林部分地区 2017 – 2018 年 TTSuVs 分布情况

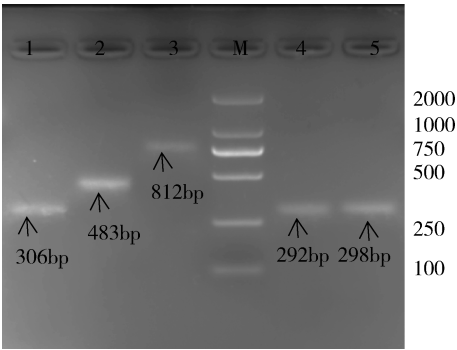
Tab 4 Distribution of TTSuVs in parts of Jilin during 2017 – 2018

地区	TTSuV1		TTSuV2		TTSuV1 + TTSuV2	
	阳性血清数/份	感染比例/%	阳性血清数/份	感染比例/%	阳性血清数/头	感染比例/%
四平	29	36.25 (29/80)	57	71.25 (57/80)	21	26.25 (21/80)
延吉	31	32.00 (31/97)	74	76.28 (74/97)	27	27.83 (27/97)
通化	31	39.24 (31/79)	42	53.16 (42/79)	24	30.38 (24/79)
白山	12	24.00 (12/50)	28	56.00 (28/50)	9	18.00 (9/50)
白城	26	31.30 (26/82)	41	50.00 (41/82)	26	31.70 (26/82)
长春	48	48.97 (48/98)	71	72.45 (71/98)	42	42.86 (42/98)
吉林	34	38.63 (34/88)	50	56.81 (50/88)	25	28.41 (25/88)

表 5 吉林地区 2017 – 2018 年 TTSuVs 不同年龄段分布情况

Tab 5 The pig of different age groups of TTSuV in Jilin during 2017 – 2018

年龄段	样品数/份	TTSuV1		TTSuV2		TTSuV1 + TTSuV2	
		阳性血清数/份	感染比例/%	阳性血清数/份	感染比例/%	阳性血清数/头	感染比例/%
仔猪	163	68	41.7 (68/163)	130	79.7 (130/163)	64	39.3 (64/163)
保育猪	257	92	35.8 (92/257)	166	49.0 (126/257)	74	28.8 (74/257)
育肥猪	154	51	33.1 (51/154)	67	43.5 (67/154)	36	23.4 (36/154)

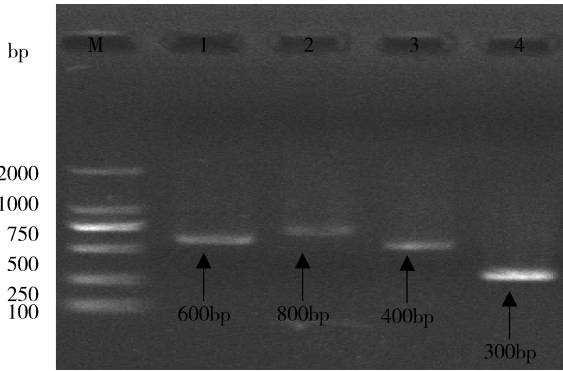


M: Marker 2000; 1 – 5: 分段基因扩增结果

M: Marker 2000; 1 – 5: Segmented gene amplification results

图 1 TTSuV1 ORF1 全基因分段扩增结果

Fig 1 Results of TTSuV1 ORF1 gene amplification



M: Marker 2000; 1 – 4: 分段基因扩增结果

M: Marker 2000; 1 – 4: Segmented gene amplification results

图 2 TTSuV2 ORF1 全基因分段扩增结果

Fig 2 Results of TTSuV2 ORF1 gene amplification

2.3 TTSuVs ORF1 基因核苷酸同源性分析 将所测得的 TTSuVs ORF1 全基因序列与国内外参考株的 ORF1 序列进行对比分析,结果见图 3、图 4。结果显示,10 株 TTSuV1 测序株之间的核苷酸同源性为 75.7% ~ 94.7%, 其与 2004 年巴西参考株 AY823990 之间同源性最高,为 98.0%; 与 2018 年

巴西参考株 MH170071 的同源性最低,为 61.2%。10 株 TTSuV2 测序株之间的核苷酸同源性为 77.5% ~ 94.0%, 其与 2010 年西班牙参考株 GU570205 及 2010 年中国参考株 JF694118 之间同源性最高,为 97.1%; 与 2015 年日本参考株 KR054750 同源性最低,为 77.5%。

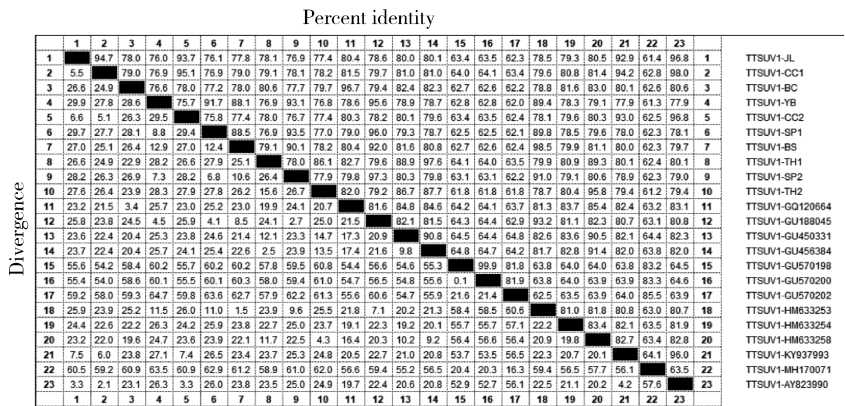
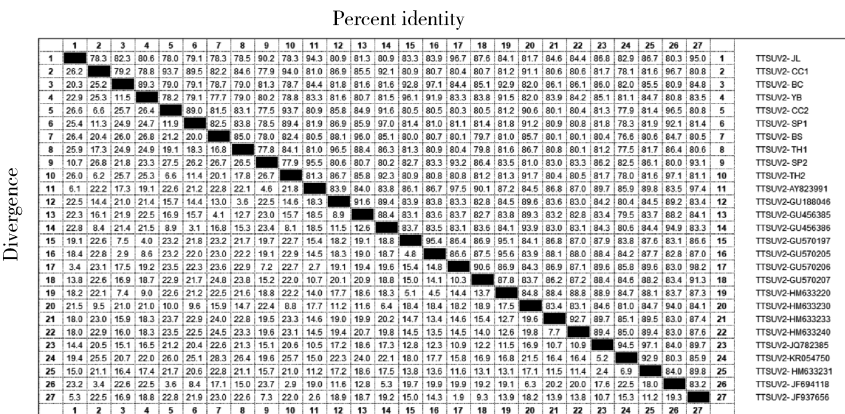


图 3 10 株 TTSuV1 测序株与国内外参考株 ORF1 核苷酸序列的同源性对比结果

Fig 3 Comparison of homology between 10 sequencing strains of TTSuV1 and ORF1 sequences from domestic and foreign strains



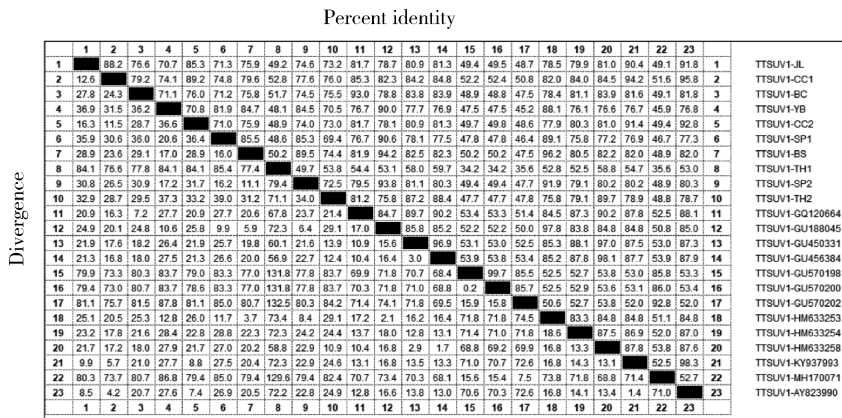


图5 10株TTSuV1测序株与国内外参考株ORF1氨基酸序列的同源性对比结果

Fig 5 Comparison of amino acid sequences between 10 sequencing strains of

TTSuV1 and ORF1 sequences from domestic and foreign strains

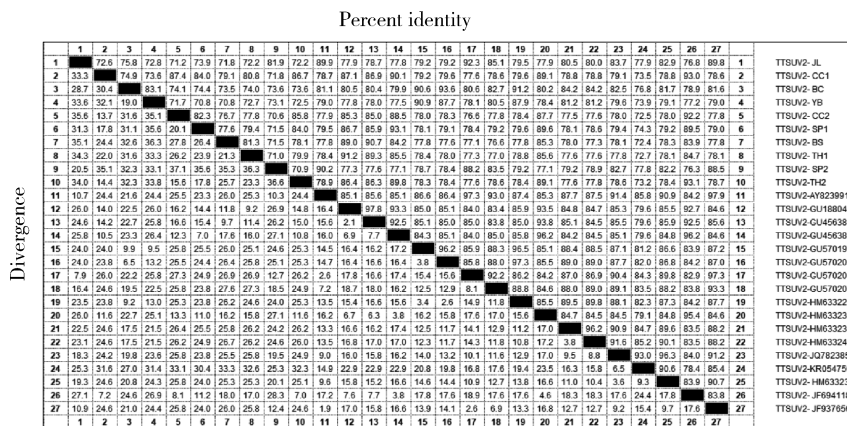


图6 10株TTSuV2测序株与国内外参考株ORF1氨基酸序列的同源性对比结果

Fig 6 Comparison of amino acid sequences between 10 sequencing strains of

TTSuV2 and ORF1 equences from domestic and foreign strains

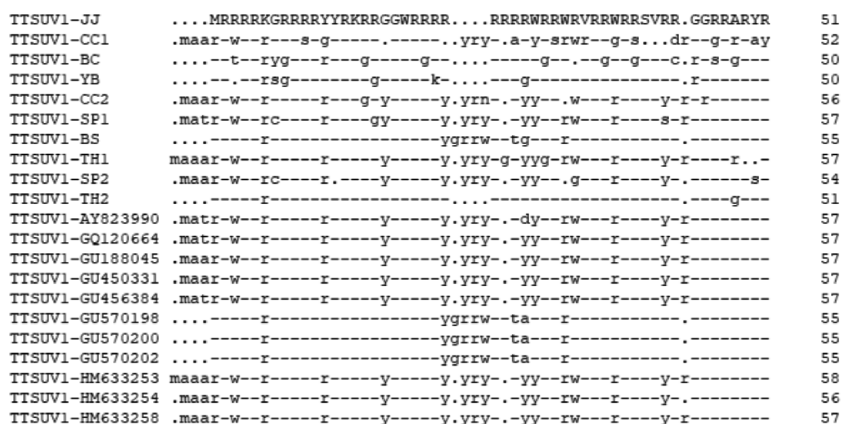


图7 部分 TTSuV1 ORF1 基因编码氨基酸序列对比结果

Fig 7 Comparison of TTSuV1 ORF1 gene coding amino acid sequences

TTSUV2-JL	MYSRYRRRRRRGKWRTHRWRRYRYRYRRARRRRRTKV.RRRWRKAVWC.RRTCGWS.YGH	57
TTSUV2-CC1	-sr-----ttr--hr-----s-----t--a-s-----n---	56
TTSUV2-BC1	-----tr--hr-----s-a-r--rkav.-ns-----ts---	59
TTSUV2-YB	--r-----,ttrs-hr---d-----ga-r-wrkavs-ns-----s,---	58
TTSUV2-CC2	-sr-----ttr--hrw-----,-----s-----k-r-----s-----g	55
TTSUV2-SP1	--r-----ktrs--hr-----,g-----,--rs--s.g-----,	54
TTSUV2-BS	-r-----tr--hr--t-----h-----wz-----s-----agg.s---	53
TTSUV2-TH1	--g-----ttrr--hr---s-----ng--h-a-----r-----ng--s---	58
TTSUV2-SP2	--r--s--ttr--hr-----,-----ra--rtkv--rk--sr--g---	57
TTSUV2-IH2	--r-----,srrs-hg---h-----ar-----,rk--s.s--gs-r---	55
TTSUV2-AY823991	--r-----ttr--hr-----,rk--s-----,	57
TTSUV2-GU188046	--r-----ttr--hr-----a-----r-----ns-----,	58
TTSUV2-GU456385	--r-----ttr--hr-----,-----r--s-----s-----,	56
TTSUV2-GU456386	--r-----ttr--hr-----,-----r--s-----,	56
TTSUV2-GU570197	--r-----ttr--hr-----a-r--rkav.-ns-----,	58
TTSUV2-GU570205	--r-----ttr--hr-----a-r--rkav.-ns-----,	58
TTSUV2-GU570206	--r-----r-----,-----r--s-----,	57
TTSUV2-GU570207	--r-----ttr--hr-----,rk--s-----,	57
TTSUV2-HM633220	--r-----ttr--hr-----a-r--rkav.-ns-----,	58
TTSUV2-HM633230	--r-----ttr--hr-----kv.,-----r--s-----,	56
TTSUV2-HM633233	--r-----ttr--hr-----a-----r--ns-----,	58
TTSUV2-HM633240	--r-----ttr--hr-----,-----r--ns-----,	58
TTSUV2-JQ782385	--r-----ttr--hr-----x-----r--xs-----,	58

图 8 部分 TTSuV2 ORF1 基因编码氨基酸序列对比结果

Fig 8 Comparison of TTSuV2 ORF1 gene coding amino acid sequences

是 TTSuV2 ORF1 的超变区,10 株 TTSuV2 测序株在 39aa 和 47aa 处均有两个氨基酸的缺失,与 2012 年的中国参考株 JQ782385 相同;TTSuV2 - BC 和 TTSuV2 - YB 在 292 ~ 294aa 处存在与 2010 年中国参考株 HM633220 相同的三个氨基酸的缺失;TTSuV2 - JL、TTSuV2 - BC、TTSuV2 - YB 和 TTSuV2 - SP2 在 377aa 处有与 2012 年中国参考株 JQ782385 相同的一个氨基酸的缺失。

2.6 TTSuVs ORF1 基因遗传进化树分析 为进一步分析吉林部分地区 TTSuVs 毒株与其他参考株在进化上的关系,将 20 株测序株与国内外发表的参考株共同构建遗传进化树,结果见图 9、图 10。结果显示,在吉林部分地区规模化猪场中,测序的 10 株 TTSuV1 均属于 TTSuV1 - 1b 型,其中测序株 TTSuV1 - JL、TTSuV1 - CC1 和 TTSuV1 - CC2 与巴西参考株亲缘关系较近;测序株 TTSuV1 - BC、TTSuV1 - YB、TTSuV1 - SP1 和 TTSuV1 - SP2 与 2010 年中国参考株 HM633253 亲缘关系较近。10 株 TTSuV2 测序株中,TTSuV2 - JL、TTSuV2 - SP2、TTSuV2 - YB 和 TTSuV2 - BC 属于 TTSuV2 - 2a 型;TTSuV2 - CC1、TTSuV2 - CC2、TTSuV2 - TH2 和 TTSuV2 - SP1 属于 TTSuV2 - 2c 型;TTSuV2 - BS 与 TTSuV2 - TH1 属于 TTSuV2 - 2b 型。测序结果表明,在吉林部分地区规模化猪场中流行的

TTSuV1 均属于 TTSuV1 - 1b 型,而 TTSuV2 流行情况较为复杂,各种亚型均有涉及。

3 讨论与结论

TTSuVs 的感染不会立刻引发疾病,然而 TTSuVs 却可以影响一些疾病的发展,甚至影响它们的结果。目前,人类的 TTV 已证实与自身免疫风湿性疾病、肝脏病变和呼吸性疾病有关^[4],这也使得近年来对 TTSuVs 的研究成为热点。

本研究对 2017 - 2018 年间吉林部分地区规模化猪场的 574 份样品进行检测,结果显示,TTSuV1 感染率为 36. 75%;TTSuV2 感染率为 63. 2%;TTSuV1 与 TTSuV2 的混合感染率为 30. 3%,与王礞礞 2009 年的调查结果相近,但与徐茜 2013 年对江西省猪 TTSuVs 感染率的调查结果相反(TTSuV1 的感染率为 72. 9%,TTSuV2 的感染率为 69. 8%,总混合感染率为 53. 0%),说明 TTSuVs 已在我国多省份流行,但流行情况各个地域间差异较大^[5]。

细环病毒的基因组具有高度变异性和多样性,其中约 2000 bp 的 ORF1 全基因序列分型法是公认的经典分型方法之一^[6]。ORF1 全序列分型法是根据其核苷酸的差异来确定不同基因型,即差异程度在 30% ~ 40% 之间的为不同基因型,大于 40% 为不同基因群^[7]。ORF1 全基因序列占 TTSuVs 基因总长度的 60%,所以 ORF1 全基因序列分型法可以

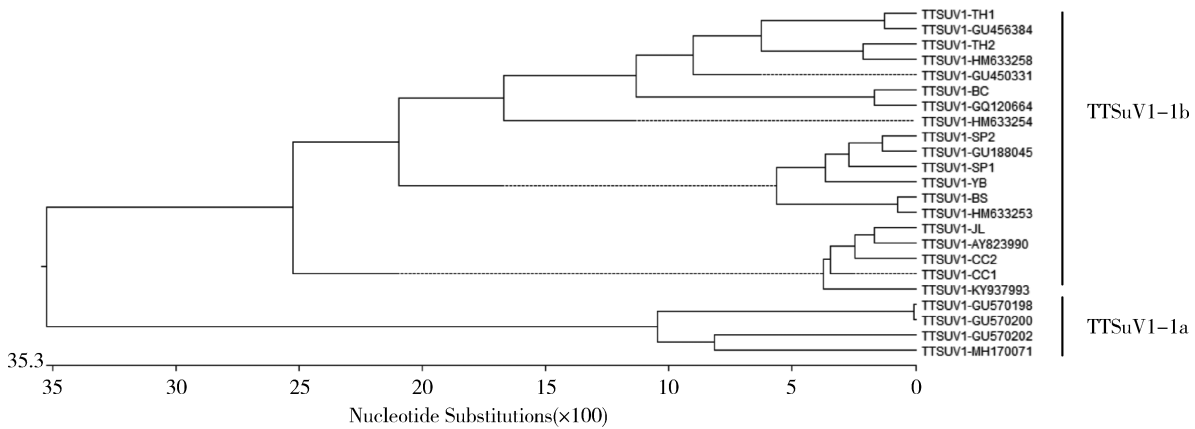


图 9 TTSuV1 测序株与参考株 ORF1 基因进化树分析

Fig 9 Phylogenetic tree analysis of ORF1 gene of TTSuV1 sequencing and reference strains

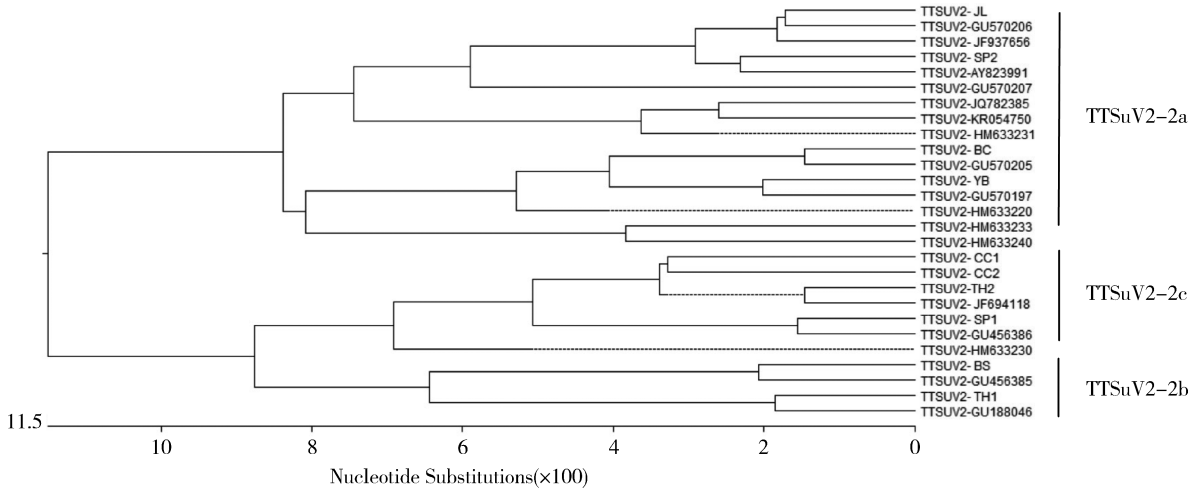


图 10 TTSuV2 测序株与参考株 ORF1 基因进化树分析

Fig 10 Phylogenetic tree analysis of ORF1 gene of TTSuV2 sequencing and reference strains

代表 TTSuVs 基因组多变性特点,并且该方法相对来说更加经济有效^[8-9]。对 20 株 TTSuVs 测序株 ORF1 基因同源性分析发现,在吉林部分地区规模化猪场中流行的 TTSuV1 均属于 TTSuV1-1b 型,而 TTSuV2 流行情况较为复杂,各种亚型均有涉及。

现阶段,国内外对于 TTSuVs 的研究大部分停留在流行情况调查及检测方法的建立,而对于病毒的基因与其致病性及如何逃避宿主免疫的机制研究较少^[10]。学者对于人 TTV 基因组研究发现其普遍存在 G 和 A 之间的转换^[11],而在本次的调查中 G 和 A 也出现了较高的突变率,这可能与 7 APOBEC3

(Apolipoprotein B editing component 3)蛋白有关,但具体相关性仍需进一步的探查。

本研究对多株 TTSuVs 基因研究发现,其核苷酸同源性大于 60%,而氨基酸同源性不及 60%。对于一般的病毒,氨基酸同源性会大于其核苷酸同源性,但 TTSuVs 却是核苷酸同源性大于氨基酸同源性,这和其他病毒显著不同^[12]。ORF1 可能是 TTSuVs 编码的最大蛋白,可能在宿主体内诱发宿主抗体的形成,推断 ORF1 的多样性可以让其逃避宿主的免疫攻击。

通过序列比较分析,本研究发现了一些保守区

域: TTGGCCGCCGCG, ACGACTGCCGAAAGCTCT, ATGGATCGTCTGA, 这与 2011 年国内学者发现的保守区并不完全相同^[13], 但是均属于高 CG 区, 与人源 TTV 保守区相似^[14]。对其研究显示, 突变的原因可能是在几个不同的个体内进行序列的改变和进化, 推测 TTSuVs 与近来发现单股 DNA 病毒相似, 其高频率的突变可能和病毒基因组的单链或参与复制的蛋白的编码能力有关。

近几年来国内学者对于 TTSuVs 的基因研究显示, TTSuV2 ORF1 核苷酸序列较为保守, 其测序的 TTSuV2 ORF1 核苷酸序列可与 2010 年中国参考株 HM633231 的同源性高达 97%^[15]。虽然在本研究中 TTSuV1 测序株与 2010 年中国参考株 HM633253 之间同源性最高可达 96.2%, 与 2017 年中国参考株 KY937993 之间同源性最高也达 94.2%, 但其突变频率也最为频繁, 其序列之间的多样性大于 30%, 而 TTSuV2 序列之间的多样性大于 15%。TTSuV1 和人源 TTV 在这点上具有相似性^[16], 人源 TTV 基因组序列之间的多样性在 30% 以上, 这一高百分比对于 DNA 病毒来说是极不常见的。

有学者推测, 只有一小部分人源 TTV 拥有可以成功感染宿主的所有组分, 与 HIV 病毒一样, 需要不同的 TTV 共感染才可满足持续性感染发生的条件^[17], 即感染人类的 TTV 不是一个基因型而是 TTV 的一个族群。为此, 本研究选取同一感染体来源的 TTSuVs 进行分析, 结果显示, 同一感染体中的两种 TTSuVs 亚型在氨基酸及核苷酸分析上与其他单独感染猪的 TTSuVs 亚型没有明显的共同差异或突变, TTSuVs 不同亚型的共感染是否可以引起持续性感染以及其感染机制是什么, 将是下一步的主要研究方向。

总之, 本次流行病学调查更好地了解了 TTSuVs 在吉林部分地区规模化猪场中的流行情况, 掌握了 TTSuVs 发生、发展的动态规律, 这将有助于揭示 TTSuVs 遗传变异规律, 丰富其分子生物学特性内容, 并为今后预防和控制 TTSuVs 提供理论依据, 也为 TTSuVs 的机理研究奠定基础。

参考文献:

- [1] Singh P, Ramamoorthy S. Immune gene expression in swine macrophages expressing the Torque teno sus virus1 (TTSuV1) ORF - 1 and 2 proteins [J]. *Virus Research*, 2016, 220: 33 - 38.
- [2] Grenier M, Jauslin H R, Klein C, *et al.* Prevalence of Torque teno virus infection in pig herds in China[J]. *Veterinary Record*, 2011, 168(15): 410.
- [3] Cortey M, Macera L, Segalés J, *et al.* Genetic variability and phylogeny of Torque teno sus virus 1 (TTSuV1) and 2 (TTSuV2) based on complete genomes[J]. *Veterinary Microbiology*, 2011, 148(2): 125 - 131.
- [4] Cruz A C D M, Silveira R L, Baez C F, *et al.* Clinical aspects and weight gain reduction in swine infected with Porcine Circovirus type 2 and torque teno sus virus in Brazil [J]. *Veterinary Microbiology*, 2016, 195: 154 - 157.
- [5] 阮文强, 宝志鹏, 覃思楠, 等. 四川地区猪细小病毒 1 型的流行病学调查和分子特征研究[J]. *动物医学进展*, 2018, 39(3): 19 - 23.
- Ruan W Q, Bao Z P, Qin S N, *et al.* Molecular epidemiology and molecular characterization of TTSuV1 in Sichuan province [J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2018, 39(3): 19 - 23.
- [6] Li Z, Qiao J, He Y, *et al.* Analysis of TTSuV1b antibody in porcine serum and its correlation with four antibodies against common viral infectious diseases[J]. *Virology Journal*, 2015, 12(1): 125.
- [7] 陈鹏强, 胡崇伟, 林群群, 等. 猪细小病毒 1a 型 ORF1 基因的克隆与序列分析[J]. *中国畜牧兽医*, 2015, 42(7): 1668 - 1673.
- Chen P Q, Hu C W, Lin Q Q, *et al.* Cloning and sequence analysis of ORF1 gene of porcine Torque Teno Sus Virus type 1a [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2015, 42(7): 1668 - 1673.
- [8] Luka P D, Erume J, Yakubu B, *et al.* Molecular Detection of Torque teno sus virus and coinfection with African swine fever virus in blood samples of pigs from some slaughterhouses in Nigeria[J]. *Advances in Virology*, 2016, 6: 6341015.
- [9] Teixeira T F, Cibulski S P, Santos H F D, *et al.* Torque teno sus virus 1 (TTSuV1) and 2 (TTSuV2) viral loads in serum of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) - affected and healthy pigs in Brazil[J]. *Research in Veterinary Science*, 2015, 101: 38 - 41.

- [10] Lee Y, Lin C M, Jeng C R, *et al.* The pathogenic role of Torque teno sus virus 1 and 2 and their correlations with various viral pathogens and host immunocytes in wasting pigs[J]. Veterinary Microbiology, 2015, 180(3): 186 – 195.
- [11] Singh G, Ramamoorthy S. Potential for the cross – species transmission of swine Torque teno viruses [J]. Veterinary Microbiology, 2018, 215: 66 – 77.
- [12] Hamilton G. Virology: The gene weavers [J]. Nature, 2006, 441(7094): 683 – 685.
- [13] 王礲礲. 猪源 TTV: 分子流行病学, 全长序列分析及感染性分子克隆的构建 [D]. 中国农业科学院, 2011.
Wang M M. Porcine TTV: molecular epidemiology, full length genomic sequence analysis and construction of infectious molecular clones [D]. Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2011.
- [14] Peng Y H, Nishizawa T, Takahashi M, *et al.* Analysis of the entire genomes of thirteen TT virus variants classifiable into the fourth and fifth genetic groups, isolated from viremic infants [J]. Archives of Virology, 2002, 147(1): 21 – 41.
- [15] 陈轶雯. 广东 TTSuVs 流行病学调查与 TTSuV_2 ORF1 抗原性分析 [D]. 南京农业大学, 2013.
Chen Y W. Epidemiological investigation in Guangdong for Porcine Transfusion Transmitted Virus and immunogenicity research for TTSuV2 ORF1 [D]. Nanjing Agricultural University, 2013.
- [16] Panichi F, Goździewski K, Migaszwski C, *et al.* Kepler – 30: the Cesar of TTV variations [J]. Monthly Notices of the Royal Astronomical Society, 2018, 478(2): 2480 – 2494.
- [17] Luo K, Liang W, He H, *et al.* Experimental infection of nonenveloped DNA virus (TTV) in Rhesus Monkey [J]. Journal of Medical Virology, 2015, 61(1): 159 – 164.

(编 辑:李文平)