

# 非洲猪瘟病毒 pH108R 蛋白的原核表达 及其多克隆抗体的制备

王梦旖<sup>1</sup>,任静静<sup>1</sup>,武正前<sup>2</sup>,王志艺<sup>1</sup>,吴俊煌<sup>1</sup>,  
甘露露<sup>1</sup>,李丹<sup>1</sup>,尚佑军<sup>1\*</sup>,郑海学<sup>1\*</sup>

(1. 中国农业科学院 兰州兽医研究所 兰州大学动物医学与生物安全学院 动物疫病防控  
全国重点实验室,甘肃 兰州 730000;2. 古浪县农业产业化服务中心,甘肃 武威 733000)

**摘要:** 制备非洲猪瘟病毒(ASFV)pH108R 蛋白的多克隆抗体。首先,通过分析 H108R 基因的跨膜区(TR)并去除该区域,构建 pH108R 重组蛋白的原核表达质粒 pET-22b-H108R $\Delta$ TR,并经酶切鉴定验证成功构建此质粒。随后,将质粒转化至大肠杆菌 BL21(DE3)感受态细胞中,通过 IPTG 诱导表达 pH108R 蛋白。SDS-PAGE 检测显示蛋白以包涵体形式表达,经镍柱亲和层析法纯化后,用于免疫豚鼠制备多克隆抗体。免疫印迹、间接免疫荧光和免疫共沉淀试验结果表明,制备的多克隆抗体能够特异地识别 ASFV 感染的猪肺泡巨噬细胞中表达的 pH108R 蛋白。本研究为深入研究 ASFV pH108R 蛋白的生物学功能提供了有效的检测工具。

**关键词:** 非洲猪瘟病毒;原核表达;pH108R 蛋白;多克隆抗体

## Prokaryotic expression of African swine fever virus pH108R protein and preparation of its polyclonal antibodies

WANG Mengyi<sup>1</sup>,REN Jingjing<sup>1</sup>,WU Zhengqian<sup>2</sup>,WANG Zhiyi<sup>1</sup>,WU Junhuang<sup>1</sup>,  
GAN Lulu<sup>1</sup>,LI Dan<sup>1</sup>,SHANG Youjun<sup>1\*</sup>,ZHENG Haixue<sup>1\*</sup>

(1. State Key Laboratory for Animal Disease Control and Prevention/College of Veterinary Medicine of Lanzhou University/  
Lanzhou Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730000, China;2. Gulang  
County Agricultural Industrialization Service Center, Wuwei 733000, China)

**Abstract:** The aim of this study was to prepare polyclonal antibodies against the H108R protein (pH108R) of African swine fever virus (ASFV). Initially, the prokaryotic expression plasmid pE-22-H108R $\Delta$ TR for the recombinant pH108R protein was constructed by deleting the transmembrane region (TR) of pH108R. The successful construction of this plasmid was confirmed through enzymatic analysis. Subsequently, the plasmid was transformed into *E. coli* BL21(DE3) competent cells, and pH108R was expressed following IPTG induction. SDS-PAGE analysis revealed that the protein was expressed as inclusion bodies, which was purified using nickel column affinity chromatography and used to immunize guinea pigs for the preparation of polyclonal antibodies. Results from immunoblotting, indirect immunofluorescence, and co-immunoprecipitation assays demonstrated that the prepared polyclonal antibodies exhibited good

收稿日期:2025-01-20;修回日期:2025-02-17

基金项目:“十四五”国家重点研发计划项目(2021YFD1800100);甘肃省重大专项(21ZD3NA001-5,22ZD6NA001);甘肃省重大  
人才项目(212068657016);甘肃省陇原青年英才项目(20230102)

作者简介:王梦旖(1998-),女,甘肃武威人,硕士生,主要从事动物传染病病原学与流行病学研究,E-mail:mengyi-wang@163.com。\*通讯作者:尚佑军,主要从事家畜重要疫病病原生态与流行病学研究,E-mail:shangyoujun@caas.cn;郑海学,主要从事动物传染病学与流行病学研究,E-mail:zhenghaixue@caas.cn。

specificity and could recognize pH108R expressed in ASFV-infected porcine alveolar macrophages. This study provides an effective detection tool for the in-depth investigation of the biological function of ASFV pH108R.

**Key words:** African swine fever virus; prokaryotic expression; pH108R protein; polyclonal antibody

**\*Corresponding authors:** SHANG Youjun, E-mail: shangyoujun@caas.cn; ZHENG Haixue, E-mail: zheng-haixue@caas.cn

非洲猪瘟(African swine fever, ASF)是由非洲猪瘟病毒(African swine fever virus, ASFV)感染猪后所引起的一种高度传染性病毒性疾病。20 世纪初肯尼亚首次确诊 ASFV,之后相继在非洲大陆的其他地区肆虐暴发<sup>[1-2]</sup>。21 世纪初 ASFV 又传入格鲁吉亚共和国,伴随着高发病率和高死亡率,在家猪和野猪群体中迅速传播,ASF 成为了一种大规模的流行病,持续对养猪业构成极其严重的威胁<sup>[3-4]</sup>。2018 年 8 月我国辽宁地区传入 ASF,短时间内蔓延至全国范围,严重威胁我国生猪存栏量,给畜牧业带来了难以估计的经济损失<sup>[5-6]</sup>。ASF 被世界动物卫生组织(WOAH)列为必须报告的法定动物疫病之一。目前,仍然没有安全有效的 ASF 商品化疫苗。

ASFV 是非洲猪瘟病毒科非洲猪瘟病毒属的唯一成员,是目前已发现的唯一由虫媒传播的大型双链 DNA 病毒。钝缘蜱、软蜱是其主要传播媒介,由于蜱具有寿命长、栖息地隐蔽等特点,因此很难控制 ASF 的传播<sup>[7]</sup>。ASFV 基因组长度在 170~193 kb 之间,包含 150~167 个开放阅读框(Open reading frame, ORF),能够编码出超过 150 种蛋白质,包括 68 种结构蛋白和 100 多种非结构蛋白<sup>[8]</sup>。病毒粒子由外膜、衣壳、内膜、核壳、基因组 DNA 五部分组成。病毒主要在受感染细胞的细胞质中复制,其形态发生位于细胞质中的专门区域,这些区域被称为病毒工厂<sup>[9-10]</sup>。H108R 基因长度约 327 bp,其编码的 pH108R 蛋白有 108 个氨基酸,属于 ASFV 的结构蛋白,位于病毒内膜。目前已有文献报道缺失 H108R 基因后,ASFV 的复制能力降低,证明 H108R 基因是 ASFV 的毒力基因之一,并且该基因缺失后可以诱导保护性免疫反应,对同源毒株提供保护作用<sup>[11]</sup>。本研究将 pH108R 重组蛋白纯化后免疫豚鼠,制备出豚鼠抗 ASFV pH108R 蛋白多克隆抗体,为后续探究 pH108R 蛋白的功能和 ASFV 致病机制提供了良好的检测工具。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

原代猪肺泡巨噬细胞(porcine alveolar macrop-

hages, PAM)、非洲猪瘟病毒亲本毒株(ASFV-GS)均由本实验室分离并保存;原核表达载体 pET-22b(+),预染蛋白 Marker 均由西安擎科生物科技有限公司提供;用于制备多克隆抗体的豚鼠来自中国农业科学院兰州兽医研究所实验动物中心。Apa I 和 Xho I 均购自 Thermo Scientific(赛默飞世尔)公司;大肠杆菌 BL21(DE3)感受态细胞购自北京全式金生物技术股份有限公司;Omni-Easy PAGE 凝胶快速制备试剂盒购自上海雅酶生物医药科技有限公司;弗氏完全佐剂(FCA)和弗氏不完全佐剂(FIA)均购自 Sigma-Aldrich(默克生命科学)公司;BCA 蛋白定量试剂盒和抗体稀释液均购自上海碧云天生物技术股份有限公司;超敏 ECL 发光液购自新赛美生物科技有限公司。

### 1.2 重组表达质粒 pET-22b-H108R $\Delta$ TR 的构建

从 NCBI 数据库下载 ASFV-GS H108R 基因序列,使用在线网站 TMHMM2.0(<https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>)分析 H108R 基因的跨膜区,去掉跨膜区基因序列后进行 2 次串联,克隆至 pET-22b(+)载体上得到 pET-22b-H108R $\Delta$ TR 质粒。使用 Apa I 和 Xho I 进行双酶切验证,验证结果符合预期即可保存备用。

### 1.3 pH108R 重组蛋白的原核表达、鉴定及纯化

取少许 pET-22b-H108R $\Delta$ TR 的穿刺菌,在氨苄青霉素抗性的平板上均匀划线,于 37 °C 恒温培养箱中过夜培养后挑取单个菌落,在 5 mL 氨苄青霉素抗性培养基中扩繁,之后提取质粒保存。取少许 pET-22b-H108R $\Delta$ TR 质粒转化至 BL21(DE3)感受态细胞中,于 37 °C 恒温培养箱中过夜培养,次日挑取单个克隆至 5 mL 氨苄青霉素抗性的 LB 液体培养基中,于 37 °C 振荡培养 12~16 h。取上述菌液按照 1:100 接种至 10 mL 含氨苄青霉素的培养基中,于 37 °C 恒温培养箱中培养至  $D_{600nm}$  为 0.6~0.8,取 1 mL 菌液保存作为未诱导对照,剩余菌液加入终浓度为 1 mmol/L 的 IPTG,置于 37 °C 恒温培养箱中振荡培养 6 h,离心后收集沉淀,将沉淀清洗后用 160  $\mu$ L PBS 重悬,置于冰水中进行超声,随后通过离心分别收集上清和沉淀,使用与上清相同体积的 PBS 重

悬沉淀,加入 40  $\mu$ L 5 $\times$ 上样缓冲液,金属浴 10 min 后通过 SDS-PAGE 验证表达情况。

验证 pH108R 蛋白成功表达后,取转接之前的 5 mL 菌液,按照 1:100 接种至 1 L 含氨苄青霉素的培养基中,37  $^{\circ}$ C 恒温培养箱中培养至  $D_{600\text{nm}}$  为 0.6~0.8,加入终浓度为 1 mmol/L 的 IPTG,培养 6 h 后离心,在沉淀中加入一定量的破碎缓冲液(50 mmol/L Tris, pH 8.0, 0.15 mol/L NaCl, 1% Triton X-100),置于冰水中超声破碎。超声结束后将破碎液离心 30 min 后收集沉淀。在沉淀中加入 10 mL 沉淀缓冲液(20 mmol/L 咪唑, 0.05 mol/L NaCl, 50 mmol/L Tris, 8 mol/L 尿素, pH 8.0),过夜溶解。次日离心后取上清进行纯化。取 3~4 mL 镍琼脂糖凝胶柱,用洗瓶清洗 5 次,然后加入 20 mL 平衡缓冲液平衡 10 min。取上述收集上清 1 mL 加入柱子中进行充分结合,2 h 后取出,流出流穿液。用 20 倍柱体积的平衡缓冲液洗去未吸附的样品。然后依次使用含 10、20、50、100、200、300 mmol/L 咪唑的洗脱缓冲液分阶段洗脱。将收集的各浓度梯度蛋白进行 SDS-PAGE 检测。根据 SDS-PAGE 结果确定最佳洗杂浓度为 10 mmol/L 咪唑缓冲液,最佳洗脱浓度为 300 mmol/L 咪唑缓冲液。将剩余上清按相同的方法进行纯化,经洗杂和洗脱获得目标蛋白。

将透析袋置于 100  $^{\circ}$ C 超纯水中进行活化,将纯化好的目标蛋白置于透析袋中,依次于 6 mol/L 尿素透析液(50 mL/L 甘油、0.5 mmol/L 甘氨酸、0.1 mmol/L 谷胱甘肽)、4 mol/L 透析液和 2 mol/L 透析液中透析,每个梯度的透析液透析 12 h。透析完成后离心收集上清蛋白,通过免疫印迹法检测目标蛋白是否存在。最后使用 BCA 蛋白定量试剂盒测定已纯化的 pH108R 蛋白的质量浓度,并置于 -80  $^{\circ}$ C 保存备用。

#### 1.4 豚鼠抗 pH108R 多克隆抗体的制备

将已纯化的 pH108R 蛋白与弗氏完全佐剂按等体积乳化,乳化完全后进行首次免疫,按 300  $\mu$ g/只的剂量于豚鼠腿部进行肌肉注射。间隔 2 周后依次进行第 2 次免疫和第 3 次免疫,后 2 次需要使用弗氏不完全佐剂对 pH108R 蛋白进行乳化,具体乳化方法及免疫剂量均与首次免疫相同。二免后 1 周于豚鼠心脏采血,分离血清后进行免疫印迹检测。若能够检测出特异性条带则无须进行 3 次免疫;若检测效果不佳则进行 3 次免疫,免疫后 1 周所有豚鼠心脏采血,分离血清后置于 -80  $^{\circ}$ C 保存。

#### 1.5 免疫印迹检测

用 1 MOI 的 ASFV-GS 感染 PAM 细胞,感染 48 h 后加入 2 $\times$ 上样缓冲液收集细胞,放于 100  $^{\circ}$ C 金属

浴煮 10 min。冷却离心 10 min 后进行 SDS-PAGE。结束后进行蛋白转印,转印 1 h 后用 50 g/L 脱脂奶粉溶液室温封闭 1 h,加入稀释后的抗 pH108R 的多克隆抗体(1:250)过夜孵育,清洗后使用稀释后的红外荧光素标记的山羊抗豚鼠 IgG 二抗(1:10 000)室温孵育 1 h,清洗后使用超敏 ECL 发光液在高分辨率图像采集系统显影。

#### 1.6 激光共聚焦试验

使用 1 MOI 的 ASFV-GS 感染 PAM 细胞,36 h 后收集样品处理,使用预冷的 40 g/L 多聚甲醛溶液,在室温固定 20 min 后加入 0.2% 的曲拉通 X-100,室温通透 10 min,50 g/L BSA 室温封闭 1 h 后加入抗 pH108R 的豚鼠多克隆抗体和抗 p72 的家兔多克隆抗体过夜孵育,次日加入对应的荧光素标记二抗室温避光孵育 1 h 后用 DAPI 染色,置于暗盒,最后用徕卡 TCS SP5 II AOBS 共聚焦显微镜拍照。

#### 1.7 免疫共沉淀试验

使用 1 MOI 的 ASFV-GS 感染 PAM 细胞,在感染 36 h 后收集样品处理,同时以不感染的 PAM 细胞作为对照,离心后加入 NP40 裂解液裂解,反复冻融 3 次后离心吸取上清,分别作为 input、IgG 和免疫共沉淀样品,在 IgG 样品中加入 Protein A/G 琼脂糖珠和 IgG 抗体,在免疫共沉淀样品中加入 Protein A/G 琼脂糖珠和抗 pH108R 的多克隆抗体过夜孵育,次日清洗干净后进行 SDS-PAGE。

#### 1.8 生物安全声明

本研究中涉及的 ASFV-GS 毒株活病毒操作试验均在中国农业科学院兰州兽医研究所生物安全三级实验室中进行。此外,其他需借助生物安全二级实验室仪器的涉及活病毒的试验,包括免疫印迹、免疫共沉淀和激光共聚焦等试验样品,首先在生物安全三级实验室经过对应的灭活介质进行灭活,然后传递至生物安全二级实验室中操作。试验过程中所产生的所有生物危险废弃物均经标准化消毒和高压灭菌等无害化处理,符合生物安全要求。

## 2 结果

### 2.1 重组表达质粒 pET-22b-H108R $\Delta$ TR 的鉴定

使用在线网站 TMHMM2.0 分析 ASFV *H108R* 基因编码的 pH108R 蛋白的氨基酸序列,发现 pH108R 为一种跨膜蛋白,跨膜区(10-32 aa)位于 pH108R 蛋白的 N 端(图 1A)。为了表达可溶性的 pH108R 蛋白,将跨膜区去除后的基因序列进行密码子优化,并将优化后的基因序列串联 2 次后克隆至 pET-22b(+ )载体上得到 pET-22b-H108R $\Delta$ TR 质粒,该质粒由西

安擎科生物科技有限公司合成。将重组质粒进行酶切鉴定,结果显示,pET-22b-H108R $\Delta$ TR经 *Apa* I 和 *Xho* I 双酶切后产生 4 334 bp 和 1 684 bp 的条带(图 1B),与预期结果一致。测序结果进一步证实插入片段与靶标基因序列一致,说明重组质粒构建成功,将重组质粒命名为 pET-22b-H108R $\Delta$ TR。

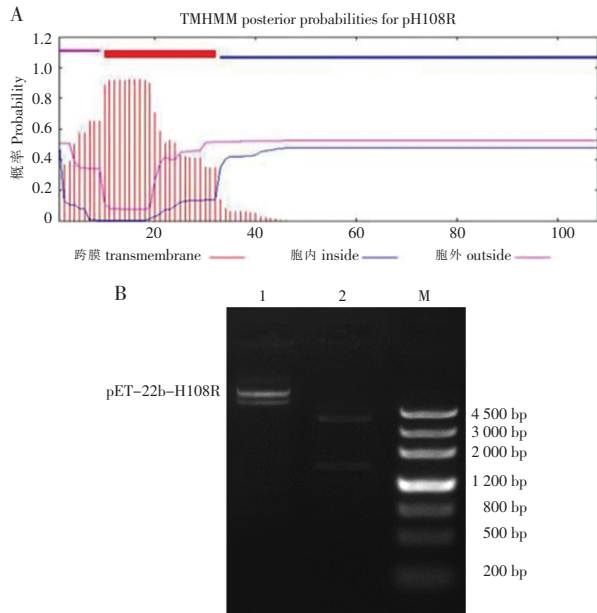


图 1 pH108R 蛋白跨膜区的预测 (A) 及重组表达质粒 pET-22b-H108R $\Delta$ TR 的双酶切鉴定 (B)

Figure 1 Prediction of the transmembrane region of the pH108R protein (A) and identification of pET-22b-H108R $\Delta$ TR expression plasmid by double enzyme digestion (B)

M: DNA 分子质量标准; 1: pET-22b-H108R $\Delta$ TR; 2: pET-22b-H108R $\Delta$ TR 经 *Apa* I 和 *Xho* I 双酶切后的产物。

M: DNA molecular quality standard Marker; 1: pET-22b-H108R $\Delta$ TR plasmid; 2: Product of the pET-22b-H108R $\Delta$ TR expression plasmid digested by *Apa* I and *Xho* I.

## 2.2 pH108R 重组蛋白的原核表达、鉴定及纯化

为了鉴定 pH108R 蛋白在大肠杆菌中是否表达及其表达形式,将重组质粒 pET-22b-H108R $\Delta$ TR 转化至 BL21(DE3)感受态细胞后使用 IPTG 进行诱导表达。SDS-PAGE 检测结果显示,与未诱导的对照相比,诱导后的细菌裂解液沉淀中在 17~25 kDa 之间可以检测到特异性的条带(图 2),而优化后的 pH108R 蛋白预测大小为 22 kDa,因此,初步判定 pH108R 蛋白在大肠杆菌中以包涵体的形式表达。

在确认 pH108R 蛋白以包涵体形式表达后,转接未诱导前的菌液进行大量诱导表达,收集菌体沉淀后进行包涵体的纯化。用 1 mL 沉淀混合物摸索最佳洗杂浓度和最佳洗脱浓度,按照摸索好的条件纯

化剩余沉淀混合物,将纯化后的蛋白进行 SDS-PAGE 检测,结果显示流穿液中几乎检测不到 pH108R 蛋白,说明 pH108R 蛋白与 His 镍柱结合的效果较好。使用 300 mmol/L 咪唑缓冲液对 pH108R 蛋白进行洗脱,第 4 次洗脱后仅检测到少量 pH108R 蛋白(图 3)。

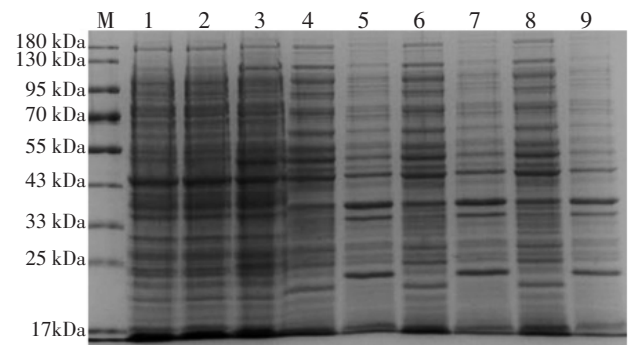


图 2 H108R 重组蛋白原核表达产物的鉴定

Figure 2 Identification of pH108R protein expression in *E. coli*

M: 蛋白质分子质量标准; 1~3: 未经 IPTG 诱导的 BL21-pH108R 细菌裂解液; 4, 6, 8: IPTG 诱导的 BL21-pH108R 细菌裂解液的上清; 5, 7, 9: IPTG 诱导的 BL21-pH108R 细菌裂解液的沉淀。

M: Protein molecular weight Marker; 1-3: Bacterial lysates of BL21-pH108R without IPTG induction; 4, 6, 8: Supernatant of bacterial lysates for BL21-pH108R with IPTG induction; 5, 7, 9: Inclusion bodies of lysates for BL21-pH108R with IPTG induction.

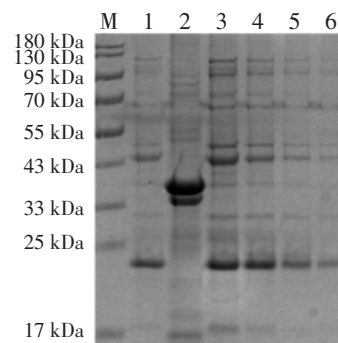


图 3 pH108R 重组蛋白的纯化

Figure 3 Purification of recombinant pH108R protein

M: 蛋白质分子质量标准; 1: 少量纯化的 pH108R 蛋白; 2: 流穿液; 3~6: 经 300 mmol/L 咪唑缓冲液洗脱的 pH108R 蛋白。

M: Protein molecular weight Marker; 1: pH108R protein was purified on a small scale; 2: Flow through liquid; 3-6: pH108R protein was eluted in 300 mmol/L imidazole buffer.

## 2.3 pH108R 多克隆抗体的免疫印迹检测

用 1 MOI 的 ASFV 感染 PAM 细胞,感染 48 h 后收集细胞进行免疫印迹检测。以抗 pH108R 的多克隆抗体(1:250 稀释)为一抗,红外荧光素标记的山羊抗豚鼠 IgG(1:10 000 稀释)为二抗。结果显示:与未感染 ASFV-GS 的空白对照组相比,ASFV-GS 感

染的 PAM 中在 10~15 kDa 可检测到特异性的条带。而 pH108R 蛋白的预测大小为 12.4 kDa,因此,

制备的豚鼠抗 pH108R 多克隆抗体可以识别 ASFV 感染的 PAM 中表达的 pH108R 蛋白(图 4)。

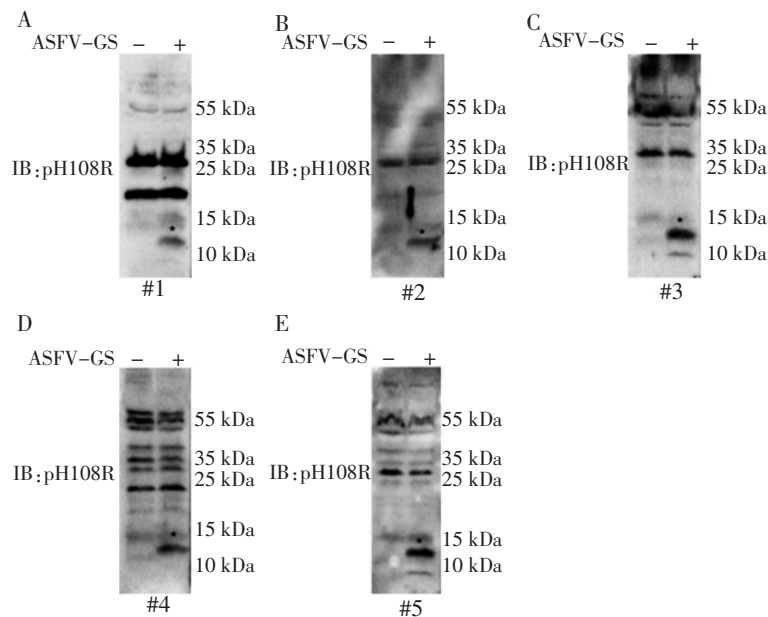


图 4 豚鼠抗 pH108R 蛋白多克隆抗体的免疫印迹(IB)鉴定

Figure 4 Immunoblotting identification of guinea pigs anti-pH108R polyclonal antibodies

A~E:免疫 pH108R 蛋白后编号为 1~5 豚鼠血清的免疫印迹鉴定。

A—E:Immunoblotting identification of sera from guinea pigs (numbered 1—5) immunized with pH108R protein.

## 2.4 pH108R 多克隆抗体的间接免疫荧光试验验证

使用 ASFV-GS 感染 PAM 细胞,36 h 后收集样品处理,通过激光共聚焦显微镜观察,结果显示,以本

实验室前期已经制备的 p72 抗体为对照,本次制备的豚鼠抗 pH108R 多克隆抗体可以检测 ASFV-GS 感染的 PAM 细胞中表达的 pH108R 蛋白(图 5)。

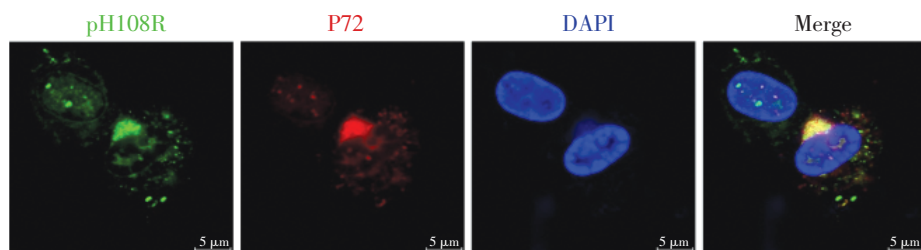


图 5 豚鼠抗 pH108R 蛋白多克隆抗体的间接免疫荧光试验验证

Figure 5 Validation of guinea pigs anti-pH108R protein polyclonal antibodies by indirect immunofluorescence assay

## 2.5 pH108R 多克隆抗体的免疫共沉淀检测

使用 1 MOI 的 ASFV-GS 感染 PAM,感染 36 h 后收集细胞,使用豚鼠抗 pH108R 多克隆抗体进行免疫共沉淀。结果显示,制备的豚鼠抗 pH108R 多克隆抗体可以识别 ASFV-GS 感染的 PAM 中表达的 pH108R 蛋白(图 6),表明该抗体可以用于免疫共沉淀试验检测 ASFV-GS 感染细胞中的 pH108R 蛋白。

## 3 讨论

非洲猪瘟病毒基因组庞大且复杂,编码超过 150 种蛋白质,这些蛋白质在病毒粒子形成的生命周期

中以及在先天性和适应性免疫反应的诱导和调控等方面发挥关键作用。其中包含影响 ASFV 毒力的相关基因,这些基因在病毒致病过程中发挥着关键作用,因此解析这些基因的功能十分重要。pH108R 蛋白是 ASFV 的内膜蛋白,目前研究报道缺失 *H108R* 基因后病毒毒力降低,说明 *H108R* 基因是 ASFV 的毒力基因之一,并且缺失该基因后动物机体可以诱导产生对亲本毒株的免疫保护<sup>[11]</sup>。为深入研究 *H108R* 基因的功能,制备 pH108R 蛋白的多克隆抗体是十分必要的。

本研究首先利用在线网站 TMHMM 2.0 分析

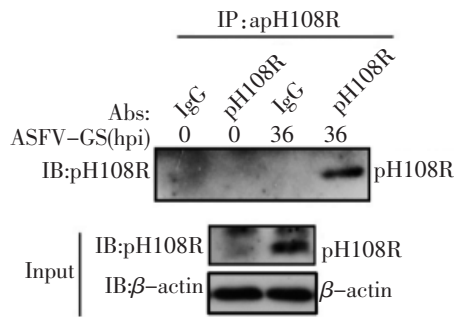


图 6 豚鼠抗 pH108R 蛋白多克隆抗体的免疫共沉淀 (IP) 检测  
Figure 6 Detection of guinea pigs anti-pH108R protein polyclonal antibody by co-immunoprecipitation

Abs: 抗体; hpi: 感染持续时间。

Abs: antibodies; hpi: hour post infection.

pH108R 蛋白的跨膜区 (10-32aa), 将跨膜区去除后进行优化并克隆至 pET-22b 载体上得到 pET-22b-pH108R $\Delta$ TR 质粒。接下来验证 pH108R 重组蛋白的表达, 发现 pH108R 蛋白在沉淀中以包涵体的形式表达, 因此利用镍柱亲和层析方法纯化包涵体, 并成功纯化出 pH108R 蛋白。最后将纯化好的 pH108R 蛋白免疫豚鼠, 免疫后经免疫印迹试验、间接免疫荧光试验和免疫共沉淀试验证明制备出的豚鼠抗 pH108R 蛋白多克隆抗体可以识别 ASFV 感染的 PAM 细胞中的 pH108R 蛋白。本研究成功制备出豚鼠抗 pH108R 蛋白的多克隆抗体, 并摸索出 pH108R 蛋白的纯化体系。

目前, 研究发现 pH108R 蛋白还可能参与病毒复制过程, 主要是病毒颗粒组装过程<sup>[12]</sup>, 因此, 深入研究 pH108R 蛋白的功能可揭示 ASFV 感染及致病的分子机制, 本研究制备的豚鼠抗 pH108R 蛋白多克隆抗体为后续研究提供了有力的工具, 为深入探究 pH108R 蛋白的生物学功能奠定了基础。

## 参考文献 (References)

- [1] WANG N, ZHAO D, WANG J, *et al.* Architecture of African swine fever virus and implications for viral assembly[J]. *Science*, 2019, 366(6465):640-644.  
[2] MUSHAGALUSA C A, ETTER E, PENRITH M L. Review of

- African swine fever outbreaks history in South Africa: from 1926 to 2018[J]. *Onderstepoort J Vet Res*, 2021, 88(1):1-10.  
[3] GOGIN A, GERASIMOV V, MALOGOLOVKIN A, *et al.* African swine fever in the North Caucasus region and the Russian Federation in years 2007-2012 [J]. *Virus Res*, 2013, 173(1):198-203.  
[4] LICHERI M, LICHERI M F, MEHINAGIC K, *et al.* Multiplex PCR approach for rapid African swine fever virus genotyping[J]. *Viruses*, 2024, 16(9):1460.  
[5] ZHAO D, LIU R, ZHANG X, *et al.* Replication and virulence in pigs of the first African swine fever virus isolated in China[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2019, 8(1):438-447.  
[6] ZHOU X, LI N, LUO Y, *et al.* Emergence of African swine fever in China, 2018[J]. *Transbound Emerg Dis*, 2018, 65(6):1482-1484.  
[7] GAUDREAU N N, MADDEN D W, WILSON W C, *et al.* African swine fever virus: an emerging DNA arbovirus [J]. *Front Vet Sci*, 2020, 7:215.  
[8] WANG Y, KANG W, YANG W, *et al.* Structure of African swine fever virus and associated molecular mechanisms underlying infection and immunosuppression: a review[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:715582.  
[9] DIXON L K, CHAPMAN D A, NETHERTON C L, *et al.* African swine fever virus replication and genomics [J]. *Virus Res*, 2013, 173(1):3-14.  
[10] SALAS M L, ANDRÉS G. African swine fever virus morphogenesis[J]. *Virus Res*, 2013, 173(1):29-41.  
[11] VUONO E, RAMIREZ-MEDINA E, SILVA E, *et al.* Deletion of the H108R gene reduces virulence of the pandemic Eurasia strain of African swine fever virus with surviving animals being protected against virulent challenge[J]. *J Virol*, 2022, 96(14):e00545-22.  
[12] BROOKES S M, SUN H, PARKHOUSE R M, *et al.* Characterization of African swine fever virion proteins j5R and j13L: immuno-localization in virus particles and assembly sites[J]. *J Gen Virol*, 1998, 79(5):1179-1188.

(责任编辑 胡志敏)