

非洲猪瘟诊断靶标的研究进展

潘婷婷^{1,2,3,4}, 康喜龙^{*1,2,3,4}, 黄霞^{1,2,3,4}, 孟闯^{1,2,3,4}, 潘志明^{*1,2,3,4}, 焦新安^{1,2,3,4}

1 扬州大学 江苏省人兽共患病学重点实验室, 江苏 扬州 225009

2 扬州大学 江苏省高校动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 江苏 扬州 225009

3 扬州大学 农业农村部农产品质量安全生物性危害因子(动物源)控制重点实验室, 江苏 扬州 225009

4 扬州大学 教育部农业与农产品安全国际合作联合实验室, 江苏 扬州 225009

潘婷婷, 康喜龙, 黄霞, 孟闯, 潘志明, 焦新安. 非洲猪瘟诊断靶标的研究进展[J]. 微生物学通报, 2025, 52(2): 510-521.

PAN Tingting, KANG Xilong, HUANG Xia, MENG Chuang, PAN Zhiming, JIAO Xin'an. Research progress in the diagnostic targets of African swine fever[J]. Microbiology China, 2025, 52(2): 510-521.

摘要: 非洲猪瘟(African swine fever, ASF)是由非洲猪瘟病毒(African swine fever virus, ASFV)感染而引起的一种急性传染病。目前, 国内外尚未生产出有效的商业化疫苗, 致使 ASF 的防控难度一直较大, 定期的流行病学监测和高效的早期诊断技术对 ASF 防控和净化非常重要。针对 ASFV 检测靶标的挖掘和研究, 可以有效地为 ASF 诊断技术研发提供参考, 为疾病防控贡献力量。本文对当前 ASF 所使用的诊断靶标进行了综述, 以期为 ASF 的防控工作以及研发高效可行的诊断技术提供参考。

关键词: 非洲猪瘟; 非洲猪瘟病毒; 诊断靶标; 检测方法

资助项目: 江苏省重点研发计划(现代农业)重点项目(BE2021331, BE2020398); 江苏省第六期“333 高层次人才培养工程”项目; 江苏省农业自主创新项目[CX(21)2035]

This work was supported by the Key Research and Development Program (Modern Agriculture) of Jiangsu Province (BE2021331, BE2020398), the Sixth Phase of “333 High-level Talent Training Project” of Jiangsu Province, and the Agricultural Independent Innovation Program of Jiangsu Province [CX(21)2035].

*Corresponding authors. E-mail: KANG Xilong, xlkang@yzu.edu.cn; PAN Zhiming, zmpan@yzu.edu.cn

Received: 2024-07-30; Accepted: 2024-10-17; Published online: 2024-11-15

Research progress in the diagnostic targets of African swine fever

PAN Tingting^{1,2,3,4}, KANG Xilong^{*1,2,3,4}, HUANG Xia^{1,2,3,4}, MENG Chuang^{1,2,3,4}, PAN Zhiming^{*1,2,3,4}, JIAO Xin'an^{1,2,3,4}

1 Jiangsu Key Laboratory of Zoonosis, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

2 Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Major Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

3 Key Laboratory of Prevention and Control of Biological Hazard Factors (Animal Origin) for Agrifood Safety and Quality, Ministry of Agriculture and Rural Affairs of China, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

4 Joint International Research Laboratory of Agriculture and Agri-product Safety of the Ministry of Education, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

Abstract: African swine fever (ASF) is an acute infectious disease caused by African swine fever virus (ASFV). At present, there is no effective commercial vaccines at home and abroad, resulting in the difficulty in the prevention and control of ASF. Therefore, early diagnosis and regular epidemiological monitoring are essential for the prevention and control of ASF. The research on the diagnostic targets of ASF can provide a reference for the development of diagnostic technology. This article reviews the currently used diagnostic targets of ASF, aiming to provide a reference for the prevention and control of ASF and the development of efficient and feasible diagnostic technologies.

Keywords: African swine fever; African swine fever virus; diagnostic target; detection method

非洲猪瘟(African swine fever, ASF)是由非洲猪瘟病毒(African swine fever virus, ASFV)感染家猪与各种野猪(如非洲野猪、欧洲野猪等)而引起的一种急性、出血性的烈性传染病。非洲猪瘟病毒是一种具有二十面体对称结构的病毒,由四层蛋白壳和一个内基因组组成。ASFV的基因组包含 160–175 个开放阅读框(open reading frame, ORF),其中包含 125 个保守的 ORF,已被确定功能的有 50 余种;ASFV 的结构明显比许多其他病毒复杂,有约 68 种病毒结构蛋白,在 ASFV 的复制和存活中发挥着不同的作用^[1]。除了结构蛋白以外,ASFV 还具有 100 多种非结构蛋白,能够参与 DNA 复制和修复以及基因表达等过程,在病毒的组装与传播中发挥着重要作用,其中一些还参与逃避宿主的免疫应答。

目前,国内外尚未生产出有效的商业化疫苗,致使 ASF 的防控难度一直较大。ASF 防控需要依靠严格的卫生要求以及完善的生物安全管理体系,因此可靠的诊断技术和流行病学监测对 ASF 防控和净化至关重要。世界动物卫生组织推荐的 ASFV 检测方法包括病毒分离、荧光抗体检测(fluorescent antibody technique, FAT),以及实时 PCR 和常规 PCR 检测。我国农业农村部批准了包括非洲猪瘟病毒(P72/CD2v/MGF)三重荧光 PCR 检测试剂盒、非洲猪瘟病毒核酸恒温荧光扩增检测试剂盒及非洲猪瘟病毒荧光重组酶介导扩增核酸检测试剂盒等新兽药的生产。对于非洲猪瘟抗体的检测,常使用 ELISA、免疫印迹及间接免疫荧光等方法进行检测。这些检测方法使用不同的抗原,其中基于 p72 的阻断 ELISA、使用 p72、p62 和

p32 抗原混合物的间接 ELISA 及基于 p32 的竞争 ELISA 应用较为广泛^[2]。我国农业农村部也批准了非洲猪瘟病毒 ELISA 抗体检测试剂盒及非洲猪瘟病毒荧光微球检测试纸条在内的多项新兽药的申报, 百余家科研机构与公司参与研制。

在当前严峻的 ASF 疫情防控形势下, 判别 ASFV 感染的诊断技术应进行不断地改良升级, 朝着高效、高精度和高特异性的方向研发。寻找具有诊断潜力的靶标是 ASF 诊断技术研发的关键和基础。多种 ASFV 基因或蛋白可以作为 ASF 诊断的潜在靶标。本文以 ASFV 的结构蛋

白与非结构蛋白为主体, 对目前国内外 ASF 诊断所用的靶标进行了综述, 为 ASF 的防控工作以及研发可行高效的诊断技术提供参考。

1 基于 ASFV 结构蛋白的诊断靶标

ASFV 结构复杂, 其多层结构在 ASFV 的复制和存活中发挥着不同的作用。每一层都含有许多蛋白质, 其中具有良好的抗原性和保守性的蛋白被不断挖掘, 并作为诊断靶标广泛应用于 ASF 诊断方法的建立(表 1)。

表 1 应用于 ASF 诊断靶标的结构蛋白

Table 1 Structural proteins used as ASF diagnostic targets

| 诊断靶标 Diagnostic target | 检测方法 Detection method | 作为诊断靶标的优点 Advantages as a diagnostic target | 诊断靶标是否应用于商品化试剂盒 Whether the diagnostic target is used in commercial kits | |
|---------------------------|--|---|---|----------|
| p30 | 竞争 ELISA ^[3] 、阻断 ELISA ^[4] 、胶体金免疫层析技术 ^[5] 、间接 ELISA ^[6] 、时间分辨荧光免疫分析法 ^[7] Competitive ELISA ^[3] , Blocking ELISA ^[4] , Immune colloidal gold technique ^[5] , Indirect ELISA ^[6] , Time-resolved fluorescence immunoassay ^[7] | 纳米 PCR ^[8] 、重组酶聚合酶扩增技术 ^[9] 、生物传感器 ^[10] Nano-PCR ^[8] , Recombinase polymerase amplification ^[9] , Biosensors ^[10] | 1. ASFV 早期检测的重要靶标 2. 在细胞内表达早、表达量大, 检测时间早 3. 广泛应用于血清学检测 1. Important targets for early detection of ASFV 2. Early and high intracellular expression and used for early detection of ASFV infection 3. Widely used in serological detection | 是 Yes |
| p72 | AlphaLISA ^[11] 、免疫层析试纸条 ^[12] Double antigen sandwich ELISA, AlphaLISA ^[11] , Immunochromatographic test strips ^[12] | 锁核酸修饰引物 PCR ^[13] 、等温扩增法 ^[14] LNA-TaqMan prob real-time PCR ^[13] , LAMP ^[14] | 1. 病毒体衣壳的主要成分, 产生于病毒感染晚期, 是感染猪的主要抗原之一 2. 该蛋白序列高度保守, 抗原性好, 常被用于非洲猪瘟血清学诊断 3. 对 ASF 的后期诊断具有重大意义 1. The main component of the virion capsid, produced in the late stages of viral infection, and is one of the major antigens of infected pigs 2. The protein is highly conserved in sequence, has good antigenicity and is often used in the serological diagnosis of ASF 3. Significant implications for late diagnosis of ASF | 是 Yes |

(待续)

(续表 1)

| 诊断靶标 | 检测方法 | 作为诊断靶标的优点 | 诊断靶标是否应用于商品化试剂盒 | |
|-------------------|---|--|---|----------|
| Diagnostic target | Detection method | Advantages as a diagnostic target | Whether the diagnostic target is used in commercial kits | |
| p54 | 竞争 ELISA ^[15] 、荧光免疫层析试纸条 ^[16] Competitive ELISA ^[15] , Fluorescent immunochromatography test strip ^[16] | 实时 PCR ^[17] Real-time PCR ^[17] | 1. 感染早期作用于入侵靶细胞 2. 良好的抗原诱导性 3. 检测结果准确, 应用广泛 1. Acts on invading target cells in the early stages of infection 2. Good antigenicity 3. Accurate results, widely used | 是 Yes |
| CD2v | 荧光免疫层析法 ^[18] Fluorescent immunochromatography test strip ^[18] | RT-RAA ^[19] 、实时荧光定量 PCR ^[20] RT-RAA ^[19] , real-time quantitative PCR ^[20] | 1. 感染后期表达 2. 现场便捷 ASFV 检测 3. 与疫苗开发相关, 可用于疫苗免疫的鉴别诊断 1. Expression at late stage post-infection 2. Used on-site convenient testing 3. Relevant to vaccine development and can be used for differentiating infected from vaccinated animals | 否 No |
| pp62 | 间接 ELISA ^[21] 、化学发光法 ^[22] Indirect ELISA ^[21] 、 Chemiluminescence immunoassay ^[22] | 实时荧光定量 PCR ^[23] Real-time quantitative PCR ^[23] | 1. 复制晚期高效表达 2. 在 ASFV 病毒粒子成熟和形成感染性中起关键作用 1. Highly efficient expression at late stages of viral replication 2. Critical role in maturation and formation of infectivity of ASFV virus particles | 是 Yes |
| p104R | 间接 ELISA ^[24] Indirect ELISA ^[24] | | 1. 主要参与 ASFV 基因组的空间组织和包装 2. 可以刺激无临床症状猪机体产生高滴度抗体 3. 可作为检测抗原 1. Primarily involved in the spatial organisation and packaging of the ASFV genome 2. Induce the production of high titers of antibodies in pigs without clinical symptoms 3. Can be used as a test antigen | 否 No |
| p10 | | LAMP ^[25] | 1. 在 ASFV 中占比较大 2. 检测灵敏度高, 结果可视化 1. A relatively large proportion of ASFV 2. High detection sensitivity and visualisation of results | 否 No |
| p17 | 间接 ELISA ^[26] Indirect ELISA ^[26] | CRISPR/ LwCas13a 侧向流试纸条 ^[27] CRISPR/ LwCas13a lateral flow strip ^[27] | 1. 参与病毒颗粒形态的构成 2. 现场便捷 ASFV 检测 1. Participated in the composition of viral particle morphology 2. Used on-site convenient testing | 否 No |

1.1 p30

p30 又称为 p32, 大小为 30 kDa, 是由 ASFV 的 *CP204L* 基因编码的重要结构蛋白^[4]。p30 在病毒感染细胞后的 2–4 h 内就可以被检测到, 并且在整个感染周期中都能被检测到^[28]; 同时具有较强的抗原性, 能够诱导机体产生强烈的体液免疫应答。该蛋白被广泛应用于血清学检测。表达时间早且诱导免疫应答能力强, 决定了将它作为诊断靶标检出 ASFV 抗体的时间相较于其他抗原较早, 是 ASF 早期诊断的重要靶标。

有大量学者致力于制备高特异性的 p30 蛋白单克隆抗体, 建立血清学诊断方法, 从而为早期诊断提供技术支撑。目前识别 ASFV p30 蛋白 12–18 aa^[3]、16–48 aa 与 122–128 aa^[4]、14–154 aa^[5]、61–93 aa^[29]、187–194 aa^[30] 和 116–125 aa^[6] 等抗原表位的单克隆抗体均有报道, 具有识别不同抗原表位的单克隆抗体逐步应用于阻断 ELISA^[4]、间接 ELISA^[6] 及胶体金免疫层析^[5] 等检测方法, 在判别 ASFV 感染方面, 不仅能够提高检测的准确度, 还可以应对大批量样品的检测需求, 也可用于现场的快速检测。

纳米 PCR 作为新型的分子生物学诊断技术, 应用于临床医学诊断已日益成熟, 基于 p30 编码基因 *CP204L* 的纳米 PCR 技术^[8] 被应用于 ASFV 检测, 经纳米材料辅助, 其灵敏性是普通 PCR 的 10 倍, 大大提高了检测的精度。ASFV 感染的快速筛查是一直以来的重点研究方向之一, Ilya 等^[9] 依托重组酶聚合酶扩增 (recombinase polymerase amplification, RPA) 技术, 开发了仅需 6 min 即可快速检测鉴别 ASFV 基因 I 型和 II 型毒株的实时 RPA 检测方法, 大大缩短了检测时间。时间分辨荧光免疫分析 (time-resolved fluorescence immunoassay, TRFIA)^[7]、生物传感器^[10] 等技术也不断应用于

ASFV 检测, 检测灵敏度与精确度的提高有助于非洲猪瘟的早期诊断工作的高效开展。

1.2 p72

p72 是 ASFV 中的一个关键结构蛋白, 主要由 *B646L* 基因编码, 其分子量为 73.2 kDa, 占病毒体总质量的 31%–33%, 在病毒感染后期才有表达^[11]; 因其抗原性强、序列保守性高, 能产生高滴度的 p72 抗体而被广泛应用于临床诊断, 是目前非洲猪瘟诊断的热门靶标之一^[31]。

迄今为止, 国内外研究学者以 ASFV p72 蛋白及其编码基因 *B646L* 作为检测靶标开展了多种检测方法的研究。其中通过对 PCR 方法的不断创新与优化, 将新型 LAN 探针与荧光定量 PCR 结合^[13], 使得检测灵敏度更高; 相较于传统的 PCR 技术, 等温扩增技术^[14] 突破了对热循环仪器的刚需, 仅需要恒温设备即可完成病毒核酸的扩增反应, 成本大大降低, 操作简便; 较荧光定量 PCR 检测时间大大缩短, 可满足现场的快速检测。

以 p72 蛋白为检测靶标的阻断 ELISA、间接 ELISA、双抗体夹心 ELISA 也应用于 ASFV 的检测。黄霞等^[32] 利用分子伴侣与 p72 进行融合表达, 成功获得了可溶性表达的 p72 蛋白, 为后续检测方法的建立提供靶标蛋白。Chen 等^[11] 使用生物素介导受体和供体珠偶联到 2 种识别不同表位的抗 p72 单克隆抗体上, 并通过发光氧通道进行信号检测, 这种基于 AlphaLISA 系统的检测方法不用洗板只需要一步就能快速观察结果, 缩短了检测时间, 并且具有较低的背景值, 使得 AlphaLISA 的信号/背景比显著高于 ELISA。Wu 等^[12] 针对 ASFV p72 蛋白, 开发了基于量子点的免疫层析试纸, 能够常温储存 12 个月; 在对临床样品检测中, 其与 PCR 和荧光定量 PCR 方法符合率较高; 在现场和实验室水平能够快速可靠地检

测 ASFV, 为现场快速检测提供有用工具。

1.3 p54

p54 是 ASFV *E183L* 基因编码的一种结构蛋白, 是 ASFV 的重要组分, 具有良好的免疫原性和高度保守的结构, 是近年来被广泛研究的 ASF 诊断的候选靶标分子。

p54 的抗原性良好, 制备出特异性高且反应性好的单克隆抗体能够为检测方法的建立提供重要的生物材料。纳米抗体作为传统抗体的替代诊断工具, 也被成功用于 ASFV 的检测; 相较于传统抗体, 纳米抗体的稳定性与穿透力更强, 具有极强的开发潜力。Zhao 等^[15]通过免疫双峰骆驼建立了纳米抗体文库, 筛选出高亲和力和高特异性的抗 ASFV p54 蛋白的纳米抗体, 以其作为探针开发了一种新型、快速、特异性和低成本的竞争 ELISA, 与商业 ELISA 试剂盒相比检测样品符合率达 98.56%。如何进行现场快速检测一直是 ASF 防控工作开展的重难点之一, 测流免疫层析技术是近年来发展迅速的一项诊断技术, 其操作简单、便于携带, Li 等^[16]利用截短的 p54 蛋白作为抗原, 与 Eu 掺杂荧光微球结合作为示踪剂, 成功建立了基于 p54 蛋白的荧光免疫层析试纸条, 是现场快速筛查工作开展的一大助力。此外, Trinh 等^[17]根据 p54 的编码基因 *E183L* 建立的实时 PCR 检测方法可以与其他基于 p72 的 ASFV 实时 PCR 检测方法联合使用, 检测快速、准确且敏感性好。多检测靶标的联合使用也成为检测方法革新的方向之一。

1.4 CD2v

CD2v 是由 ASFV 的 *EP402R* 基因编码的蛋白, 定位于病毒颗粒的最外层囊膜上, 其结构与 T 细胞表面黏附受体 CD2 相似。ASFV 可以通过 CD2v 很好地吸附在红细胞表面, 进而促进病毒的传播。随着 CD2v 蛋白结构与功能的

深入研究, 其不仅可以作为减毒疫苗的靶标, 同时其作为诊断靶标的潜力也逐步得到开发。研究人员开发了基于 CD2v 编码基因 *EP402R* 的实时重组酶辅助扩增(real-time recombinase-aided amplification, RT-RAA)检测系统, 20 min 内即可快速检测 ASFV, 不仅灵敏、高效, 而且还为基于 CD2v 基因缺失疫苗区分感染动物和接种动物(differentiating infected from vaccinated animals, DIVA)诊断提供了可能^[19]。此外, 通过多重基因联合检测能够提高检测的准确性和敏感度, 蔡晓丽等^[20]利用 p72 和 CD2v 的编码基因, 建立了 ASFV 核酸的双基因实时荧光定量 PCR 检测方法, 最低检测限可达 7.3 copies/ μ L, 增加了检测的精度。除传统的常规检测方法外, Niu 等^[18]首次将生物领域广泛应用的荧光半导体纳米粒子量子点应用于 ASFV 的检测, 成功建立了以 CD2v 为诊断抗原的量子点荧光免疫层析法, 经验证该试纸条与市售 ELISA 试剂盒符合率高达 85.92%, 为 ASF 的诊断提供新的思路和方法。

1.5 pp62

pp62 是大小为 62 kDa 的多聚体, 由 ASFV ORF *CP530R* 编码, 编码基因存在于 ASFV 基因组 *EcoRs* I 片段中^[33]。它是一种晚期蛋白, 可被 pS273R 的色氨酸蛋白酶剪切成 p35 和 p15, 参与了 ASFV 衣壳的装配与成熟^[33]。Simón-Mateo 等^[34]首次证实了 pp62 是一种位于病毒工厂中的蛋白, 多蛋白加工是其成熟的一种重要手段。目前针对 pp62 为检测靶标建立的检测方法研究较少, 主要是建立基于 pp62 编码基因 TaqMan-MGB 探针实时荧光 PCR 方法^[23]和基于 pp62 蛋白的间接 ELISA^[21]。Gallardo 等^[35]证实了 pp62 作为包被抗原建立的 ELISA 方法用于诊断 ASF 具有较好的特异性。向国庆等^[22]将管式磁微粒与化学发光抗体结合, 建立了针

对 pp62 蛋白的检测方法,能够精准定量且较好地反映样品的抗体水平。pp62 作为感染后期的一种蛋白质,在感染猪体内具有较强的免疫原性,能够诱导产生较强的特异性抗体,将其用作检测靶标,具有较高的开发潜力。

1.6 pA104R

pA104R 是 *A104R* 基因编码的一种大小为 11.6 kDa 的结构蛋白,在 ASFV 基因组的组装中起着重要作用^[36]。Gallardo 等^[37]于 2009 年通过 ELISA 评价了 p104R 的免疫原性,结果表明,ASFV 感染猪后,能够产生针对 p104R 的抗体,并且在无临床表现的情况下,其抗体效价较高,可用于血清学诊断。通过对比分析原核表达 ASFV 5 种蛋白(pA104R、pK205R、p30、pB602L 和 p72)的反应原性,王兆贵等^[24]选择了 pA104R 蛋白为最优的检测抗原,并初步建立了间接 ELISA 方法,其灵敏度和特异性均高,可用于 ASF 的诊断。同年,王露露等^[36]成功制备出 pA104R 单抗,为构建针对这一靶标的检测技术提供了生物材料。

1.7 p10

ASFV 的 *A78R* 基因编码的 p10 是一个大小为 10 kDa 的结构蛋白,具有强烈的 DNA 结合活性,对双股和单股 DNA 都有较强的亲和性,参与激活的病毒 DNA 进入宿主细胞核,并进行 DNA 包装^[38]。Wang 等^[25]率先将 p10 蛋白的编码基因作为检测靶标应用于环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)技术上,成功建立了检测限为 30 copies/ μ L 的实时 LAMP 法和目视 LAMP 法,敏感性和特异性均良好,实现了 ASFV 的高效快速检测。蛋白组学研究表明^[38],在 ASFV 中,p10 所占的比例较大,因其具有良好的免疫原性,以 p10 为靶标的血清学诊断方法也具有较好的潜力。

1.8 p17

ASFV p17 蛋白是由 *D117L* 基因编码的位于病毒内层囊膜上的跨膜蛋白,参与病毒二十面体结构的形成,大小为 13.1 kDa^[26]。p17 蛋白是重要的抗原蛋白,白晶晶等^[39]利用杆状病毒表达系统成功表达了可溶性的 p17 蛋白,制备的单克隆抗体具有良好的反应性,为后续检测方法的研究提供了重要的生物材料。Li 等^[26]采用悬浮培养系统在 CHO 细胞中表达了重组 p17 蛋白,通过建立的间接 ELISA 方法筛选出抗原识别表位保守的 6E3 单克隆抗体,具有较强的应用潜力。将 p17 应用于现场快速检测方面也有一定进展,其中 Zhang 等^[27]靶向 ASFV *D117L* 基因,建立了 CRISPR/LwCas13a 侧向流试纸条可视化的检测方法,能够实现对 ASFV 的快速直观检测,其现场适用性的优化工作还在进展当中。p17 是参与 ASFV 编码的重要蛋白,将其作为检测靶标应用的研究还相对较少,但基于现有对 p17 蛋白的研究来看,将其用于检测靶标参与 ASF 诊断技术的研发具有较强的应用前景。

2 基于 ASFV 非结构蛋白的诊断靶标

ASFV 病毒的组装除了结构蛋白外,还少不了诸多功能蛋白的参与,这些非结构蛋白还具有参与诱导凋亡、破坏凝血、病毒吸附、免疫逃逸等功能。以非结构蛋白作为 ASF 诊断靶标的研究也在逐步开展,基于非结构蛋白及其编码基因的 ELISA、TaqMan 荧光定量 PCR 和 RPA 等技术已经被应用于检测(表 2)。

2.1 pB602L

pB602L 是 ASFV ORF *B602L* 基因编码的非结构蛋白,在病毒感染后期表达。它可以与 p72 结合,封闭 p72 表面的疏水性区域,提高

表 2 应用于 ASF 诊断靶标的非结构蛋白

Table 2 Non-structural proteins used as ASF diagnostic targets

| 诊断靶标 Diagnostic target | 检测方法 Detection method | | 作为诊断靶标的优点 Advantages as a diagnostic target | 诊断靶标是否应用于商品化试剂盒 Whether the diagnostic target is used in commercial kits |
|---------------------------|----------------------------|--|---|---|
| pB602L | 血清学 Serology | 间接 ELISA ^[41] Indirect ELISA ^[41] | 1. 针对 pB602L 的抗体的早期检测靶标 2. p72 的分子伴侣, 免疫原性高 1. Early detection targets for antibodies against pB602L 2. Molecular chaperone of p72, highly immunogenic | 否 No |
| pK205R | 血清学 Serology | 间接 ELISA ^[42] Indirect ELISA ^[42] | 1. 感染初期大量表达 2. 对 ASF 的早期诊断具有重大意义 1. Expressed abundantly in the early stages of infection 2. Significant implications for early diagnosis of ASF | 否 No |
| MGF360 | 分子生物学 Molecular biology | ERA ^[43] | 1. 检测时间短, 特异性灵敏性强 1. Short detection time, high specificity and sensitivity | 是 Yes |

其可溶性, 阻止其聚集, 是 p72 的分子伴侣, 参与 ASFV 粒子二十面体装配^[40]。目前已有大量的研究者将其作为靶标, 开展 ASFV 检测方面的研究。Afayibo 等^[41]通过将 11 种 ASFV 蛋白的 B 细胞优势表位进行重组, 成功表达了重组蛋白 K3, 建立的间接 ELISA 方法与 Ingenasa 试剂盒检测临床猪血清样品时的符合率达 99%, 同时该检测方法能够识别不同感染阶段样本中的 ASFV 特异性抗体, 为 ASFV 的精确检测提供了重要的工具。也有研究人员针对 pB602L 蛋白制备了多克隆抗体^[40]和单克隆抗体^[44], 进一步验证了 pB602L 具有较好的抗原性, 为非洲猪瘟诊断方法的建立与优化提供了重要生物材料。

2.2 pK205R

pK205R 是由 ASFV ORF *K205R* 基因编码的功能蛋白, 分子量为 33 kDa, 在 ASFV 感染宿主细胞 4 h 后开始大量表达^[45]。pK205R 被鉴定为一种潜在有用的血清学诊断抗原, 用于检

测 ASFV 感染后 11 d 的 IgM 抗体^[42]; 同时通过对 pK205R 蛋白的免疫原性研究, 证实 pK205R 蛋白具有高的免疫原性, 为建立相应的血清学诊断技术打下了坚实的基础。以 pK205R 作为检测靶标的间接 ELISA 方法, 可以满足对 ASF 早发现、早确诊的需求。对 pK205R 诊断价值的挖掘工作仍在进行, 将其与其他蛋白联合用于检测或可成为研发的新方向。

2.3 多基因家族

ASFV 多基因家族蛋白是 ASFV 的重要成员, 具有决定细胞宿主范围, 影响病毒的毒力, 抑制宿主的 I 型干扰素信号通路和抗病毒活性等重要作用, 是研究非洲猪瘟病毒免疫逃避机理及疫苗研制的关键靶点, 同时也具有作为诊断靶标的潜力。ASFV 编码的多基因家族包括 MGF100、MGF110、MGF300、MGF360、MGF505、MGF530 和 p22, 已被用于 ASFV 的检测, 可应用于非洲猪瘟的基因敲除和野生毒株的鉴定等方面^[46]。同时为响应非洲猪瘟朝着快

速检测方向革新,曾宇晨等^[43]基于 MGF360/505 基因建立了酶促重组酶扩增 DNA 快速检测方法,13 min 内即可得出检测结果,特异性强,最低拷贝数检测限达 $10^2/\mu\text{L}$ 。

3 总结与展望

从 2018 年开始,非洲猪瘟一直困扰着我国的生猪产业,但至今尚无一种高效的商业疫苗,而由于非洲猪瘟的防治工作具有复杂性和长期性,短期内难以完全消除非洲猪瘟,需要进行一场旷日持久的战争。基于非洲猪瘟在中国的流行情况,两座大山正亟待攻克,一是有效的非洲猪瘟商品化疫苗制备,还有一个是非洲猪瘟病毒感染早期诊断技术的改良革新。而疫苗研发与快速诊断是当前亟待解决的关键问题。

近年来,随着非洲猪瘟诊断技术的不断革新,研究人员将目光聚焦于寻找更佳的靶标位点,以期获得更为精准、快速、方便的检测方法。ASFV 基因组复杂且编码蛋白数量众多,虽然目前已确定多种蛋白可以作为 ASF 的诊断靶标,但是仍未能完全满足 ASF 诊断的需求。Alejo 等^[47]通过质谱分析了 ASFV 颗粒的蛋白质组成,经免疫电镜及蛋白质组学分析鉴定出 68 种病毒蛋白,丰富了 ASFV 结构的信息,使得对病毒蛋白的定位有了更直观的认识。Kollnberger 等^[48]通过对病毒 cDNA 表达文库进行抗体筛选,系统地鉴定潜在的保护性血清学免疫决定因子,包括一些已有研究的结构蛋白(A104R、p10、p32、p54 和 p73)和非结构蛋白,以及一些未被报道过的蛋白(B602L、C44L、CP312R、E184L、K145R 和 K205R),其中一些蛋白在病毒感染的研究中具有重要的价值。此外,还可以通过比较基因组分析、体内诱导抗原技术(*in vivo* induced antigen technology, IVIAT)^[49]等技术助力 ASF 新诊断靶标的挖掘,

为检测方法的革新提供新思路。

建议:(1) 在传统检测方法方面,寻找更优的检测靶标位点,提高检测的灵敏度与精确度;(2) 加强适用于现场快速检测的技术开发,满足基层群众的使用;(3) 多靶标的联合使用,将优势抗原与其他相关抗原联合应用检测,对检测方法进行改良升级。

REFERENCES

- [1] WANG N, ZHAO DM, WANG JL, ZHANG YL, WANG M, GAO Y, LI F, WANG JF, BU ZG, RAO ZH, WANG XX. Architecture of African swine fever virus and implications for viral assembly[J]. *Science*, 2019, 366(6465): 640-644.
- [2] GALLARDO C, NIETO R, SOLER A, PELAYO V, FERNÁNDEZ-PINERO J, MARKOWSKA-DANIEL I, PRIDOTKAS G, NURMOJA I, GRANTA R, SIMÓN A, PÉREZ C, MARTÍN E, FERNÁNDEZ-PACHECO P, ARIAS M. Assessment of African swine fever diagnostic techniques as a response to the epidemic outbreaks in eastern European union countries: how to improve surveillance and control programs[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2015, 53(8): 2555-2565.
- [3] ZHOU JM, NI YX, WANG DD, FAN BC, ZHU XJ, ZHOU JZ, HU YY, LI L, LI B. Development of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay targeting the-p30 protein for detection of antibodies against African swine fever virus[J]. *Viruses*, 2023, 15(1): 154.
- [4] ZHOU GJ, SHI ZW, LUO JC, CAO LY, YANG B, WAN Y, WANG LJ, SONG R, MA Y, TIAN H, ZHENG HX. Preparation and epitope mapping of monoclonal antibodies against African swine fever virus P30 protein[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2022, 106(3): 1199-1210.
- [5] ZHANG XY, LIU XY, WU XD, REN WJ, ZOU YL, XIA XL, SUN HC. A colloidal gold test strip assay for the detection of African swine fever virus based on two monoclonal antibodies against P30[J]. *Archives of Virology*, 2021, 166(3): 871-879.
- [6] 马俊,王志远,梁杏玲,郑泽中,杨汉春,张桂红,王衡. 基于非洲猪瘟病毒 p30与 p54蛋白表位串联多肽的间接 ELISA 抗体检测方法的建立[J]. *畜牧兽医学报*, 2022, 53(12): 4325-4336.
MA J, WANG ZY, LIANG XL, ZHEN ZZ, YANG HC, ZHANG GH, WANG H. Development of an indirect ELISA antibodies detection method on tandem-epitope peptide of African swine fever virus p30 and p54 proteins[J]. *Acta Veterinaria Et Zootechnica Sinica*, 2022, 53(12): 4325-4336 (in Chinese).
- [7] CHEN CC, LAI HR, LIANG HK, HE Y, GUO GL, LI LQ. A new method for detection African swine fever virus: time-resolved fluorescence immunoassay[J]. *Journal of Fluorescence*, 2021, 31(5): 1291-1296.

- [8] 魏宇, 王海璐, 孙飞雁, 王楠, 孙亮, 程悦宁, 郭利. 非洲猪瘟病毒 p30 基因纳米 PCR 检测方法的建立[J]. 中国兽医科学, 2022, 52(5): 547-553.
WEI Y, WANG HL, SUN FY, WANG N, SUN L, CHENG YN, GUO L. Establishment of detection method of African swine fever virus p30 gene by nano-PCR[J]. Chinese Veterinary Science, 2022, 52(5): 547-553 (in Chinese).
- [9] ILYA T, MONOLDOROVA S, KANG SS, YUN S, BYEON HS, MARIIA N, JEON BY. Development of a real-time recombinase polymerase amplification assay for the rapid detection of African swine fever virus genotype I and II[J]. Pathogens, 2022, 11(4): 439.
- [10] HU CC, LI S, ZHOU J, WEI D, LIU XY, CHEN Z, PENG HQ, LIU X, DENG Y. *In vitro* SELEX and application of an African swine fever virus (ASFV) p30 protein specific aptamer[J]. Scientific Reports, 2024, 14(1): 4078.
- [11] CHEN DJ, WANG D, WANG CX, WEI F, ZHAO HY, LIN XM, WU SQ. Application of an AlphaLISA method for rapid sensitive detection of African swine fever virus in porcine serum[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2021, 105(11): 4751-4759.
- [12] WU YX, WANG CJ, YU JZ, MA FY, LIU J, TAN J, QU GG. Development of a quantum dots based immunochromatographic strip for rapid and on-site detection of African swine fever virus[J]. Microbial Pathogenesis, 2024, 191: 106669.
- [13] 李艳, 郭怡德, 勾红潮, 卞志标, 孙铭飞, 蔡汝健, 宋帅, 蒋智勇, 楚品品, 徐民生, 杨东霞, 李春玲. 非洲猪瘟病毒锁核酸探针荧光定量 PCR 检测方法的建立[J]. 中国兽医学报, 2021, 41(2): 208-212, 230.
LI Y, GUO YD, GOU HC, BIAN ZB, SUN MF, CAI RJ, SONG S, JIANG ZY, CHU PP, XU MS, YANG DX, LI CL. Establishment of LNA-TaqMan probe real-time PCR for detection of African swine fever virus[J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2021, 41(2): 208-212, 230 (in Chinese).
- [14] BOHORQUEZ JA, LANKA S, ROSELL R, PÉREZ-SIMÓ M, ALBERCH M, RODRIGUEZ F, GANGES L, MADDOX CW. Efficient detection of African Swine Fever Virus using minimal equipment through a LAMP PCR method[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2023, 13: 1114772.
- [15] ZHAO HJ, REN JH, WU SY, GUO HR, DU YK, WAN B, JI PC, WU YN, ZHUANG GQ, ZHANG AK, ZHANG GP. HRP-conjugated-nanobody-based cELISA for rapid and sensitive clinical detection of ASFV antibodies[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2022, 106(11): 4269-4285.
- [16] LI CF, HE XL, YANG Y, GONG WX, HUANG K, ZHANG YF, YANG Y, SUN XM, REN WJ, ZHANG Q, WU XD, ZOU Z, JIN ML. Rapid and visual detection of African swine fever virus antibody by using fluorescent immunochromatography test strip[J]. Talanta, 2020, 219: 121284.
- [17] TRINH TBN, TRUONG T, NGUYEN VT, VU XD, DAO LA, NGUYEN TL, AMBAGALA A, BABIUK S, OH J, SONG D, LE VP. Development of a novel real-time PCR assay targeting p54 gene for rapid detection of African swine fever virus (ASFV) strains circulating in Vietnam[J]. Veterinary Medicine and Science, 2021, 7(6): 2268-2272.
- [18] NIU Y, ZHANG GP, ZHOU JM, LIU HL, CHEN YM, DING PY, QI YH, LIANG C, ZHU XF, WANG AP. Differential diagnosis of the infection caused by wild-type or CD2v-deleted ASFV strains by quantum dots-based immunochromatographic assay[J]. Letters in Applied Microbiology, 2022, 74(6): 1001-1007.
- [19] WANG ZH, LI P, LIN X, JIA H, JIANG YT, WANG XJ, HOU SH. Application of portable real-time recombinase-aided amplification (rt-RAA) assay in the clinical diagnosis of ASFV and prospective DIVA diagnosis[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2021, 105(8): 3249-3264.
- [20] 蔡晓丽, 区贤斌, 李雪平. 非洲猪瘟病毒 p72 和 CD2v 双基因实时荧光定量 PCR 检测方法的建立及初步应用[J]. 动物医学进展, 2021, 42(11): 41-47.
CAI XL, OU XB, LI XP. Establishment and preliminary application of a duplex real-time PCR method for detection of African swine fever virus p72 and CD2v genes[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2021, 42(11): 41-47 (in Chinese).
- [21] ZHONG KX, ZHU MM, YUAN QC, DENG ZB, FENG SM, LIU DX, YUAN XM. Development of an indirect ELISA to detect African swine fever virus pp62 protein-specific antibodies[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2022, 8: 798559.
- [22] 向国庆, 宋帅, 温肖会, 吕殿红, 贾春玲, 牛瑞辉, 顾有方, 罗胜军. 管式磁微粒非洲猪瘟病毒 pp62 蛋白化学发光抗体检测方法的建立[J]. 微生物学通报, 2023, 50(12): 5614-5624.
XIANG GQ, SONG S, WEN XH, LV DH, JIA CL, NIU RH, GU YF, LUO SJ. A carboxylated magnetic bead-based CLIA method for detecting anti-pp62 antibody of African swine fever virus[J]. Microbiology China, 2023, 50(12): 5614-5624 (in Chinese).
- [23] 王建华, 董志珍, 赵丹, 王玉玲, 肖妍, 张俊哲, 陈小金, 王乃福, 陈本龙. 一种基于 CP530R 序列非洲猪瘟病毒 TaqMan-MGB 探针实时荧光 PCR 检测方法的建立[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016(2): 22-26.
WANG JH, DONG ZZ, ZHAO D, WANG YL, XIAO Y, ZHANG JZ, CHEN XJ, WANG NF, CHEN BL. Establishment of a TaqMan-MGB probe real-time fluorescence PCR method for detection of African swine fever virus based on CP530R gene sequences[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2016(2): 22-26 (in Chinese).
- [24] 王兆贵, 赵亚茹, 杨吉飞, 牛庆丽, 刘银光, 敬梦瑶, 杨赛霞, 吕欣倩, 刘猛, 姚永海, 关贵全, 刘志杰, 殷宏. 基于非洲猪瘟病毒 pA104R 蛋白的间接 ELISA 检测方法的建立与应用[J]. 中国兽医科学, 2021, 51(4): 403-411.
WANG ZG, ZHAO YR, YANG JF, NIU QL, LIU YG, JIN MY, YANG SX, LV XQ, LIU M, YAO YH, GUAN GQ, LIU ZJ, YIN H. Development and application of an indirect ELISA method for detection of antibody against ASFV based on pA104R protein[J]. Chinese Veterinary Science, 2021, 51(4): 403-411 (in Chinese).

- [25] WANG DG, YU JH, WANG YZ, ZHANG M, LI P, LIU M, LIU YH. Development of a real-time loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay and visual LAMP assay for detection of African swine fever virus (ASFV)[J]. *Journal of Virological Methods*, 2020, 276: 113775.
- [26] LI LW, QIAO SN, LI GX, TONG W, DONG SS, LIU JC, GUO ZQ, ZHENG HH, ZHAO R, TONG GZ, ZHOU YJ, GAO F. The indirect ELISA and monoclonal antibody against African swine fever virus p17 revealed efficient detection and application prospects[J]. *Viruses*, 2022, 15(1): 50.
- [27] ZHANG DS, JIANG S, XIA NW, ZHANG JJ, LIU AJ, DENG DF, ZHANG CY, SUN YX, CHEN NH, KANG XL, PAN ZM, ZHENG WL, ZHU JZ. Development of visual detection of African swine fever virus using CRISPR/LwCas13a lateral flow strip based on structural protein gene D117L[J]. *Veterinary Microbiology*, 2024, 293: 110073.
- [28] GÓMEZ-PUERTAS P, RODRÍGUEZ F, OVIEDO JM, BRUN A, ALONSO C, ESCRIBANO JM. The African swine fever virus proteins p54 and p30 are involved in two distinct steps of virus attachment and both contribute to the Antibody-mediated protective immune response[J]. *Virology*, 1998, 243(2): 461-471.
- [29] PETROVAN V, YUAN FF, LI YH, SHANG PC, MURGIA MV, MISRA S, ROWLAND RRR, FANG Y. Development and characterization of monoclonal antibodies against p30 protein of African swine fever virus[J]. *Virus Research*, 2019, 269: 197632.
- [30] 张冯禧, 肖琦, 朱家平, 尹力鸿, 赵霞玲, 严明帅, 徐晋花, 温立斌, 牛家强, 何孔旺. 非洲猪瘟病毒 p30蛋白单克隆抗体制备、鉴定及阻断 ELISA 方法的建立[J]. *中国农业科学*, 2022, 55(16): 3256-3266.
- ZHANG FX, XIAO Q, ZHU JP, YIN LH, ZHAO XL, YAN MS, XU JH, WEN LB, NIU JQ, HE KW. Preparation and identification of monoclonal antibodies to p30 protein and establishment of blocking ELISA to detecting antibodies against African swine fever virus[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2022, 55(16): 3256-3266 (in Chinese).
- [31] LIU Q, MA BT, QIAN NC, ZHANG F, TAN X, LEI JL, XIANG Y. Structure of the African swine fever virus major capsid protein p72[J]. *Cell Research*, 2019, 29(11): 953-955.
- [32] 黄霞, 康喜龙, 韩顺子, 孟闯, 潘志明, 焦新安. 非洲猪瘟病毒 p72蛋白可溶性表达及鉴定[J]. *动物医学进展*, 2023, 44(8): 28-33.
- HUANG X, KANG XL, HAN SZ, MENG C, PAN ZM, JIAO XA. Soluble expression and identification of African swine fever virus p72 protein[J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2023, 44(8): 28-33 (in Chinese).
- [33] ANDRÉS G, ALEJO A, SALAS J, SALAS ML. African swine fever virus polyproteins pp220 and pp62 assemble into the core shell[J]. *Journal of Virology*, 76(24): 12473-12482.
- [34] SIMÓN-MATEO C, ANDRÉS G, ALMAZÁN F, VIÑUELA E. Proteolytic processing in African swine fever virus: evidence for a new structural polyprotein, pp62[J]. *Journal of Virology*, 1997, 71(8): 5799-5804.
- [35] GALLARDO C, BLANCO E, RODRÍGUEZ JM, CARRASCOSA AL, SANCHEZ-VIZCAINO JM. Antigenic properties and diagnostic potential of African swine fever virus protein pp62 expressed in insect cells[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2006, 44(3): 950-956.
- [36] 王露露, 皇甫皓月, 席飞, 张振江, Weldu Tesfagaber, 张纪文, 黄炼榆, 李芳, 步志高, 赵东明. 非洲猪瘟病毒 pA104R 蛋白单克隆抗体的制备与应用[J]. *中国预防兽医学报*, 2021, 43(11): 1214-1218.
- WANG LL, HUANGFU HY, XI F, ZHANG ZJ, TESFAGABER W, ZHANG JW, HUANG LY, LI F, BU ZG, ZHAO DM. Preparation and application of monoclonal antibodies against pA104R protein of African swine fever virus[J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2021, 43(11): 1214-1218 (in Chinese).
- [37] GALLARDO C, REIS AL, KALEMA-ZIKDASOKA G, MALTA J, SOLER A, BLANCO E, PARKHOUSE RME, LEITÃO A. Recombinant antigen targets for serodiagnosis of African swine fever[J]. *Clinical and Vaccine Immunology*, 2009, 16(7): 1012-1020.
- [38] 陈蓉, 赵琳, 王婉, 谢星, 王菁菁, 郝飞, 白昀, 张磊, 袁厅, 熊琪琰, 邵国青, 赵东明, 冯志新. 非洲猪瘟病毒亲核结构蛋白 p10可溶性表达及多克隆抗体制备[J]. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2021, 42(6): 42-47.
- CHEN R, ZHAO L, WANG W, XIE X, WANG JJ, HAO F, BAI Y, ZHANG L, YUAN T, XIONG QY, SHAO GQ, ZHAO DM, FENG ZX. Soluble expression of nucleophilic structural protein p10 from African swine fever virus and preparation of polyclonal antibodies[J]. *Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition)*, 2021, 42(6): 42-47 (in Chinese).
- [39] 白晶晶, 宋欢欢, 白晨雨, 郝丽影, 颜世君, 杜萌萌, 李向东, 邓均华, 田克恭. 非洲猪瘟病毒 p17蛋白单克隆抗体的制备与鉴定[J]. *河南农业科学*, 2020, 49(12): 137-143.
- BAI JJ, SONG HH, BAI CY, HAO LY, YAN SJ, DU MM, LI XD, DENG JH, TIAN KG. Preparation and identification of monoclonal antibodies against African swine fever virus p17 protein[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2020, 49(12): 137-143 (in Chinese).
- [40] 杨扬, 张妍, 张俊杰, 管志欣, 李昱昊, 孙卿, 李宗杰, 李蓓蓓, 刘珂, 邵东华, 邱亚峰, 马志永, 魏建超. 非洲猪瘟病毒 B602L 蛋白在杆状病毒表达系统中的表达及多抗制备[J]. *畜牧与兽医*, 2022, 54(9): 66-70.
- YANG Y, ZHANG Y, ZHANG JJ, GUAN ZX, LI YH, SUN Q, LI ZJ, LI BB, LIU K, SHAO DH, QIU YF, MA ZY, WEI JC. Expression of African swine fever virus B602L protein in the baculovirus expression system and preparation of polyclonal antibodies[J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2022, 54(9): 66-70 (in Chinese).
- [41] AFAYIBO DJA, ZHANG ZH, SUN HL, FU JS, ZHAO YR, AMUDA TO, WU ML, DU JZ, GUAN GQ, NIU QL, YANG JF, YIN H. Establishment of an ELISA

- based on a recombinant antigenic protein containing multiple prominent epitopes for detection of African swine fever virus antibodies[J]. *Microorganisms*, 2024, 12(5): 943.
- [42] REIS AL, PARKHOUSE RME, PENEDOS AR, MARTINS C, LEITÃO A. Systematic analysis of longitudinal serological responses of pigs infected experimentally with African swine fever virus[J]. *The Journal of General Virology*, 2007, 88(Pt 9): 2426-2434.
- [43] 曾宇晨, 龚浪, 王京煜, 潘昊鸣, 梁杏玲, 马俊, 张桂红, 王衡. 基于 B646L、EP402R、MGF360/505 基因的非洲猪瘟病毒 ERA 检测方法的建立[J]. *华南农业大学学报*, 2021, 42(5): 33-40.
- ZENG YC, GONG L, WANG JY, PAN MH, LIANG XL, MA J, ZHANG GH, WANG H. Development of ERA detection method for African swine fever virus based on B646L, EP402R and MGF360/505 genes[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2021, 42(5): 33-40 (in Chinese).
- [44] 黄甜, 王彦伟, 曹红梅, 郝丽影, 邓均华, 田克恭. 非洲猪瘟病毒 pB602L 蛋白单克隆抗体的制备与鉴定[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2021(11): 88-92.
- HUANG T, WANG YW, CAO HM, HAO LY, DEN JH, TIAN KG. Preparation and characterization of monoclonal antibody to pB602L protein of African swine fever virus[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2021(11): 88-92 (in Chinese).
- [45] GUTIÉRREZ-CASTAÑEDA B, REIS AL, CORTEYN A, PARKHOUSE RM, KOLLNBERGER S. Expression, cellular localization and antibody responses of the African swine fever virus genes B602L and K205R[J]. *Archives of Virology*, 2008, 153(12): 2303-2306.
- [46] 曾喻兵, 李飞, 朱玲, 徐志文. 非洲猪瘟病毒多基因家族研究进展[J]. *病毒学报*, 2021, 37(4): 957-963.
- ZENG YB, LI F, ZHU L, XU ZW. Research advances in multigene families of the African swine fever virus[J]. *Chinese Journal of Virology*, 2021, 37(4): 957-963 (in Chinese).
- [47] ALEJO A, MATAMOROS T, GUERRA M, ANDRÉS G. A proteomic atlas of the African swine fever virus particle[J]. *Journal of Virology*, 2018, 92(23): e01293-18.
- [48] KOLLNBERGER SD, GUTIERREZ-CASTAÑEDA B, FOSTER-CUEVAS M, CORTEYN A, PARKHOUSE RME. Identification of the principal serological immunodeterminants of African swine fever virus by screening a virus cDNA library with antibody[J]. *The Journal of General Virology*, 2002, 83(Pt 6): 1331-1342.
- [49] 周洁, 赵飞骏. 体内诱导抗原技术筛选病原菌体内诱导抗原的研究进展[J]. *微生物学免疫学进展*, 2023, 51(3): 69-76.
- ZHOU J, ZHAO FJ. Review of *in vivo* induced antigens of pathogenic bacteria screened by IVIAT[J]. *Microbiology and Immunology*, 2023, 51(3): 69-76 (in Chinese).