

## **PHÂN TÍCH GEN M MÃ HOÁ PROTEIN MÀNG CỦA VIRUS GÂY BỆNH "TAI XANH" TẠI VIỆT NAM VÀ SO SÁNH VỚI CÁC CHỦNG CỦA TRUNG QUỐC VÀ THẾ GIỚI**

### **Genetic Features of The M Gene of The "Blue Ear" Causing Virus in Vietnam and Comparative Analysis with The Strains of Chinese and Global Origins**

Lê Thanh Hòa<sup>1</sup>, Lê Thị Kim Xuyên<sup>1</sup>, Đoàn Thị Thanh Hương<sup>1</sup>,  
Trần Quang Vui<sup>2</sup>, Phạm Công Hoạt<sup>3</sup> và Nguyễn Bá Hiên<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Viện Công nghệ Sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

<sup>2</sup>*Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế*

<sup>3</sup>*Bộ Khoa học và Công nghệ*

<sup>4</sup>*Khoa Thú y, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội*

#### **TÓM TẮT**

Toàn bộ chuỗi gen M của chủng virus gây bệnh "tai xanh" phân lập từ lợn bệnh tại Quảng Nam (Việt Nam) năm 2007, ký hiệu TXMT1 (VN), có độ dài 525 bp đã được thu nhận và giải trình tự. Thành phần nucleotide, amino acid gen M của chủng TXMT1 được sử dụng để phân tích và so sánh đồng nhất về nucleotide và tương đồng về amino acid giữa chủng này với một số chủng của Trung Quốc phân lập trong các năm 2006 - 2008 và thế giới. Chủng TXMT1 (Việt Nam) được xác định thuộc virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (PRRSV), type II (dòng Bắc Mỹ), có tỷ lệ đồng nhất (identity) về thành phần nucleotide và tỷ lệ tương đồng (homology) về amino acid rất cao (99-100%) với các chủng của Trung Quốc; thấp hơn (94% nucleotide; 96% amino acid) so với chủng VR2332 và rất thấp (69% nucleotide; 79% amino acid) so với chủng Lelystad. Chủng TXMT1 chỉ có 2 - 3 vị trí sai khác nucleotide với các chủng Trung Quốc, trong khi đó có đến 28 so với chủng VR2332 cổ điển (type II, dòng Bắc Mỹ) và rất nhiều so với các chủng châu Âu (type I). Sai khác V (valine)/I (isoleucine) ở vị trí 24 của chuỗi polypeptide M là nét đặc trưng giữa chủng TXMT1 với tất cả các chủng thuộc dòng Bắc Mỹ và châu Âu. Đặc tính gen M cho thấy, chủng TXMT1 của Việt Nam có biến đổi di truyền cao, có thể có cùng nguồn gốc phát sinh cùng với các chủng PRRSV của Trung Quốc, dẫn đến suy đoán, tác nhân gây PRRS cường độc cao này có tại Việt Nam rất có thể là do từ Trung Quốc vào.

Từ khoá: Dòng, đồng nhất, gen M (membrane), Tai xanh, thành phần nucleotide/amino acid, tương đồng.

#### **SUMMARY**

The entire M (membrane) gene of 525 bp of a porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolate collected from a pig in Quang Nam province (Vietnam), designated as TXMT1(VN) was obtained and completely sequenced. The nucleotide, amino acid of the M sequence of TXMT1 was used to analyze for identity/homology between this isolate and a number of Chinese (isolated during 2006-2008) and global strains. The TXMT1 (Vietnam) was identified as a strain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), type II (North America sublineage), having very high rate of identity for nucleotide (99-100%) and homology for amino acid (99-100%) to the Chinese, low rate (94% nucleotide; 96% amino acid) to VR2332; and lower rate (69% nucleotide; 79% amino acid) to Lelystad strain of PRRSV. The TXMT1 has only 2-3 nucleotides different from the Chinese, whilst 28 nucleotides to the classical VR2332 (type II, North America sublineage) and many to the strains of the European sublineage (type I). The variation of V(valine)/I(isoleucine) at the position 24 in the polypeptide M is a characteristic marker between the TXMT1 and the other PRRSV of North American and European sublineages. Characterization of the M gene revealed that the TXMT1 has high rate of genetical variation, probably belongs to the same origin as the PRRSV in China, suggesting that this highly virulent agent may be transmitted from China.

Key words: "Blue Ear", M gene (membrane), sublineage, identity, homology.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (PRRS, Porcine reproductive and respiratory syndrome), tại Việt Nam còn gọi là bệnh "tai xanh" là bệnh truyền nhiễm nguy hiểm, lây lan nhanh và làm chết nhiều lợn nhiễm bệnh (Meng, 2000). Mặc dù virus PRRS đã xâm nhập vào Việt Nam năm 1996 từ đàn lợn giống 51 con nhập từ Mỹ, nhưng trong khoảng 10 năm, từ cuối 1996 đến đầu năm 2007, không có các thông báo về bệnh lâm sàng hoặc thiệt hại trực tiếp do virus này gây ra (Tô Long Thành, 2007), mà chỉ có thống kê về trường hợp dương tính PRRS của một số mẫu khi kiểm tra 478 huyết thanh của lợn tại Cần Thơ (Kamakawa và cs., 2006). Cuối tháng 2/2007, bệnh xảy ra trên các đàn lợn tại Hải Dương, được Trung tâm Chẩn đoán Thú y trung ương xác nhận nguyên nhân gây bệnh là virus gây Hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (PRRSV) bằng kỹ thuật RT - PCR và xác nhận PRRSV độc lực cao, qua cộng tác và hợp tác nghiên cứu với Trung Quốc và Mỹ (Tô Long Thành, 2007; Tô Long Thành và cs., 2008; Feng và cs., 2008). Tháng 3 năm 2008, bệnh tiếp tục phát ra ở Thanh Hoá và Hà Tĩnh, đến 7/2008 lây lan 17 tỉnh kể cả các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long, gây thiệt hại nặng nề cho ngành chăn nuôi lợn trong cả nước (Đậu Ngọc Hào và cs., 2008). PRRSV phân lập tại Việt Nam trong năm 2007, được xác định là loại có độc lực cao, có đến trên 99% đồng nhất (identity) với các chủng của Trung Quốc (Feng và cs., 2008).

Nguyên nhân gây bệnh do một loại *Arterivirus* (virus PRRS), họ *Arteriviridae*, thuộc bộ *Nidovirales* (Cavanagh, 1997). PRRSV là loại virus có vỏ bọc bên ngoài, có cấu trúc hệ gen là ARN sợi đơn dương, có tính thích ứng nhân lên rất cao với đại thực bào, đặc biệt là đại thực bào phế nang hoạt động ở phổi (Gorbalenya, 2006). Trong cơ thể

lợn bệnh, sự phá hủy đại thực bào làm giảm về số lượng và chức năng, dẫn đến suy giảm miễn dịch, nếu qua khỏi cũng rất khó lấy lại cân bằng miễn dịch (Drew, 2000). Dựa vào kiểu gen (genotype), PRRSV được chia làm hai loại: kiểu gen châu Âu (type I), đại diện tương ứng là chủng Lelystad (LV) và kiểu gen Bắc Mỹ (type II), đại diện tương ứng là chủng VR2332. Tuy bố trí sắp xếp gen giống nhau, nhưng đặc tính gen và hệ gen, độ dài các gen và đặc tính sinh học (tính gây bệnh và kháng nguyên - miễn dịch) của các chủng thuộc 2 dòng PRRS này có khác nhau (Meulenberg và cs., 1997; Meng, 2000; Tian và cs., 2007). Tổng độ dài của hệ gen của chủng virus VR2332 phân lập tại Mỹ (số đăng ký: AY150564) thuộc genotype 2, đại diện dòng Bắc Mỹ là 15451 bp, trong đó phần mã hoá sử dụng cho 7 khung đọc mở là 15071 bp (Nielsen và cs., 2003). Hệ gen của virus PRRS chủng GD (Quảng Đông) (số đăng ký: EU109503) đại diện cho một nhóm PRRS mới phân lập gần đây có độc lực rất cao ở Trung Quốc, cũng thuộc genotype 2, dòng Bắc Mỹ, có độ dài là 15353 bp, trong đó phần mã hoá sử dụng cho 7 khung đọc mở là 14981 bp (Tian và cs., 2007; Zhou và cs., 2008).

Hệ gen của PRRSV là một khung đọc mở bao gồm: ORF1a - ORF1b - GP2-3-4-5 - ORF6 (M) - ORF7(N), trong đó, ORF1a và ORF1b là các gen mã hoá RNA polymerase, GP2-3-4 là các gen mã hoá protein chức năng, GP5 (hay E) là glycoprotein vỏ ngoài, M là protein màng và N là protein cấu trúc nucleocapsid. Các gen sau sử dụng một phần cuối chuỗi nucleotide của gen trước làm promoter hoạt động (Meulenberg và cs., 1997; Meng, 2000). GP2-3-4-5 là các protein được glycosyl hoá, còn protein M và N (do ORF6 và ORF7 qui định mã hoá) là những protein nội màng virus, không được glycosyl hóa, nhưng có tính kháng nguyên và có mức độ bảo tồn cao trong số các protein của virus (Meulenberg

và cs., 1997). Gen M có độ dài chênh lệch, 522 bp ở Lelystad (LV) thuộc type I (châu Âu); 525 bp ở VR2332 thuộc type II (Bắc Mỹ). Giải trình tự một phần, hoặc từng gen riêng biệt, hoặc toàn bộ hệ gen, đặc biệt là vùng gen chức năng và cấu trúc [GP2-3-4-5-M-N], để phân tích một số đặc điểm phân tử là cần thiết đặc biệt góp phần cung cấp thông tin về sự tiến hóa và nguồn gốc của virus PRRS đang lưu hành ở Việt Nam và thế giới (Ansari và cs., 2006; Feng và cs., 2008; Tô Long Thành và cs., 2008).

Trong bài báo này, chúng tôi cung cấp số liệu về gen M thu nhận từ một chủng cường độc gây bệnh “tai xanh” phân lập năm 2007, tại một tỉnh miền Trung Việt Nam, bao gồm phân tích thành phần gen và so sánh mức độ tương đồng với một số chủng có nguồn gốc Trung Quốc và thế giới.

## 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Bệnh phẩm và tách chiết RNA hệ gen của virus

Bệnh phẩm là mẫu phế quản chứa virus cường độc tai xanh thu thập từ lợn bệnh trong vụ dịch giữa năm 2007 tại Quảng Nam (ký hiệu chủng: TXMT1), bảo quản ở -20°C, trước khi xử lý tách chiết RNA tổng số.

Xử lý bệnh phẩm: Cắt một mẫu nhỏ (~1 mg), nghiền trong nitor lỏng tạo nên huyền dịch tế bào nhiễm. RNA hệ gen của virus được tách chiết bằng bộ sinh phẩm QIAamp Viral Mini kit (QIAGEN Inc.), theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.2. Thiết kế mồi, thực hiện RT-PCR và thu nhận chuỗi gen M

Cặp mồi (T X 3 F: 5' A G G T G G C A A C C G T T T T A G 3'; mồi ngược T X G PR: 5' T T T C T G C C A C C C A A C A C G A G 3') được thiết kế dựa trên phân tích trình tự của tất cả các chủng PRRSV có trong Ngân hàng

gen, dùng cho phản ứng RT-PCR thu nhận một phần gen có độ dài khoảng 1,1 kb, bao gồm toàn bộ gen GP5 (ORF5) và M (ORF6) (Hình 1).

Chúng tôi thực hiện 2 bước:

*Bước i)* Thu nhận DNA bổ sung (cDNA) với cặp mồi TX3F-TXGPR, theo chu trình nhiệt là 50°C/30 phút, 95°C/15 phút, 35 chu kỳ [94°C/15 giây, 50°C/30 giây, 72°C/2 phút], 72°C/10 phút.

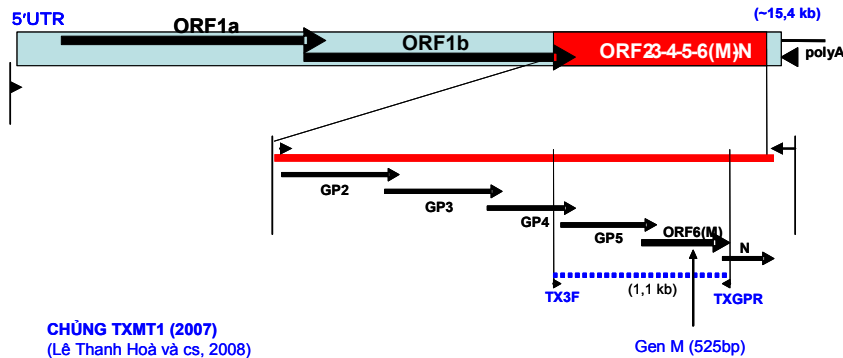
*Bước ii)* Thu nhận sản phẩm PCR ngay sau đó, tức là lấy 2 µl này tiếp tục làm khuôn thực hiện phản ứng PCR với cặp mồi trên theo chu trình nhiệt là 94°C/5 phút, 40 chu kỳ [94°C/1 phút, 50°C/1 phút, 72°C/2 phút], 72°C/10 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra trên agarose 1%, tinh sạch bằng bộ kit QIAquick Purification kit (QIAGEN Inc.) và dòng hoá vào vector pCR2.1TOPO (Invitrogen).

### 2.3. Giải trình trình tự và phân tích số liệu so sánh tương nucleotide và amino acid

Trình tự nucleotide DNA của plasmid được giải trình trên máy tự động ABI-3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems) tại Viện Công nghệ sinh học. Chuỗi nucleotide được xử lý bằng chương trình SeqEd1.03, AssemblyLIGN1.9 và hệ chương trình MacVector8.2 (Accelrys Inc.) trên máy tính Macintosh. Thành phần amino acid được thu nhận bằng cách sử dụng bộ mã của vi sinh vật bậc thấp (vi khuẩn) trong Ngân hàng gen. So sánh đối chiếu, xử lý số liệu các chuỗi để xác định mức độ tương đồng bằng chương trình GENEDOC2.5.

Trình tự chuỗi nucleotide và amino acid suy diễn của gen M từ chủng TXMT1 (Việt Nam) được so sánh và phân tích với gen M tương ứng của một số chủng đã công bố trong Ngân hàng gen (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

**SƠ ĐỒ GIẢI MÃ GEN/HỆ GEN CỦA VIRUS GÂY BỆNH TAI XANH (PRRS)  
PHÂN LẬP TẠI VIỆT NAM**



Hình 1. Sơ đồ giải mã hệ gen/vùng gen mã hoá protein chức năng của virus PRRS

**3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1. So sánh thành phần nucleotide của gen M chủng TXMT1 với một số chủng thế giới**

Để nghiên cứu cụ thể hơn mức độ biến đổi thành phần nucleotide của gen M và thành phần amino acid do gen đó mã hoá ở chủng TXMT1, một số chủng virus PRRS đăng ký được chọn lựa trong Ngân hàng gen, bao gồm 7 chủng PRRS phân lập ở Trung Quốc và 4 chủng Bắc Mỹ, châu Âu. Kết quả so sánh thành phần nucleotide của gen M chủng TXMT1 với gen tương ứng của các chủng PRRS trên thế giới (Hình 2) cho thấy:

- Gen M của chủng TXMT1 (525 nucleotide) có cùng độ dài với các chủng phân lập từ Trung Quốc và Bắc Mỹ, nhưng nhiều hơn 3 nucleotide, đúng bằng một bộ ba mã hoá, ở gen tương ứng của các chủng phân lập thuộc dòng châu Âu (chỉ có 522 nucleotide).

- Gen M chủng TXMT1 của Việt Nam chỉ có sai khác 2 nucleotide ở vị trí 70 (G ↔ A) và 75 (T ↔ C), khi so sánh với trình tự tương ứng với các chủng Trung Quốc (Henan1(CN); HPBEDV(CN); HuN(CN);

LN(CN); ShanDong-3(CN); SY0608(CN); JXA1(CN). Riêng chủng ShanDong-3(CN) có thêm một sai khác ở vị trí 124 (C ↔ T). Hay nói cách khác, mức độ đồng nhất nucleotide của chủng TXMT1 (Việt Nam) với các chủng Trung Quốc là rất cao (trên 99%).

- So sánh với chủng VR2332 (thuộc dòng Bắc Mỹ), chủng TXMT1 (Việt Nam) có đến 28 nucleotide sai khác ở các vị trí: 12, 13, 18, 27, 28, 39, 48, 69,70, 75, 100, 108, 150, 165, 183, 188, 196, 201, 209, 252, 268, 350, 362, 363, 365, 455, 491, 512 (Hình 2). Như vậy, cùng với các chủng Trung Quốc, chủng TXMT1 (Việt Nam) có mức độ sai khác nucleotide rất cao so với chủng VR2332, đại diện đặc trưng của dòng Bắc Mỹ, điều này phù hợp với nhận xét của các tác giả Trung Quốc khi phân tích gen và độc lực gây bệnh của PRRS xuất hiện 2006-2008 tại Trung Quốc và Việt Nam (Tian và cs, 2007; Zhou và cs, 2008; Feng và cs, 2008).

- So sánh với các chủng châu Âu, bao gồm DV(AUT); Olot-91(SP); Lelystad(NL), mặc dù gen M là gen có tính bảo tồn cao của PRRSV, nhưng thành phần nucleotide ở gen M chủng TXMT1 của Việt Nam có sự khác biệt ở rất nhiều vị trí, làm cơ sở ngoại trừ hoàn toàn TXMT1 là chủng nhiễm lần của PRRS châu Âu vào Việt Nam (Hình 2).



Như vậy, về thành phần nucleotide, gen M (ORF6) chủng TXMT1 của Việt Nam có sự tương đồng cao với gen tương ứng của các chủng phân lập từ Trung Quốc (type II), ít hơn so với gen tương ứng của chủng VR2332 (Bắc Mỹ) và khác biệt rõ rệt với gen M của các chủng phân lập ở châu Âu (type I).

### 3.2. So sánh thành phần amino acid của gen M chủng TXMT1 với một số chủng thế giới

Từ kết quả so sánh thành phần nucleotide, chúng tôi tiến hành so sánh thành phần amino acid tương ứng do đoạn gen này qui định mã hoá (sử dụng bộ mã của vi khuẩn bậc thấp - bacterial code, có trong Ngân hàng gen). Kết quả so sánh trình tự amino acid được trình bày ở hình 3, cho thấy:

- Chuỗi polypeptide của gen M chủng TXMT1 có độ dài là 174 amino acid giống như độ dài trình tự polypeptide của gen M ở tất cả các chủng PRRSV phân lập từ Trung Quốc và VR2332, nhưng nhiều hơn 1 amino acid so với các chủng phân lập từ Châu Âu (chỉ có 173 amino acid).

- Có sự tương đồng cao về trình tự amino acid của chuỗi polypeptide M chủng TXMT1 với các chủng (Henan1 (CN); HPBEDV (CN); HuN (CN); LN (CN); ShanDong-3 (CN); SY0608 (CN); JXA1 (CN) phân lập từ Trung Quốc, chỉ sai khác duy nhất một amino acid ở vị trí 24 (V↔D). Đặc biệt, sai khác V(valine)/I(isoleucine) ở vị trí 24 này cũng là nét đặc trưng giữa chủng TXMT1 với tất cả các chủng thuộc dòng Bắc Mỹ và châu Âu (Hình 3).

- Chủng TXMT1 của Việt Nam có sự khác biệt 6 amino acid so với chuỗi polypeptide M tương ứng của chủng gốc Bắc Mỹ (VR2332) ở các vị trí: 10 (N↔H); 24 (V↔D); 63 (V↔A); 66 (E↔Q); 70 (R↔K); 121 (A↔R), trong khi đó, sự khác biệt amino acid

của chuỗi M chủng TXMT1 với chuỗi tương ứng của các chủng phân lập từ châu Âu thì rất rõ rệt (Hình 3).

Như vậy, về thành phần amino acid, chuỗi polypeptide của gen M chủng TXMT1 của Việt Nam có sự tương đồng cao với trình tự của chuỗi tương ứng ở các chủng phân lập từ Trung Quốc (type II), ít hơn so với chuỗi tương ứng của chủng VR2332 (Bắc Mỹ) và khác biệt rõ rệt với chuỗi polypeptide M của các chủng phân lập ở châu Âu (type I). Đặc biệt so với các chủng của Trung Quốc, chủng TXMT1 của Việt Nam có sự tương đồng cao nhất (chỉ sai khác 1 amino acid). Kết quả này cũng phù hợp với kết quả phân tích so sánh về thành phần nucleotide của gen M (ORF6) đã phân tích ở trên.

Xét về thành phần nucleotide và amino acid, hoàn toàn dựa vào dữ liệu gen, cũng giống như các chủng của Trung Quốc, chủng TXMT1, tuy thuộc dòng Bắc Mỹ, nhưng đã có biến đổi rất lớn so với chủng VR2332 cổ điển.

### 3.3. Mức tương đồng nucleotide và amino acid giữa các chủng virus PRRS được so sánh

Mức độ đồng nhất (identity) về nucleotide và tương đồng (homology) về amino acid giữa các chủng virus PRRS so sánh (gồm 12 chủng) được trình bày ở Bảng 1. Kết quả cho thấy, qua so sánh 525 nucleotide (tương ứng với 174 amino acid), chủng TXMT1 có tỷ lệ đồng rất cao về nucleotide (99 - 100%), và tương đồng về amino acid (99 - 100%) với 7 chủng phân lập ở Trung Quốc trong các năm 2006 - 2007. Với chủng VR2332 cổ điển (Bắc Mỹ), mức độ này thấp hơn (94 - 95% về nucleotide và 96 - 97% về amino acid). Khi so sánh với một số chủng của châu Âu (phân lập ở Áo, Tây Ban Nha và chủng cổ điển châu Âu, Lelystad của Hà Lan), thì mức độ còn thấp hơn rất nhiều, chỉ 69 - 70% (đối với nucleotide) và 78 - 81% (đối với amino acid) (Bảng 1).

```

*      20      *      40      *      60      *      80      *
TXMT1-ORF6 : MGSSLDLDFCNDSTAPQKVLAF$VITYTPVMIVALKVSRGRLLGLLHLLIFLNCAFTFGYMTFVHFESTNRVALTMGAVVALLWGVYSALIE : 90
Henan1 (CN) : .....I..... : 90
HPBEDV (CN) : .....I..... : 90
HuN (CN)-OR : .....I..... : 90
LN (CN)-ORF : .....I..... : 90
ShanDong-3 : .....I..... : 90
SY0608 (CN) : .....I..... : 90
JXA1 (CN)-O : .....I..... : 90
VR2332 (ATC) : .....H.....A..Q..K..... : 90
DV (Aut)-OR : ..G-.....PI.A..LV.....I.....I.....I.....S.....Y..Q.....L.....FT. : 89
Olot-91 (SP) : ..-.....A..LV.....I.....I.....I.....S.....Y..Q.....L.....FT. : 89
Lelystad (N) : ..G-.....PI.A..LV.....I.....I.....I.....S.....Y..Q.....L.....FT. : 89

100      *      120      *      140      *      160      *
TXMT1-ORF6 : TWKFTISRCRLCLLGRKYLLAPAHHVESAAGFHPPIAANDNHAFVVRPSTTVNGTLVPLGLKSLVLGGRKAVKQGVVNLVKYAK : 174
Henan1 (CN) : ..... : 174
HPBEDV (CN) : ..... : 174
HuN (CN)-OR : ..... : 174
LN (CN)-ORF : ..... : 174
ShanDong-3 : ..... : 174
SY0608 (CN) : ..... : 174
JXA1 (CN)-O : ..... : 174
VR2332 (ATC) : .....R..... : 174
DV (Aut)-OR : S.....C.....R.....L.S.S.SG.R.YA..K..L.S.....R.....KR..R.....GR : 173
Olot-91 (SP) : S...V.....C.....R.....L.S.P.SG.R.YA..K..L.S.....R.....KR..R.....GR : 173
Lelystad (N) : S.....C.....R.....L.S.S.SG.R.YA..K..L.S.....R.....KR..R.....GR : 173
    
```

**Hình 3. So sánh đối chiếu trình tự amino acid của gen M chủng TXMT1 (Việt Nam) với các chủng của Trung Quốc (type II, Bắc Mỹ) và một số chủng châu Âu (type I)**

Ghi chú: dấu (.) biểu thị giống với trình tự amino acid tương ứng với TXMT1, sự sai khác về amino acid của các chủng tiếp theo được thể hiện bằng các chữ cái ký hiệu của chúng. Sai khác V(valine)/I(isoleucine) giữa chủng TXMT1 với tất cả các chủng thuộc dòng Bắc Mỹ và châu Âu được đóng khung dọc

**Bảng 1. Tỷ lệ (%) tương đồng về thành phần nucleotide (trên đường chéo); amino acid (dưới đường chéo) của gen M chủng TXMT1 (Việt Nam) với một số chủng virus PRRS của thế giới**

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	TXMT1 (VN)		99	99	99	99	99	99	99	94	69	69	69
2	Henan1 (CN)	99		100	100	100	99	100	100	95	70	70	69
3	HPBEDV (VN)	99	100		100	100	99	100	100	95	70	70	69
4	HuN (CN)	99	100	100		100	99	100	100	95	70	70	69
5	LN (CN)	99	100	100	100		99	100	100	95	70	70	69
6	ShanDong-3 (CN)	99	100	100	100	100		99	99	94	69	69	69
7	SY0608 (CN)	99	100	100	100	100	100		100	95	70	70	69
8	JXA1 (CN)	99	100	100	100	100	100	100		97	70	70	69
9	VR2332 (USA)	96	97	97	97	97	97	97	95		68	69	68
10	DV (AUT)	79	70	79	79	79	79	79	79	78		69	99
11	Olot (SP)	80	81	81	81	81	81	81	81	81	100		96
12	Lelystad (NL)	79	79	79	79	79	79	79	79	79	97	97	

Chú thích: 1. TXMT1(VN); 2. Henan1(CN); 3. HPBEDV(VN); 4. HuN(CN); 5. LN(CN); 6. ShanDong-3(CN); 7. SY0608(CN); 8. JXA1(CN); 9.VR2332(USA); 10. DV(AUT); 11. Olot(SP); 12. Lelystad(NL). VN: Việt Nam; CN: Trung Quốc; USA: Mỹ; AUT: Autria; SP: Tây Ban Nha; NL: Hà Lan. Phần đóng khung cho thấy mức độ tương đồng rất cao giữa 8 chủng Việt Nam và Trung Quốc.

Không có sự sai khác nhiều về nucleotide và amino acid giữa chủng TXMT1 và các chủng phân lập ở Trung Quốc (2 vị trí về nucleotide và chỉ một vị trí về amino acid). Như vậy, rõ ràng gen M nói riêng và có thể hệ gen nói chung của chủng TXMT1 và các chủng Trung Quốc đã có sự tiến hoá xa hơn rất nhiều so với chủng gốc VR2332 (cổ điển) thuộc dòng Bắc Mỹ và hoàn toàn khác hẳn so với các chủng phân lập ở châu Âu. Nhiều tác giả chứng minh rằng PRRSV phân lập 2007 - 2008 tại Việt Nam có mức độ đồng nhất trên 99% với các chủng độc lực cao mới xuất hiện tại Trung Quốc và cho rằng, tác nhân gây PRRS có tại Việt Nam rất có thể là do các chủng PRRSV từ Trung Quốc tràn sang (Feng và cs., 2008; Tô Long Thành và cs., 2008). Với TXMT1, việc xác định chủng này có cùng nhóm có độc lực cao của Trung Quốc và Việt Nam (2007 - 2008) hay không, cần thiết phân tích toàn bộ hệ gen hoặc ít nhất là vùng gen mã hoá protein chức năng và cấu trúc GP2-3-4-5-M-N (Feng và cs., 2008).

Kết quả trên cũng chứng tỏ rằng, chủng TXMT1 có thể có chung nguồn gốc phát sinh chủng loại với các chủng PRRSV của Trung Quốc, mặc dù có thể cùng nguồn gốc di truyền với chủng gốc Bắc Mỹ (type II), nhưng rõ ràng khác xa nguồn gốc phát sinh chủng loại với các chủng châu Âu (type I) khi so sánh mức độ tương đồng của gen M.

#### 4. KẾT LUẬN

Toàn bộ chuỗi gen M của chủng virus gây bệnh "tai xanh" phân lập tại Quảng Nam (Việt Nam) năm 2007, ký hiệu TXMT1 (VN), có độ dài 525 bp đã được giải trình trình tự, được xác định thuộc virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (PRRSV), type II (dòng Bắc Mỹ), có thành phần nucleotide, amino acid và mức độ tương đồng rất cao (99 - 100%) với các chủng của Trung Quốc, phân lập trong các năm 2006 - 2008, nhưng thấp hơn rất nhiều so với

các chủng thuộc type I (dòng châu Âu). Gen M chủng TXMT1 của Việt Nam có mức độ biến đổi di truyền cao với các chủng type I, nhưng đồng nhất cao về nucleotide và tương đồng amino acid với các chủng của Trung Quốc, từ đó cho thấy, có thể có cùng nguồn gốc phát sinh cùng với các chủng PRRSV của Trung Quốc.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ansari I.H., B. Kwon, F.A. Osorio, and A.K. Pattnaik (2006). Influence of N-linked glycosylation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus GP5 on virus infectivity, antigenicity, and ability to induce neutralizing antibodies. *J Virol.*, 80(8) p. 3994-4004.
- Cavanagh D. (1997). Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae. *Arch. Virol.*, 142 p. 629-633.
- Đậu Ngọc Hào, Văn Đăng Kỳ, Nguyễn Văn Long, Tiêu Quang An (2008). Một số đặc điểm dịch tễ Hội chứng sinh sản và hô hấp (PRRS) ở lợn từ cuối tháng 3 đến đầu tháng 7/2008 tại một số tỉnh trong cả nước. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*, Số 5, tập 15, trang 14-20.
- Drew T.W. (2000). A review of evidence for immunosuppression due to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet Res.*, 31(1) p. 27-39. Review.
- Feng Y., T. Zhao, T. Nguyen, K. Inui, Y. Ma, T.H. Nguyen, V.C. Nguyen, D. Liu, Q.A. Bui, L.T. To, C. Wang, K. Tian and G.F. Gao (2008). Porcine reproductive and reproductive syndrome virus variants, Vietnam and China, 2007. *Emerg Infect Dis.*, 14(11) p. 1774-1776.
- Gorbalenya A.E., L. Enjuanes, J. Ziebuhr and E.J. Snijder (2006). Nidovirales: Evolving the largest DNA virus genome. *Virus Res.*, 117 p. 17-37.



- Kamakawa A., T.V. Ho, S. Yamada (2006). Epidemiological survey of viral diseases of pigs in the Mekong delta of Vietnam between 1999 and 2003. *Vet Microbiol.*, 118(1-2) p. 47-56.
- Meng X.J. (2000). Heterogeneity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: implications for current vaccine efficacy and future vaccine development. *Vet Microbiol.*, 74(4) p. 309-329. Review.
- Meulenbergh J.J., A. Petersen den Besten, E. de Kluyver, A. van Nieuwstadt, G. Wensvoort and R.J. Moormann (1997). Molecular characterization of Lelystad virus. *Vet Microbiol.*, 55(1-4) p. 197-202. Review.
- Nielsen H.S., G. Liu, J. Nielsen, M.B. Oleksiewicz, A. Botner, T. Storgaard and K.S. Faaberg (2003). Generation of an Infectious Clone of VR-2332, a Highly Virulent North American-Type Isolate of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus. *J. Virol.*, 77(6) p. 3702-3711.
- Tian K., X. Yu, T. Zhao, Y. Feng, Z. Cao, C. Wang, Y. Hu, X. Chen, D. Hu, X. Tian, D. Liu, S. Zhang, X. Deng, Y. Ding, L. Yang, Y. Zhang, H. Xiao, M. Qiao, B. Wang, L. Hou, X. Wang, X. Yang, L. Kang, M. Sun, P. Jin, S. Wang, Y. Kitamura, J. Yan and G.P. Gao (2007). Emergence of fatal PRRSV variants: unparalleled outbreaks of atypical PRRS in China and molecular dissection of the unique hallmark. *PLoS ONE*, 2(6) p e526.
- Tô Long Thành (2007). Hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp của lợn. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*, Số 3 Tập 14, Trang 81-87.
- Tô Long Thành, Nguyễn Văn Long và cs (2008). Kết quả chẩn đoán và nghiên cứu virus gây Hội chứng sinh sản và hô hấp (PRRS) trên lợn ở Việt Nam từ tháng 3/2007 đến 5/2008. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*, Số 5, tập 15, trang 5-13.
- Zhou Y.J., X.F. Hao, Z.J. Tian, G.Z. Tong, D. Yoo, T.Q. An, T. Zhou, G.X. Li, H.J. Qiu, T.C. Wei and X.F. Yuan (2008). Highly virulent porcine reproductive and respiratory syndrome virus emerged in China. *Transbound Emerg Dis.*, 55(3-4) p. 152-64.