

# 表达鸡白细胞介素 2 重组鸡痘病毒的构建 及其体外表达产物生物活性的检测

邵卫星 彭大新 卢建红 韦栋平 刘玉良 刘秀梵\*

(扬州大学畜禽传染病学农业部重点开放实验室,扬州 225009)

**摘要** 从 ConA 刺激的鸡脾细胞中扩增出鸡白细胞介素 2 (ChIL-2) 基因编码区。将该编码区 cDNA 序列和调控其转录的鸡痘病毒早晚期启动子 (PE/L) 的基因片段定向克隆到鸡痘病毒转移载体 p1175 中,获得重组转移载体 p1175IL2。然后转染已感染鸡痘病毒 282E4 疫苗株 (wt-FPV) 的鸡胚成纤维细胞 (CEF),质粒 p1175IL2 与 wt-FPV 基因组 DNA 发生同源重组,产生了表达 ChIL-2 的重组鸡痘病毒 rFPV-IL2。通过在含 X-gal 的营养琼脂上连续挑选蓝色病毒蚀斑,获得并纯化重组鸡痘病毒 rFPV-IL2。应用 XTT/PMS 方法检测的 rFPV-IL2 (M.O.I 2.0) 感染 CEF 72 小时后细胞上清中表达的重组 ChIL-2 生物活性,效价为  $3.6 \times 10^5$  u/mL,表明 rFPV-IL2 能有效地表达 ChIL-2。下一步将利用 rFPV-IL2 在体内表达 ChIL-2,研究 ChIL-2 的免疫增强作用及其作用机理。

**关键词** ConA, 白细胞介素 2, 鸡痘病毒, XTT/PMS

**中图分类号** Q786 **文献标识码** A **文章编号** 1000-3061(2004)01-0136-04

白细胞介素 2 (IL-2) 是一种重要的细胞因子,由激活的 T 淋巴细胞产生,可诱导 T 细胞增殖,选择性地增强 Th1 细胞分化、增殖,诱导干扰素 (IFN) 及 IL-2 的分泌<sup>[1]</sup>。1997 年 Sundick 等成功克隆了鸡的 IL-2 (Chicken IL-2, ChIL-2) 基因<sup>[2]</sup>。已有多种研究表明 IL-2 具有免疫增强作用<sup>[3-5]</sup>。以表达的 IL-2 作为免疫增强剂可能是解决目前众多疫苗,特别是基因工程疫苗和 DNA 疫苗免疫效果差的有效途径之一。利用病毒作活载体,细胞因子在体内可随着病毒的感染复制而得到表达,能够克服大肠杆菌表达的细胞因子所具有的缺点<sup>[6]</sup>。本研究用鸡痘病毒 (Fowlpox virus, FPV) 作载体,构建表达鸡 IL-2 基因的重组鸡痘病毒 rFPV-IL2,在体外检测表达产物的生物活性,证明鸡 IL-2 可以得到很好地表达。旨在下一步研究重组鸡痘病毒在体内表达的鸡 IL-2 对不同疫苗 (如弱毒疫苗,基因工程疫苗) 的免疫增强作用,从而开发一种通用的免疫佐剂,同时也将研究鸡 IL-2 的免疫增强机理。

## 1 材料与方 法

### 1.1 病毒、质粒和主要试剂

鸡痘病毒 282E 疫苗株购自中国兽药监察所。FPV 转移载体 p1175 由本室彭大新等构建<sup>[7]</sup>,含有痘病毒启动子 P7.5 和 P11、FPV 复制非必需片段、*LacZ* 筛选标记基因和多重克隆酶切位点。pBluescript-SKIFN 由本实验室构建,带有鸡痘病毒早晚期启动子 PE/L;pUC18 由本实验室保存;pGEM-T

easy vector 购自 Promega 公司。淋巴细胞分层液购自上海华精生物科技公司;RNAagents Total RNA Isolation System 购自 Promega 公司;转染试剂 FuGENE 6 Transfection Reagent、ConA、XTT、琼脂糖凝胶回收试剂盒为 Roche 公司产品;PMS (吩嗪硫酸甲酯) 购自中科院上海生化所。

### 1.2 实验用鸡、鸡胚和成纤维细胞

实验中所用的鸡胚为 SPF 鸡胚,所用的鸡为 SPF 鸡 (均购自南京药械厂)。用 9~10 日龄鸡胚按常规方法制备原代和次代成纤维细胞 (CEF)。

### 1.3 引物的设计与合成

根据 GenBank 上的序列 (AF000631),设计扩增 ChIL-2 编码区的上下游引物 P1 和 P2。在 P1 和 P2 的 5' 端分别加上 *Bam*HI 和 *Xba*I 酶切位点。在紧接 P2 的 *Xba*I 位点的下游加上痘病毒转录终止信号的互补序列 (AAA AAA AA)。用 P1 和 P2 扩增的预期片段大小约 430bp。

P1 5'-CCC GGA TCC ATG ATG TGC AAA GTA CTG ATC-3'

P2 5'-CCC TCT AGA AAA AAA AAT TAT TTT TGC AGA TAT CTC AC-3'

引物由宝生物工程 (大连) 有限公司合成。

### 1.4 ChIL-2 基因的克隆及序列测定

**1.4.1 制备鸡脾细胞** 将 3~6 周龄 SPF 鸡无菌取脾,在钢网上捣碎过滤,细胞悬液加到淋巴细胞分层液上,800 × g 离心 20min,分离单个淋巴细胞。吸出中间层的单个淋巴细胞,用含 5% 犊牛血清的 1640 培养基洗 3 次,每次 800 × g 离心

10min。然后用 1640 培养基[含 5% 犊牛血清, 2-巯基乙醇 (0.05mmol/L), ConA (10 $\mu$ g/mL)]悬浮细胞, 调整细胞数到 1 $\times$ 10<sup>7</sup> 个/mL, 于 41 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 温箱中培养。

**1.4.2 用 RT-PCR 方法扩增 ChIL-2 编码区基因** 收获上述培养 24h 的脾细胞, 用 PBS 洗 3 次。按 RNAagents Total RNA Isolation System 说明书提取鸡脾淋巴细胞总 RNA, 然后进行反转录和 PCR 扩增。取 PCR 产物 5 $\mu$ L 进行凝胶电泳分析。

**1.4.3 ChIL-2 基因序列测定** 回收 PCR 产物, 与 pGEM-T easy vector 连接。利用 PCR 方法从质粒中扩增 ChIL-2 基因, 初步鉴定重组质粒, 然后由 TaKaRa 公司对重组质粒进行测序。

**1.5 插入编码 ChIL-2 基因的重组鸡痘病毒转移载体 p1175IL2 的构建**

技术路线见图 1。构建转移载体 p1175IL2 经 PCR 和测序鉴定重组质粒 p1175IL2。

**1.6 重组鸡痘病毒 rFPV-IL2 的获得和纯化**

转染过程按转染试剂盒使用说明书进行: 用 70% 乙醇处理质粒 p1175IL2, 然后将质粒与转染试剂按 1:6 比例充分混合后转染已感染 282E4 (wt-FPV) 的单层 CEF。待细胞出现明显病变后收获病毒。-20 $^{\circ}$ C 反复冻融 3 次, 低速离心去除细胞碎片, 取 2 $\mu$ L 上清接种生长在直径 60mm 培养皿的单层次代 CEF 上。待 70% 细胞出现病变时, 吸出培养液, 在 42 $^{\circ}$ C 条件下加入用 2 倍维持液配制的 0.8% 细胞培养级营养琼脂 (含 X-gal 终浓度为 150 $\mu$ g/mL), 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 温箱中培养 2~3 d。挑取蓝色的重组病毒蚀斑, 再按上述方法于 96 孔板上连续纯化重组病毒代数, 直至获得纯化的重组病毒。

**1.7 制备含重组 ChIL-2 的细胞培养上清**

将 rFPV-IL2 按 M.O.I 为 2.0 量接种单层 CEF, 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养 72h, 收获上清用 0.1 $\mu$ m 的微孔滤膜过滤, 除去上清中的鸡痘病毒粒子<sup>[8]</sup>。收集滤过的上清, 贮存于 4 $^{\circ}$ C。同样, 按上述方法处理野生型鸡痘病毒 (wt-FPV) 获得的上清作为检测重组 ChIL-2 阴性对照。

**1.8 制备内源性 ChIL-2**

用 ConA 刺激的鸡脾细胞制备内源性 ChIL-2, 作为检测重组 ChIL-2 阳性对照。参照 1.4.1 方法制备鸡脾单个细胞, 调整细胞浓度至 1 $\times$ 10<sup>7</sup> 个/mL, 悬于 1640 培养基 (含 10 $\mu$ g/mL ConA) 中, 在 41 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 温箱中培养。24h 后, 加入  $\alpha$ -甲基甘露糖苷 (终浓度为 0.05mol/L) 中和培养上清中的 ConA, 继续培养 1h, 收获培养上清, 2000 $\times$ g 离心 10min, 去除细胞碎片, 获得的上清贮存于 4 $^{\circ}$ C 备用<sup>[9]</sup>。

**1.9 测定 rFPV-IL2 体外表达 ChIL-2 的生物活性效价**

**1.9.1 制备检测体外表达重组 ChIL-2 的反应性细胞** 参照 1.4.1 方法制备鸡脾单个细胞, 悬于 DMEM 培养液 (10 $\mu$ g/mL ConA, 2mg/mL BSA, 2mmol/L LG, 0.05 mmol/L 2-巯基乙醇), 调整细胞浓度至 1 $\times$ 10<sup>7</sup> 个/mL, 于 41 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 中培养 24h 后, 加入 DMEM 培养液 (含终浓度为 0.05 mol/L 的  $\alpha$ -甲基甘露糖苷, 2% 鸡血清, 2mg/mL BSA, 2 mmol/L LG, 0.05 mmol/L 2-巯基乙醇), 于 41 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 中继续培养 2~4d, 收获细胞。用淋巴细胞分层液 600 $\times$ g 离心 20min 分离活的淋巴母细胞, 重

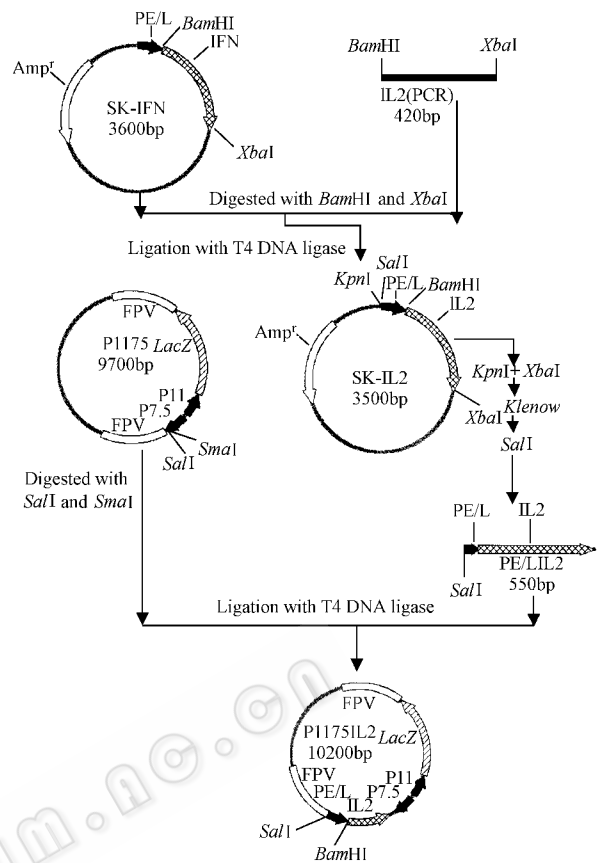


图 1 重组转移载体 p1175IL2 的构建

Fig. 1 Construction of recombinant transferring vector p1175IL2

悬于 DMEM 培养液 (含终浓度为 2% 鸡血清, 2mg/mL BSA, 2 mmol/L LG, 0.05 mmol/L 2-巯基乙醇), 调细胞浓度至 5 $\times$ 10<sup>5</sup> 个/mL, 分细胞于 96 孔 U 型底的培养板中 (5 $\times$ 10<sup>4</sup> 个/孔)<sup>[10]</sup>。

**1.9.2 用 XTT/PMS 法测定重组 ChIL-2 生物活性效价** 将来源于感染重组鸡痘病毒 (rFPV-IL2) 的 CEF 细胞培养上清 (含重组 ChIL-2) 先作 10 $\times$  稀释, 然后再作倍比稀释, 按 100 $\mu$ L/孔将不同稀释度的细胞培养上清分于含有反应性细胞的 96 孔 U 型底的培养板中, 每个稀释度设置 3 个重复。将分别来源于野生型鸡痘病毒 (wt-FPV) 感染 CEF 和 ConA 刺激的脾细胞的培养上清做同样处理。同时设阴性 (培养液 + 细胞) 对照和空白 (培养液) 对照。培养板在 41 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 中培养过夜。每孔吸出 100 $\mu$ L 培养液, 然后每孔加入 25 $\mu$ L 新鲜配制的 XTT/PMS (XTT/PMS 终浓度分别为 0.2mg/mL 和 25 $\mu$ mol/L), 每孔总体积 125 $\mu$ L<sup>[11]</sup>。在 41 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 中继续培养 9h 后测定 450nm 光波处的 OD 值, 确定重组鸡痘病毒 (rFPV-IL2) 感染 CEF 72h 细胞培养上清中重组 ChIL-2 生物活性效价。

## 2 结果

**2.1 编码 ChIL-2 基因的克隆与序列测定**

编码 ChIL-2 基因的 PCR 产物经凝胶电泳确定扩增出 430bp 的特异片段, 与预期相符。回收片段, 克隆到 pGEM-T easy vector 后经 PCR 鉴定重组质粒, 然后测序, 证实扩增到 ChIL-2 编码区基因。所得的序列与 GenBank 上的 3 个

(AF000631、AF017645、AF033563)和国内发表的 2 个 ChIL-2 序列<sup>[13,14]</sup>进行比较。结果显示:AF000631、AF017645 和陈鸿岩等发表的序列完全相同,而本研究克隆的序列与 AF033563、陈奖励发表的序列完全相同。ChIL-2 的这两种序列在核苷酸和氨基酸的不同位点发生了变化(见表 1)。

表 1 克隆的 ChIL-2 cDNA 测序后核苷酸及氨基酸变化

Table 1 The variation of nucleotides and amino acids of cloned ChIL-2 gene

Category	Site	The published sequence (AF000631)	The present by b sequence
Nucleotides	83	C	A
	88	A	T
	94	C	A
	144	C	T
Amino acids	28	Ala(A)	Glu(E)
	30	Arg(R)	Trp(W)
	32	Pro(P)	Thr(T)

## 2.2 重组转移载体 p1175IL2 的构建

将 ChIL-2 编码区基因克隆到转移载体 p1175 上,构建了 p1175IL2。经 PCR 和测序证明 ChIL-2 编码区基因正确克隆到转移载体 p1175 上。

## 2.3 rFPV-IL2 的获得与纯化

转移载体 p1175IL2 转染至已感染 wt-FPV 的 CEF 中,与 wt-FPV 发生同源重组。通过在 60mm 培养皿和 96 孔培养板上连续筛选蓝色病毒蚀斑 3 代,得到纯化的、生长稳定的 rFPV-IL2。完全纯化的 rFPV-IL2 形成的蚀斑均为蓝色病毒蚀斑。

## 2.4 rFPV-IL2 体外表达 ChIL-2 生物活性效价的测定

由于没有 ChIL-2 标准品,本研究利用 ConA 刺激脾细胞的培养上清作为阳性对照。利用 XTT/PMS 测定各组细胞培养上清不同稀释度的  $OD_{450}$  值。其中 A 代表 rFPV-IL2 感染 CEF 72h 后收获的细胞培养上清;B 代表 ConA 刺激脾细胞 24 后收获的细胞培养上清;C 代表野生型 FPV 感染 CEF 72h 后收获的细胞培养上清。利用概率分析法确定 A 组和 B 组中 ChIL-2 相对活度。通过 SPSS 统计软件分析求得回归方程,以达到 50%最大  $OD_{450}$  值时所对应的稀释度的倒数作为所测定 ChIL-2 的一个相对活性单位(1u)。

回归方程分别为:

$$A(\text{样品}): Y = 7214.299 - 11012.2X \quad r = 0.99 (P < 0.01)$$

$$B(\text{阳性对照}): \lg Y = 3.612 - 3.127X \quad r = 0.978 (P < 0.01)$$

注:Y 代表稀释度;X 代表所对应的  $OD_{450}$  值

$Y_A(50\% OD_{450 \max})$  为  $3.6 \times 10^5$  u/mL;  $Y_B(50\% OD_{450 \max})$  为  $4.0 \times 10^4$  u/mL。以稀释度和  $OD_{450}$  值作图(见图 2)。

## 3 讨 论

2001 年 Jill E 等<sup>[12]</sup>构建了一些鸡 IL-2 的突变体来研究鸡 IL-2 结构与功能的关系。研究发现 N 端的 D17 和 C 末端氨基酸的完整性对维持鸡 IL-2 的功能非常重要。2.1 节的结果说明鸡 IL-2 存在自然突变引起的核苷酸和氨基酸变化,变化的位点不是维持 IL-2 正常生物活性的重要位点,因

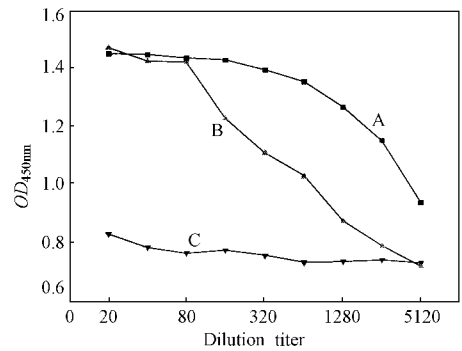


图 2 ChIL-2 生物活性效价测定

Fig.2 Assay of biologic activity of ChIL-2

A: sample; B: positive control; C: negative control

而不会影响 IL-2 的生物活性;至于这种变化是否还有其它的生物学意义,目前还不清楚,有待进一步研究。

IL-2 是由抗原或有丝分裂原激活的 T 细胞合成、分泌的一种细胞因子,具有十分重要的免疫调节功能。对重组鸡 IL-2 作为免疫调节剂的研究主要集中在利用原核表达的 IL-2 和 DNA 直接免疫。虽然用病毒做载体表达细胞因子已有成功报道,但用病毒表达系统表达鸡 IL-2 目前尚未见到报道。由于细胞因子半衰期都很短,被用作免疫调节剂或治疗剂,需反复多次注射原核表达重组细胞因子蛋白,这样不但成本高,而且不便临床使用;DNA 免疫由于受多种因素也限制其大规模应用。利用病毒作载体,可使细胞因子在动物体内持续表达,直到病毒被清除,避免由于细胞因子的半衰期短而需反复多次注射;而且真核系统表达的重组细胞因子比原核系统表达的可能具有更好的生物活性。鸡痘病毒是一种有效的病毒表达载体,现已构建数十种表达不同外源保护性抗原的重组鸡痘病毒<sup>[15]</sup>。本研究利用 FPV 作载体成功表达鸡 IL-2,在构建的转移载体 p1175IL2 中选用痘病毒早晚期启动子 PE/L 启动鸡 IL-2 基因,并以 LacZ 基因作为重组病毒的筛选标记基因。p1175IL2 和野生鸡痘病毒(wt-FPV)在 CEF 中发生同源重组,获得表达鸡 IL-2 的重组鸡痘病毒 rFPV-IL2。早晚期启动子 PE/L 可保证鸡 IL-2 稳定持续地表达,避免了鸡痘病毒早期或晚期启动子阶段性表达外源基因的缺点。在筛选重组病毒时,以 LacZ 基因作为重组病毒的筛选标记基因,用含 X-gal 琼脂覆盖已经形成鸡痘病毒蚀斑的 CEF,由于重组病毒蚀斑显蓝色,通过一般的光学显微镜就可很容易与野生痘病毒区分开来,而不需特殊的仪器,简便易行。重组 rFPV-IL2 的成功构建为其在鸡体内表达 IL-2,研究 IL-2 作为免疫增强剂的机理奠定基础。

为验证 rFPV-IL2 是否表达 ChIL-2,参考已发表的病毒载体表达细胞因子的检测方法,用 XTT 法检测鸡 IL-2 的生物活性。结果显示:MOI 为 2.0 的 rFPV-IL2 感染 CEF 72h 后的细胞培养上清中含重组鸡 IL-2 的效价为  $3.6 \times 10^5$  u/mL,表明鸡 IL-2 得到有效表达。根据 IL-2 具有能使 ConA 活化的淋巴母细胞增殖的特性,用 XTT 法检测增殖细胞中琥珀酸脱氢酶的量,可以间接确定 ChIL-2 生物活性。该方法避免

[<sup>3</sup>H]脱氧胸苷渗入法中同位素对环境的污染,同时比 MTT 法操作简便。尽管如此,在实验中仍然有众多因素影响检测结果,其中重要的因素有淋母细胞的转化率、细胞活力、每孔细胞的数量、加入 XTT/PMS 后反应时间,特别是反应中电子偶联剂 PMS 的浓度。由于在实验中每孔细胞的数量较少,使用平底 96 孔培养板,细胞容易靠近孔的四周,培养时间长,会影响细胞的活力,为保证实验效果,需使用 U 型底的 96 孔培养板,在实验时必须先做多次预实验确定最佳反应条件,才能得到可靠的实验结果。

致谢 本文的数据处理得到扬州大学医学院预防医学教研室李湘鸣老师的热情指导和帮助,在此表示衷心的感谢!

## REFERENCES(参考文献)

- [ 1 ] Sun XM(孙学民), Wang HQ(王惠琴). The Methodology of Research in Cytokines(细胞因子方法学). Beijing: People Health Press, 1999
- [ 2 ] Sunick RS, Gill-Dixon C. A cloned chicken lymphokine homologous to both mammalian IL-2 and IL-15. *Journal of Immunology*, 1997, **159**: 720 - 725
- [ 3 ] Lillehoj HS, Lillehoj EP. Avian coccidiosis. A review of acquired intestinal immunity and vaccination strategies. *Avian Disease*, 2000, **44**: 408 - 425
- [ 4 ] Hu W, Kolodnick JE, Stepaniak JA *et al.* Enhanced humoral immune responses to Marks disease virus glycoprotein B by co-injection of recombinant chicken IL-2. 6<sup>th</sup> Avian Immunology Research Group meeting, Ithaca, NY [ Abstract ]. 2001
- [ 5 ] Staehell P, Puehler F, Schneider K *et al.* Cytokines of birds: conserved functions—a largely different look. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 2001, **21**: 993 - 1010
- [ 6 ] Johnson MA, Pooley C, Lowenthal JW. Delivery of avian cytokines by adenovirus vectors. *Developmental & Comparative Immunology*, 2000, **24**: 343 - 354
- [ 7 ] Wang ZL(王志亮), Peng DX(彭大新), Liu XK(刘秀梵) *et al.* The construction of the vector inserting fowlpox virus (Chinese vaccine strain) and the expression of MDV g B. *Chinese Journal of Virology(病毒学报)*, 1996, **12**(4): 48 - 54
- [ 8 ] Karaca K, Sharma JM, Winslow BJ *et al.* Recombinant fowlpox viruses coexpressing chicken type I IFN and Newcastle disease virus HN and F genes: influence of IFN on protective efficacy and humoral responses of chickens following *in ovo* or post-hatch administration of recombinant viruses. *Vaccine*, 1998, **16**: 1496 - 1503
- [ 9 ] Lowenthal JW, Connick TE, Mcwaters PG *et al.* Development of T cell immune responsiveness in the chicken. *Immunology and Cell Biology*, 1994, **72**: 115 - 122
- [ 10 ] Stepanak JA, Shuster J, Hu W *et al.* Production and *in vitro* characterization of recombinant chicken interleukin-2. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 1999, **19**: 515 - 526
- [ 11 ] Roehm NW, Rodgers GH, Hatfield SM *et al.* An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. *Journal of Immunological Method*, 1991, **142**: 257 - 265
- [ 12 ] Kolodnick JE, Stepaniak JA, Hu W *et al.* Mutational analysis of chicken interleukin 2. *Cytokine*, 2001, **13**(6): 317 - 324
- [ 13 ] Chen HY(陈鸿岩), Liu SW(刘胜旺), Chen JL(陈奖励) *et al.* The cloning and sequencing of chicken IL-2 gene. *Chinese Journal of Veterinary Science and Technology(中国兽医科技)*, 1999, **29**: 5 - 7
- [ 14 ] Chen JL(陈奖励), Wang H(王欢), Song YH(宋英晖) *et al.* The cloning and sequencing of chicken IL-2 gene. *The Journal of Chinese Veterinary(中国兽医杂志)*, 2000, **26**: 11 - 13
- [ 15 ] Cheng J(程坚), Liu XF(刘秀梵). Construction of recombinant fowlpox virus expressing chicken type II interferon. *Journal of agricultural biotechnology(农业生物技术学报)*, 2002, **10**(2): 152 - 155

## Construction of Recombinant Fowlpox Virus Expressing Chicken IL-2 and Assay of Biologic Activity of the Product *in vitro*

SHAO Wei-Xing PENG Da-Xin LU Jian-Hong WEI Dong-Ping  
LIU Yu-Liang LIU Xiu-Fan\*

(Animal Infectious Disease Laboratory, School of Veterinary Medicine,  
Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

**Abstract** In order to determine the adjuvant effects of the chicken IL-2 (ChIL-2) on new generation vaccines, ChIL-2 gene was amplified from ConA-stimulated chicken spleen cells by RT-PCR and was directionally inserted into fowlpox virus (FPV) transferring vector p1175 under the control of FPV early/late promoter (PE/L), resulting in recombinant transferring vector p1175IL2. Then the p1175IL2 plasmid was transfected into chicken embryo fibroblasts (CEF) pre-infected with wild type FPV to generate recombinant fowlpox virus expressing ChIL-2 (rFPV-IL2). By selection of blue plaques on the CEF, overlaid with agar containing X-gal, rFPV-IL2 was obtained and purified. The supernatant from CEF monolayer infected with rFPV-IL2 (M.O.I 2.0) after 72 hours was detected for the production of ChIL-2 by XTT/PMS colorimetric assay. About  $3.6 \times 10^5$  u/mL of specific ChIL-2 activity was determined. The results show that rFPV-IL2 can express ChIL-2 effectively. rFPV-IL2 provides us with an effective tool for studying avian immunology as well as a potential vaccine-enhancing agent.

**Key words** interleukin-2, fowlpox virus, XTT/PMS

Received: 06-30-2003

This work was supported by Grant from Jiangsu Basic Study Fund (No. BK2001415).

\* Corresponding author. Tel 86-514-7979376; Fax 86-514-7323112; E-mail: xliu@mail.yzu.edu.cn © 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>