96,11(3)
193—200
6839(1)

第11卷第3期 中国病毒学 Vol.11 No.3
1996年9月 VIROLOGICA SINICA Sep. 1996

细小病毒的分子生物学

张 英

（中国预防医学科学院病毒学研究所病毒基因工程国家重点实验室，北京 100052）

Q939.4

Molecular Biology of Parvovirus

Zhang Ying

(*Institute of Virology, CAPM, Beijing* 100052)

关键词 细小病毒，基因组结构，调节，转录 分子生物学

Key words Parvovirus, Genome, Regulation, Transcription

细小病毒是目前动物病毒中属于最小最简单的一类单链线状 DNA 病毒。病毒粒子直径 20～26 nm，无囊膜，呈二十面体，其基因组大小约 5 kb。对细小病毒易感的宿主范围很广，包括脊椎动物、无脊椎动物以及人类。目前认为细小病毒科主要包括三个属：细小病毒属、依赖性病毒属和浓核病毒属。尽管细小病毒分成独立的三个属，但它们的基因组结构是非常相似的；另外腺联病毒在其繁殖过程中，也并不总是需要辅助病毒的参与，同样有些自主细小病毒有腺病毒共感染时，其增殖作用也会大大增加，特别是对细小病毒分子水平的研究，证实各属病毒复制的调节过程存在很多相似性；而基因组中转录启动子的位置、剪接的部位、Poly(A)信号的位置以及末端基因组序列的结构又有各自不同的特点。因此有人提出对细小病毒的分类应重新加以修定。近年来，对细小病毒的分子生物学研究进展非常快，这不仅与其基因组结构本身特点有关，更重要的是研究中发现，细小病毒与其它 DNA 病毒相比，又在诸多方面表现出与众不同的特性。本文主要拟就自主细小病毒基因组结构、基因表达调节、病毒编码蛋白以及病毒致病类型作一评述。

1 细小病毒基因组结构

细小病毒基因组容量在 DNA 病毒中是最小的。目前，已完成了其中大多数病毒成员基因组一级结构的测定和分析（MVM－小鼠细小病毒，大鼠细小病毒－H－1，犬细小病毒－CPV，猪细小病毒－PPV，人类细小病－B19，貂阿留申细小病毒－ADV）[1-7]。国内学者 1993 年首次完成了貂肠炎病毒（MEV）近全序列的测定，并对其基因组结构进行了精细分析。序列同源性比较发现，MEV 序列与 CPV、PPV 序列有很高的同源性。自主细小病毒基因组结构是极为相似的，基因组均有两个主要的开放阅读框架，3′端编码结构蛋白，5′端编码非结构蛋白，即调节蛋白（见示意图）。整个编码区基因是相互重叠的[4,8]，结构基因和非结构基因有各自独立的启动子区域；编码结构蛋白和非结构蛋白的 mRNAs 共同终止在 Poly(A)处，即位于基

本文于 1995 年 4 月 17 日收到，12 月 6 日修回

维普资讯 http://www.cqvip.com

因单位 94～96 mu.；细小病毒基因组在其不同基因单位处都有启动子区域，以起始基因组编码蛋白的转录。对 CPV 和 FPV 研究证实，Poly(A)序列下游(40 nt)有 TATA 序列，MVM、H－1 病毒基因组中也有此序列。在 BPV 中发现，保守的启动序列有三个，分别位于 251 nt 、705 nt 和 2128 nt。不仅在 BPV 基因组中存在上述启动子序列，研究发现，AAV2、H－1、MVM 细小病毒基因组中也有类似启动子序列，其共同的特点是：1. 激活区序列富含 G－C 碱基，从而构成了极稳定的激活区域，一般位于 5′端帽子部位上游 50 到 70 bp 处。2. 增强序列区：一般位于 5′端帽子部位上游序列 100 bp 处。3. TATA 框：位于 5′端帽子部位上游序列 30～35 bp 处，也是 RNA 多聚酶起始转录识别部位。这些结构特点与真核基因启动子成份具有共同之处。目前研究较多的是对 MVM 病毒基因组中早期启动子 P4 和晚期启动子 P38 的研究。

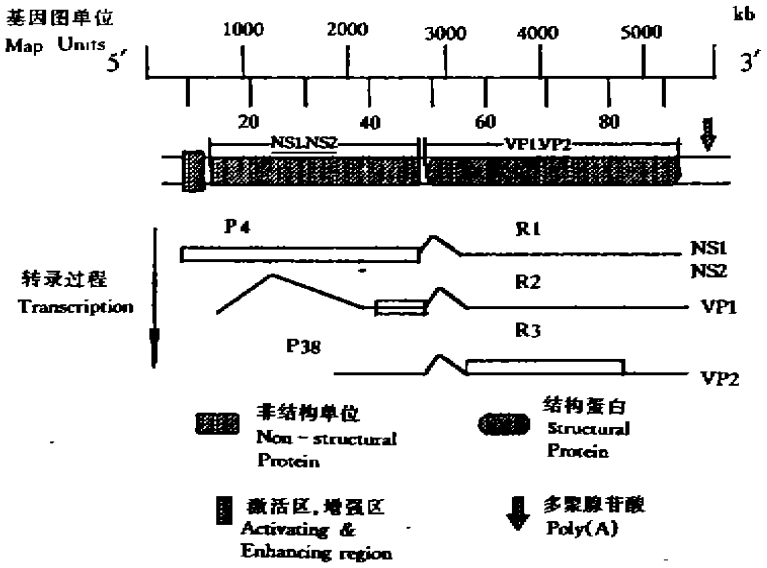

图 细小病毒基因组结构

Figure Parvovirus genome

细小病毒基因组结构更显著的特点就是其两末端均有发夹结构[4,9]。一般由 120～160 bp 碱基构成，但是整个发夹结构又被两个短的回文序列中断，后者对称性地位于较大的回文结构中心的另一边。因而末端序列可折成 T 形或 Y 形结构。这一结构对细小病毒的复制是十分重要的。对其一级结构进行序列同源性分析，证实细小病毒各成员核酸序列同源性很高，特别是编码非结构蛋白的 DNA 序列同源性更高。比较独特的是 B19 基因组序列与其它细小病毒基因组序列同源性很低。对各属成员核酸序列同源性比较发现，家蚕 DNV 病毒基因组的 300 个核苷酸与其它两属病毒核酸序列有很高的同源性[10]，这一序列区域是细小病毒科各病毒基因组中的保守序列。

2 细小病毒基因组的转录调节

2.1 基因组的转录

细小病毒转录在不同的细小病毒感染中产生的 mRNA 转录物有所不同[11]，如 MVM 感染宿主细胞后，主要产生三种 mRNA 转录物，大小分别为 4.8、3.3 和 3.0 kb，分别命名为 R1、

维普资讯 http://www.cqvip.com

R2和R3。R1编码非结构蛋白NS1(83kD)和NS2(25kD);R2和R3编码结构蛋白VP1(83kD)和VP2(64kD)(见示意图)。通过RNA/DNA杂交和Northern杂交证实,MVM编码的病毒蛋白转录物发生剪接过程,它们都在其基因组单位mu.46~48处有一个内含子。R1和R2由位于mu.4的早期启动子(P4)起始转录,起始点位于201±5 nt;同时发现R2还有一个位于mu.10~14的内含子,在转录形成mRNA时通过剪接被删去,而R3由位于mu.38处的晚期启动子(P38)起始转录,P4和P38起动的转录物具有共同的3′端非翻译区序列和不同的5′非翻译区序列。三种转录物的转录都共同终止于基因组3′端Poly(A)信号处,这是细小病毒转录的一个主要特点。细小病毒利用这种不同位点的剪切来调节mRNAs的合成。在CPV和MVM中均发现,基因组中有5′端供体位点和3′端受体位点,这两位点均是保守序列区,其序列特征是5′端供体为A/CAGGT A/GAGT,3′端受体是(py)6×CAGGC/T。通过S1酶作图和cDNA测序,证实在CPV病毒基因组利用2277 nt供体位点和2400 nt受体位点进行剪切,产生表达VP2蛋白的mRNA,MVM病毒基因组表达VP2蛋白也以同一方式剪切R3转录物。

2.2 基因组的转录调节

2.2.1 启动子的转录调节

细小病毒主要有两个启动子区域,即早期启动子和晚期启动子。其结构与其它病毒启动子的转录起始区相似,有TATA序列转录起始区和刺激蛋白SP1(stimulatory protein)的结合位点。这些序列转录激活具有重要作用,一旦缺失,将失去启动子活性。

2.2.1.1 SP1结合位点 在MVM病毒P38启动子区域-49~36 nt有保守的SP1结合位点(GGGCGG)。Mi-Li Gu[12]等人以此处序列,在体外合成不同的SP1片段,再克隆到MVM基因组中,获得了SP1结合位点突变质粒,用此突变质粒DNA共转染细胞,结果P38启动子活性降低,由此他们认为,SP1结合位点突变影响了P38与DNA的结合,从而使DNA构型发生改变,以致影响P38启动子转录活性。

2.2.1.2 TATA元件 MVM病毒P38启动子的-26 nt位含有TATA元件。TATA元件及其旁侧区,在细小病毒转录调节中发挥着重要作用。研究表明与TATA序列结合的是一些结合蛋白和细胞内的结合因子,它们之间相互作用的结果,促使mRNA起始转录。Mi-Li Gu也进行了TATA元件精细的点突变研究,其结果是同样影响P38启动子转录活性。同时突变SP1结合位点和TATA元件区序列,尽管大大影响了P38启动子的转录物表达水平,但P38仍保留其转录活性。说明这些区域的突变并不能完全阻止细胞内因子的结合。

2.2.2 反式激活元件

在MVM基因组P38启动子上游-137到-166位的一段核苷酸序列是MVM反式激活因子激活MVM基因组转录的必需区,称为反式激活区元件(Trans-activation region element, Tar),Tar元件具有双向转录反式激活作用,而且MVM基因组Tar元件又特异性地影响P38启动子效应,对外来启动子如SV40早期启动无激活效应。

Tar元件主要是与细小病毒早期转录蛋白、一些细胞因子结合,促进和稳定活性转录物的形成。有趣的是,在Tar元件中心处有TTGGTTGG序列,这段序列的任何突变物均会影响Tar元件的转录激活作用。说明Tar元件是细小病毒复制、转录所不可缺少的重要调控点。Tar元件的双向转录激活作用、即正调节和负调节作用,主要取决于宿主细胞内多种细胞因子

维普资讯 http://www.cqvip.com

与 Tar 元件的相互作用。

2.2.3 其它顺式激活元件

除上面提到的 SP1 和 TATA 元件具有顺式激活作用外，还发现在细小病毒基因组 3′末端 Poly(A)信号也具有顺式激活作用，加 Poly(A)信号是转录终止以及加 Poly(A)尾所必需的序列。该信号呈高度保守，AAAAA 是典型的加 Poly(A)信号。由于细小病毒所有转录物均采用这一段加 Poly(A)信号，因此所有转录物的 3′端相同。另外在 ADV 研究中发现，P36 启动子邻近有顺式激活序列，但是这段序列却使 ADV 病毒 P36 启动子转录水平下降，以致影响转录物表达。

2.2.4 编码蛋白的调节作用

大量研究结果表明，编码蛋白一个主要调节作用就是对多个启动子的转录激活作用，如 MVM 和 H－1 的 P38 启动子以及 AAV 的 P5 早期启动子和 P40 晚期启动子，其中研究较多而又有明显调节作用的就是 NS1。NS1 是细小病毒基因组本身编码的反式激活蛋白。来自多方面的研究证实，细小病毒早期、晚期启动子起始转录物的表达受到 NS1 蛋白的影响，在 H－1、MVM 病毒感染细胞后，早期转录产物 NS1 又使晚期启动子起始转录活性增加。同时还发现 NS1 又有抑制 ADV P4 启动子转录物表达的效应，所以 NS1 具有正负调节表达的作用。NS1 正调节早期启动子促使起始转录 mRNA，结果使基因组得以大量扩增。

3 细小病毒基因组编码蛋白

3.1 结构蛋白

多数细小病毒的基因组结构已得以阐明，这大大促进了对其编码蛋白分子水平的认识。在细小病毒各成员中，病毒基因主要编码两种结构蛋白：VP1 和 VP2，它们的分子量、编码基因组大小以及氨基酸序列不尽相同。VP1 蛋白 C 端氨基酸和 VP2 蛋白 N 端氨基酸序列相互重叠。比较不同细小病毒 VP1 和 VP2 蛋白 N 端序列区，CPV 和 FPV 病毒 VP1 和 VP2 蛋白 N 端序列同源性非常高，达 99%，而它们与其它细小病毒如 MVM、H－1 等结构蛋白 N 端序列同源性不足 60%，与 B19 仅为 20%。VP1 蛋白 N 端富含碱性残基，同时发现，细小病毒 VP1 蛋白存在类似 SV40 和多瘤病毒 VP1 蛋白 N 端的核内定位信号序列(Nuclear－localization signal, NLS)，即包括 4 个保守序列块区，Ⅰ区前 10 个氨基酸与 SV40、多瘤病毒 VP1 蛋白 N 端序列相类似，Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ区也包含两个高度重叠序列区。这种序列信号特征对于所有细小病毒在胞核内的定位是至关重要的，如 SV40 的 T 抗原，可介导其自身或异种蛋白进入细胞核。Ⅰ～Ⅳ序列区在所有细小病毒中均是高度保守的，仅是Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ区间序列在不同毒株中有较大变化。通过对编码结构蛋白基因的深入研究，诸如采用基因缺失、重组、编译框移位、蛋白氨基酸序列的对比分析，并结合免疫化学分析手段，明确了 CPV 结构蛋白的空间分子结构与功能的关系，这在病毒蛋白研究上仍是处于领先水准。最近 Chapman 等人在总结已有研究结果的基础上，对 CPV 病毒结构蛋白进行了原子结构和微机处理分析，阐明了 CPV 衣壳蛋白二级结构和空间结构。

3.2 结构蛋白的主要功能区

3.2.1 抗原决定簇区

Parrish 等人(1991)用一组单抗分析了 CPV 抗原差异性，发现在 CPV 中存在抗原的漂移，这种抗原漂移的变化主要是病毒蛋白转角结构区 Loop 1、Loop 3 内部氨基酸残基的变化，即

维普资讯 http://www.cqvip.com

Loop 1 区 M87→L、I101→T 和 Loop 3 区 A300→G、D305→Y 氨基酸残基的变化。研究证实,在 CPV 病毒至少有三个抗原表位区:A. Loop 1 和 Loop 3 近区域;B. 二折叠下陷和三折叠突起区之间;C. 邻近三折叠中心区。这些外露区域在 B19、FPV 病毒都有很好的抗原性,可诱导机体产生中和性抗体,这些区域氨基酸残基的高度变化,也就使细小病毒逃避了机体免疫系统的监控。在细小病毒抗原表位的研究中,当属 Langeveld 等人的工作,1993 年他们弄清 CPV 病毒 B 细胞表位,次年他们又成功地获得第一个可保护犬免患细小病毒感染的肽疫苗[23-24]。

3.2.2 受体结合部位

采用特异性抗体封闭以及结合精细的编码结构蛋白基因的缺失和重组体共转染易感细胞的研究,发现 VP1、VP2 蛋白在细小病毒感染过程中起着极为重要的作用。缺失 VP1 或 VP2 蛋白的突变体均丧失了对宿主细胞的再感染性。对 CPV 结构蛋白的分析及编码基因突变的研究,仅发现 CPV 衣壳蛋白某些区域、甚至几个残基对 CPV 侵染细胞有重要影响。如 CPV 蛋白 93 位残基以及邻近 A301 区域对 CPV 适应细胞有重要影响。Loop 1 结构区对 ADV 侵染细胞特异性又是至关重要的。细小病毒不仅需结合包膜受体进入胞浆,它还需进入胞核,进行复制、转录、包装成熟病毒粒子。因此细胞内受体在细小病毒感染细胞中也起决定性作用。在对细小病毒受体的研究中,对唯一感染人类的 B19 病毒的研究最为深入,1994 年 Agbandjie 在原有结果的基础上,精细地分析了 B19 病毒的结构[25],Brown 采用分子克隆重组技术确定出 B19 细胞受体为红细胞 P 抗原[26]。

3.2.3 血凝部位

多数细小病毒具有凝集红细胞的特性,病毒结合红细胞不同于结合宿主细胞;前一种结合是非感染性的。CPV 无血凝活性突变体对犬细胞仍具感染性,CPV 无 HA 突变体,就是 R37→k 氨基酸残基的缺失,替代这几个氨基酸的残基,无 HA 的 CPV 病毒血凝活性又得以恢复,这段结构区氨基酸残基构型的变化,对 CPV 病毒结合红细胞是不可缺少的。

3.3 编码蛋白的调节作用

3.3.1 结构蛋白对宿主细胞的作用

围绕细小病毒感染宿主细胞后的复制、转录与包装等分子过程,Tullis 等[13]率先提出 VP1 和 VP2 蛋白在病毒感染细胞过程中起着重要作用。他们实验的设计是:先构建缺失 MVM 病毒结构蛋白编码基因以及分别构建缺失 VP1 或 VP2 基因的突变体,来研究其对敏感细胞系的感染性。实验证实 VP1 蛋白是 MVM 病毒复制和病毒粒子包装必需的一种结构蛋白,缺失 VP1 的突变体克隆,转染敏感细胞后,尽管仍可起始 DNA 复制并产生子代病毒,但已丧失了对细胞的感染性,即不能产生感染性的病毒粒子。研究者认为,这主要是其所产生的子代病毒与细胞的结合过程受到阻断。VP1 与细胞的结合是一种特异性受体结合,它在病毒侵染细胞并产生感染性方面是一重要的结构区域;同时早先的研究就已确认,VP1 蛋白具有稳定病毒 ssDNA 作用,因为其 N 端区富含碱性残基,有助于 ssDNA 与其结合,它可特异性地结合 MVM 病毒 DNA 病毒 3′端发夹区,从而起始病毒 DNA 的复制与包装。1993 年 Wilewand[14]采取同样的研究技术路线,侧重研究 VP2 蛋白在 MVM 感染细胞中的作用,仅含 VP2 蛋白的病毒粒子也能与 MTM 复制 DNA3′端发夹结构结合,并包装 ssDNA,但其效率远不及 VP1 蛋白。VP1 和 VP2 共同参与病毒 DNA 包装,并形成具有感染性的病毒粒子。

3.3.2 非结构蛋白的调节作用

维普资讯 http://www.cqvip.com

3.3.2.1 NS的细胞毒性作用

Legrand[16]的工作是用鼠乳腺瘤病毒启动子来组建编码MVM病毒NS1和NS2蛋白的重组克隆，并通过点突变以及改变编码两种蛋白的C端区阅读框架，来阐明NS1和NS2对细胞的毒性作用。在无NS2蛋白存在下，仅NS1蛋白就构成了对细胞的毒性作用，通过点突变改变NS1蛋白产物，其细胞毒性与野生型NS1蛋白相比明显降低，野生型NS1蛋白表现出极显著的延缓细胞生长以及杀细胞作用；但NS2对细胞的毒性作用很小，细小病毒细胞毒性作用主要归于NS1，不过NS2有促进NS1细胞毒性作用。由于NS1和NS2蛋白N端84个氨基酸是相同的，所以研究者通过改变C端序列，观察NS1对细胞的毒性作用，经突变的NS1蛋白极明显地影响了其对细胞的毒性作用。这说明保持NS1蛋白原有的构型是非常重要的。1993年Xu Li等又报道[17]，他们通过点突变幸运地获得了包含H-1病毒NS2基因外显子3′端剪切受体部位，又未改变NS1读码框架的突变克隆H1SA，以其感染自然宿主细胞，结果H1SA不能引起细胞感染；但改换宿主细胞后，又呈现出细胞感染性，由此他们提出了NS2对细胞毒性作用有宿主细胞特异性，而且NS2介导的宿主细胞特异性发生在转译水平。

3.3.2.2 NS对病毒DNA复制的调节作用

现已明确细小病毒DNA复制是依靠其末端的发夹结构，其起始和终止病毒DNA复制过程的先决前提就是从特异位点解开其末端结构区，以使3′端区序列引导DNA合成；而NS蛋白具有内切酶作用和共价结合5′端序列区的特性，这其中主要是NS1蛋白的作用。NS1蛋白能共价结合复制型DNA 5′末端，它具有特异部位的解链活性，而且现已发现，NS1蛋白有A型保守序列[(G/A)XXXXGK(S/T)]。目前认为这类序列是ATPase相关酶的ATP结合部位，并具DNA解旋活性，它拓展了病毒DNA末端区空间构型，起始病毒DNA的复制，所以NS1蛋白是细小病毒DNA复制所必需的。Xu Li报道[18]，通过PCR技术点突变改变H-1病毒NS1基因405位码，这样Serine替代了原来的Lysin，以此突变克隆和标记重组质粒共转染敏感细胞，发现病毒DNA复制明显受到抑制。当提供野生型NS1基因，再共转染敏感细胞，病毒DNA复制又得以恢复。这说明Lysin残基对NS1蛋白调控病毒DNA复制起着极为重要的作用。Serine替代Lysin可能改变了NS1蛋白的构型，从而影响NS1蛋白对病毒DNA的结合。

4 细小病毒基因表达的调控

目前已清楚，基因表达的调控主要发生在复制、转录和翻译三个水平。如上所述，在复制和转录水平影响细小病毒基因表达调节包括两个因素：(1)病毒基因组本身的调控区：3′、5′末端发夹结构、启动子区域、Poly(A)等。(2)病毒自身编码的反式激活蛋白：如NS1、NS2蛋白。

以上细小病毒调节基因和调控蛋白等彼此相互作用，从而构成一个基因组表达调节网络系统，该网络是建立在各种调节因子间形成的一种动态平衡。许多研究者相继已建立了在细胞核内直接影响转录而调节基因表达的模型，同时越来越多的研究表明，转录后水平在基因表达调节中也起重要作用。

除上述调节因素外，细胞因子的调节作用更显得重要，但目前这方面的研究多集中于AAV在不同细胞中表达调节机制的研究。

应特别指出的是，多数细小病毒(如MVM、CPV、BPV等)在宿主细胞内增殖很快，基因表达水平高，致使宿主细胞死亡，引发急性病程，而ADV病毒对宿主多呈慢性或持续性感染，使

维普资讯 http://www.cqvip.com

体内维持高水平的抗体,但这种抗体并不能保护幼貂免患 ADV 病毒感染。以往的解释多侧重于 ADV 与机体免疫反应的相互作用,以及 ADV 与宿主细胞的相互作用方面加以探讨。结果证实了 ADV 在宿主细胞内复制缓慢,这种增殖的特性反而使机体维持较高水平的抗 ADV 抗体,ADV 抗体又进一步抑制了 ADV 复制,其结果使 ADV 引发疾病类型呈慢性损伤和长期的持续性感染。为什么会在 ADV 致宿主感染病程发生过程中表现出与众不同的致病特性?最近 Christensen[20]等人对 ADV 基因表达与调节的研究表明,ADV 基因表达和免疫反应的相互作用决定了 ADV 致病过程。

ADV 详尽的基因转录过程已明确,基因组中有两个转录启动子 P3 和 P36,P3 启动的 mRNA 分别翻译 ADV 病毒 NS1、NS2 和 NS3 蛋白;P36 启动一种 mRNA 翻译 ADV 结构蛋白 VP1 和 VP2。多数自主细小病毒早期转录均有激活晚期启动子的作用,这样在细小病毒感染后期,可检测出丰富的晚期转录产物。这种早、晚期启动子的切换调节是细小病毒基因表达调节的一个基本特点。ADV 病毒甚至在其感染后期,P36 启动子起始转录活性仍很低,比较研究证实,ADV 晚期启动子的转录激活水平以及随后的转录表达水平均低于其它的细小病毒,如 MVM、CPV 的晚期启动子。P36 低效率启动又使病毒结构蛋白 VP1、VP2 缓慢积累,VP1、VP2 自身又影响了病毒 DNA 复制和包装。ADV 晚期启动子的这种低效率启动活性,就使 ADV 在宿主细胞呈非杀伤性生长,从而 ADV 引发貂呈持续性感染病程。为什么单单 ADV 晚期启动子活性这样低?最近 Storgaard[21]等集中研究了与 P36 启动表达有关的顺式调节元件,发现 P36 启动子附近序列以及类似 Tar 元件序列区,直接影响 P36 启动子的活性。比较 ADV、H-1、MVM 启动区序列发现,ADV 启动子也有 TATA 框和 GC 框,所不同的是 ADV 启动子区域中,TATA 框和 RNA 多聚酶起始位点间距离太近,以致 P36 启动子作用降低。H-1、MVM、CPV 启动子内包含的 Tar 元件序列有高度同源性,而与 ADV 启动子内相应序列间同源性很低,这说明 ADV 所致病程与病毒基因表达水平存在本质的关系。

目前对细小病毒分子生物学的研究仍处于极活跃的阶段,这除与其基因组结构特点以及基因表达调节的复杂性和多样化有关外,更重要的是人们发现细小病毒是研究细胞核内病毒基因表达的一个理想模型。此外细小病毒长期存于多种细胞内,但并不影响细胞的生长、形态和分化,另一方面,又表现出对肿瘤细胞的抑制和杀伤作用,其本身又无致癌性,这些都为细小病毒的研究开拓更广泛的领域,诸如基因表达与宿主细胞内因子的相互作用、细小病毒抑制肿瘤的发生、病毒基因与细胞基因的作用方式、细小病毒载体的构建与应用等都是引人关注的研究内容。可以预见,随着分子生物学理论和技术的发展,细小病毒致病机制与免疫以及它本身的各种特性都将得到更加完美的解释和利用。

参 考 文 献

1 Chapman M S, Rossmann M G. Structure, sequence and function correlations among parvovirus. Virology, 1993, 194:491~508

2 Shade R D, Blemdell M C, Cotmore S F *et al*. Nucleotide sequence and genome organization of human parvovirus B19 isolated from the serum of a child during aplastic crisis. J Virol, 1986, 58:921~936

3 Reed A P, Jones E V, Miller T J *et al*. Nucleotide sequence and genome organization of canine parvovirus. J Virol, 1988, 62:266~276

维普资讯 http://www.cqvip.com

4 Chen K C, Shull B C, Moses E A *et al*. Complete nucleotide sequence and genome organization of bovine parvovirus. J Virol, 1986, 60: 1085～1097

5 Ranz A, Manclus J J, Aroca E D *et al*. Porcine parvovirus: DNA sequence and genome organization. J Virol, 1989, 70: 2541～2553

6 Astele C R, Thomson M, Merchlinsky M *et al*. The complete DNA sequence of minute virus of mice, an autonomous parvovirus. Nucleic Acid Research, 1983, 11: 999～1081

7 Bloom M E, Alexandersen S, Perryman S *et al*. Nucleotide sequence and genomic organization of aleutian mink disease parvovirus: sequence comparisons between nonpathogenic and a pathogenic strain of ADV. J Virol. 1988, 62: 2903～2915

8 Tanersall P, Cawte P J, Shatkin A J *et al*. Three structure polypeptides coded by minute virus of mice, a parvovirus. J Virol. 1976, 65: 4629～4635

9 Bloom M E, Alexandersen S, Garan C F, *et al*. Nucleotide sequence of the 5'-terminal palindrome of aleutian mink disease parvovirus and construction of an infections molecular clone. J Virol, 1990, 64: 3551～3556

10 Bando H, Kusuda J, Gojobori T *et al*. Organization and nucleotide sequence of a densovirus genome imply a hose-dependent envolution of the parvovirus. J Virol, 1987, 61: 553～560

11 Rhode S LⅢ. Trans-activation of parvovirus P38 promoter by the 76K capsid protein. J Virol. 1985, 55: 886～889

12 Mi-Li Gu, Rhode S. The parvovirus H-1NS2 protein affects viral gene expression through sequences in the 3'-untranslated region. Virology, 1992, 187: 10～17

13 Tullis G E, Burger L R, Pintel D J *et al*. The minor capsid VP1 of the autonomous parvovirus minute virus of mice is dispensable for encapsidation of progeny single-stranded DNA but is required for infectivity. J Virol. 1993, 67: 131～141

14 Willwand K, Hirt B. The major capsid protein VP2 of minute virus of mice can form particles which bind to the 3'-terminate hairpin of MVM replicative-form DNA and package single-stranded viral progeny DNA. J Virol. 1993, 67: 5660～5663

15 Legrand C, Rommelaere J, Faupuet P C *et al*. MVM(p) NS-2 protein expression is required with NS-1 for maximal cytotoxicity in human transformed cells. Virology, 1993, 195: 149

16 Legendre D, Rommelaere J. Cooperation of oncogens in cell transformation and sensitization to killing by the parvovirus of minute virus of mice. J Gen Virol. 1992, 73: 2003～2009

17 Xu Li, Rhode S L. Nonstructural protein synthesis and virus production in rat cells *in vivo* and *in vitro*. Virology, 1991, 184: 117～130

18 Xu Li, Rhode S L. Mutation of lysine 405 to serine in the parvovirus H-1 NS1 abolishes its functions for viral DNA replication, late promoter trans-activation and cytotoxicity. J Virol. 1990, 64: 4654～4660

19 Schlehofer J R, Heilbron R, Georg-Fries B *et al*. Inhibition of initiator-induced SV40 gene amplification in SV40 transformed Chinese hamister cells by infection with a defective parvovirus. J Cancer, 1983, 32: 59～595

20 Christensen J, Storgaard T, Viuff B *et al*. Comparison of promoter activity in aletian mink disease parvovirus, minute virus of mice and canine parvovirus: possible of weak promoters in the pathogenesis of ADV infection. J Virol, 1993, 57: 1877～1886

21 Storgaard T, Christensen J, Aasted B *et al*. Cis-acting sequences in the aleutian mink disease parvovirus late promoter important for transcription: comparision to cannine parvovirus and minute virus of mice. J Virol, 1993, 67: 1887～1895

22 赵新泰，殷震，赵永军等. 貂肠炎病毒基因组序列的测定和分析，遗传学报，1993, 20: 279～284

23 Langeveld J P M, Casal J I, Vele C *et al*. B-cell epitopes of canine parvovirus: distrbution on the primary structure and exposure on the viral surface. J Virol, 1993, 67: 765～772

24 Langeveld J P M, Casal J I, Osterhaus A D M E *et al*. First peptide vaccine providing protection against viral infection in the target-animal: studies of canine parvovirus in dogs. J Virol, 1994, 68: 4506～4513

25 Agbandje M, Kajigaya S, Mckenna R *et al*. The structure of human parvovirus B19 at 8 A resolution. Virology, 1994, 203: 106～115

26 Brown K E, Anderson S M, Young N S. Erythrocyte P antigen: cellular receptor for B19 parvovirus. Science, 1993, 262: 114～116