112—118 21227(3)

维普资讯 http://www.cqvip.com

第12卷第2期 中国病毒学 Vol.12 No.2
1997年6月 VIROLOGICA SINICA Jun. 1997

牛病毒性腹泻病毒的分子生物学研究进展

王 镇 丁明孝

(北京大学生命科学学院,北京 100871)

S852.653

Research Advances on Bovine Viral Diarrhea Virus

Wang Zhen Ding Mingxiao

(*College of Life Sciences, Peking University, Beijing* 100871)

牛病毒;

关键词 牛病毒性腹泻病毒,瘟病毒属,基因组结构 分子生物学

Key words Bovine Viral Diarrhea Virus(BVDV), Pestivirus, Genomic structure

牛病毒性腹泻病毒(Bovine viral diarrhea virus, BVDV),也称牛病毒性腹泻-粘膜病病毒(Bovine viral diarrhea-mucosal disease virus, BVD-MDV),在分类学上属黄病毒科(Flaviviridae),瘟病毒属(Pestivirus)[1]。鉴于其基因结构及分子生物学特征近来也有人提议新设一瘟病毒科[2,3]。BVDV是瘟病毒属的代表病毒,与属内的猪瘟病毒(Hog cholera virus, HCV;或称Classical swine fever virus, CSFV)及羊边界病病毒(Border disease virus, BDV),在血清学上有交叉反应[4],BVDV感染牛可引起多种临床症状,如:高热、流涎、停食、白细胞减少、粘膜充血等,还可引起奶牛产奶量下降、孕牛的流产及牛的持续性感染[5]。

牛是重要的经济动物,每年死于BVDV感染的牛不少于500万头,占牛饲养总数的0.5~1%[6]。由于BVDV可通过口鼻接触及血液等多种途径传播[7],且感染BVDV的牛发病率高、死亡率低,因此牛群中相当一部分是BVDV的携带者。感染BVDV的孕牛产下的小牛对BVDV有免疫耐受性,可持续感染BVDV,最终有可能发展成致死性的粘膜病而死亡。因此BVDV对畜牧业造成的经济损失是较为巨大的。此外,含有BVDV的牛血清会使体外培养细胞受到污染,用含BVDV抗体的牛血清培养的细胞体外繁殖病毒会影响某些病毒,如猪瘟病毒的繁殖[8]。目前在我国对BVDV的研究工作报道较少。随着养牛业在我国畜牧业中所占比重的不断增加,有必要加强对BVDV的研究并重视对牛病毒性腹泻-粘膜病的防治。

1 BVDV研究概况

牛病毒性腹泻病毒是1946年在纽约州以消化道溃疡和下痢为特征的病牛中首先发现的,1957年分离到毒株[9,10]。1971年美国兽医协会统一命名该病毒为"牛病毒性腹泻-粘膜病病毒"。BVDV可以在牛的肾、脾、睾丸和气管等器官中繁殖。BVDV的细胞培养始于1960年,现在常用牛肾继代细胞株MDBK增殖该病毒及制备疫苗。根据可否使培养细胞产生CPE

* 收稿日期:1996-07-17,修回日期:1996-10-24

维普资讯 http://www.cqvip.com

(cytopathic effect, CPE),可把BVDV毒株分为cp型(cytopathic biotype)和ncp型(non-cytopathic biotype)两类。

BVDV病毒粒子近球形,直径约50 nm[11],有囊膜。在CsCl中浮密度为1.14 g/cm^3,沉降系数S_{20}=140。其核衣壳直径为25~30 nm,由一种分子量为14 kDa的衣壳蛋白构成[11]。

BVDV基因组为单股正链RNA,约为12~13 kb[12-14]。整个基因组可分为5′端非编码区(5′uncoding region,5′-UTR)、开放阅读框架区(open reading frame, ORF)和3′端非翻译区(3′untranslated region, 3′-UTR)三个部分。ORF可编码近4000个氨基酸、分子量约500 kDa的多聚蛋白[15]。多聚蛋白在病毒编码和宿主细胞内的蛋白水解酶的共同作用下,在翻译过程中或翻译后分别进行加工,产生出10~11个成熟的蛋白。其中p14(衣壳蛋白),gp48、gp25和gp53(均为囊膜糖蛋白)四种为病毒的结构蛋白,p54、p80/p125、p10、p30、p58及p75为病毒的非结构蛋白[15-17]。

目前对BVDV复制过程的细节了解得还不很清楚。BVDV可经受体介导的胞饮作用进入细胞。病毒脱衣壳后,进行基因组的复制。BVDV在细胞内增殖过程中一般不关闭宿主mRNA的转录,对宿主细胞自身蛋白质的翻译也影响不大,但其复制受二氨基吖啶的抑制[11]。推测BVDV脱衣壳后在病毒复制酶p75的作用下,以其正链RNA为模板合成负链RNA;再以负链RNA为模板,大量合成病毒基因组RNA[18]。在BVDV感染的细胞中,p75与p80结合在一起共同参与BVDV基因组的复制过程[19]。p80的作用可使新合成的RNA链从模板链上释放下来[20,21]。

在BVDV基因组RNA复制的同时,其蛋白质也在大量合成。BVDV蛋白质的翻译起始于ORF区的第一个密码子AUG,之后可不间断地翻译,直到出现终止密码子TGA。BVDV结构蛋白的加工主要是在核周的内质网和高尔基体内由宿主细胞酶的作用完成的[22,23];非结构蛋白的加工则是在细胞质中主要由BVDV编码的p80/p125作用完成的[24]。

病毒的装配是在内质网和高尔基体中进行的[11,25]。Gray等曾用电子显微镜在内质网腔内观察到了直径约25 nm的病毒核衣壳[11],其囊膜来自内质网或高尔基体的膜。最后病毒可能是通过内质网或高尔基体释放到胞外。

2　BVDV的基因组结构及其表达

随着对BVDV研究的深入,对BVDV进入宿主细胞后的基因复制、表达有了一定的了解,并对病毒编码的蛋白质进行了定位研究[12,14,17]。

BVDV的5′-UCR约有380个核苷酸。5′末端无甲基化的"帽子"结构[26]。5′-UCR序列在BVDV种内各毒株中保守程度很高,因此研究中常根据5′-UCR的序列合成引物作为检测BVDV的探针或用来对BVDV分型[13,27,28]。BVDV的5′-UCR中有6个AUG,但这些AUG均不能启动蛋白翻译,也没有表达产物[12,22]。这是因为BVDV的5′-UCR具有相当保守的稳定的二级结构[29,30],内部有核糖体结合位点(internal ribosome entry site, IRES;或称ribosomal landing pads, RLP),核糖体与IRES结合在空间上有利于从ORF的AUG处启动翻译,而这种结合过程不依赖于5′端结构[31]。瘟病毒属病毒5′-UCR序列高度的同源性和相似的二级结构提示:这一结构在病毒转录、翻译过程中起重要的作用,瘟病毒属病毒可能以相似的机制进行转录和翻译[29]。

BVDV的3′-UTR有223~230个核苷酸。始于ORF的终止子TGA,3′末端不存在Poly

维普资讯 http://www.cqvip.com

(A)"尾"结构[12,13]。3′-UTR内的60个碱基的富含A-T的区域中有8个核苷酸(TGTATATA)的重复序列。另外,3′-UTR中还存在二段50个碱基的相似序列(序列中有30个核苷酸是相同的)。这些重复序列在病毒复制过程中的作用还不清楚[26,31]。

BVDV的基因组中只有一个大的开放阅读框(RNA上第386～12349个核苷酸),包含3988个密码子,可编码449 kDa的蛋白[12]。合成的聚蛋白经不同的前体蛋白分子,最终被加工成10～11个成熟的蛋白。这些蛋白在BVDV的基因组上的定位见图1。

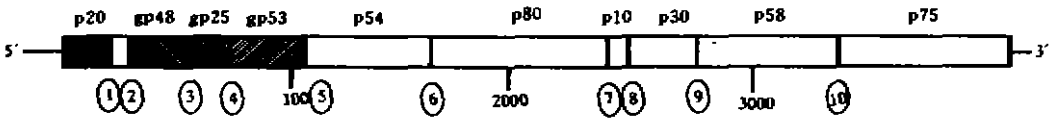

图1 BVDV基因组结构示意图[22]

Fig. 1 Schematic representation of the genomic structure of BVDV[22]

在BVDV ORF翻译的同时,进行对多聚蛋白的加工[17]。最先形成的是p20和前体蛋白Pr gp140、p125及Pr p175。p20是BVDV N端的第一个蛋白质产物,也称N^{pro},由164个氨基酸残基组成[22],具有蛋白水解酶活性,可催化自身从正在翻译的聚蛋白多肽链上断裂下来[17,22]。p20存在于宿主细胞的细胞质中,其His_{49}为其蛋白水解酶活性所必须,可催化Try_{164}－Val_{165}间肽键的断裂。p20与病毒结构蛋白的成熟无关,在宿主细胞中半寿期为110 min,有报道说p20可能也是病毒的一种外壳蛋白[22]。

Pr gp140是病毒结构蛋白的前体分子,分子量为140 kDa的糖蛋白。对Pr gp140的加工主要是在内质网上由宿主细胞的信号酶进行[22,23]。Pr gp140经蛋白水解酶的切割和糖基化酶的修饰,被加工成为成熟的病毒结构蛋白:p14、gp48、gp25和gp53(图2)[17,19,22,23]。p14是BVDV的衣壳蛋白,与病毒的基因组RNA构成病毒的核心。

对BVDV结构蛋白的研究多集中在其囊膜蛋白上。gp53(E2)是病毒囊膜糖蛋白。由于

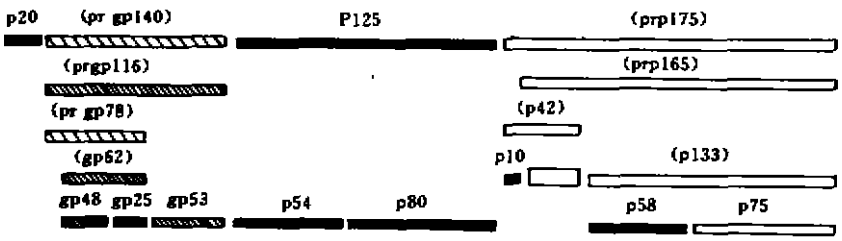

图2 BVDV编码蛋白的加工与成熟过程[17]

Fig. 2 The processing of proteins encoded by BVDV[17]

糖基化程度的不同,分子量可为51～58 kDa[32]。未糖基化的蛋白部分由BVDV ORF编码的第693～892个氨基酸残基组成[23],含有19个Cys和5个可能的N-连接糖基化位点。这些位

维普资讯 http://www.cqvip.com

点在BVDV不同毒株中非常保守[33]。gp53通过C端的疏水区锚定在囊膜上[19],其N端伸出BVDV囊膜表面,是决定BVDV抗原性的主要部位[19],也是与抗BVDV抗体结合,介导免疫中和反应及与宿主细胞识别、吸附的主要部位[19,32,34~36]。Xue等在BVDV的宿主细胞MDBK细胞膜上找到了一种gp53的受体,分子量接近50 kDa的蛋白M(r)[34]。gp53 N端有二个抗原决定区,一个是在种内保守的主要抗原区;另一个则是决定不同毒株抗原特异性的区域。gp53是BVDV结构蛋白中变异率较高的一种结构蛋白[26]。中和逃逸频率为$10^{-2.47}$[19]。gp53的变异性使BVDV对环境有较好的适应性,也是导致疫苗保护失效和牛的持续感染的主要原因[37]。

gp25(E1)非糖蛋白部分分子量为20 kDa[22],以C端的疏水区锚定在BVDV囊膜上[23]。不能与BVDV抗体进行免疫反应。推测gp25埋在病毒囊膜内[35]。gp25可能在病毒包装、成熟过程中协助gp48(E0)的定位[23]。

gp48(E0)也是BVDV的一种囊膜糖蛋白。由于缺乏疏水序列,可能与E1或E2结合,也可被分泌到宿主细胞外[23,38]。gp48是BVDV编码蛋白中保守性很高的蛋白,具有一定的抗原性,可与BVDV抗体进行免疫反应[14]。gp48具有RNase活性[38]。但该活性在瘟病毒增殖及使机体致病过程中所起的作用还不清楚。对gp48的RNase活性的研究有可能为牛病毒性腹泻-粘膜病的防治找到新的途径。

p125是BVDV的非结构蛋白。在ncp型BVDV感染的细胞中,p125是一种成熟的蛋白形式[39];而在cp型BVDV感染的细胞中,除了有稳定的p125外(半寿期长于6 h),还可在其内部的一个位点断裂,产生p54和p80(半寿期在6 h以上)[17]。实验证实所有cp型BVDV感染细胞中均有p80的存在。Meyers等提出:p80是导致细胞产生CPE的因素,是cp型BVDV在蛋白水平上的标志分子[40]。

p54中Cys的含量为3.7%,等电点为10.4。p54有一个保守的富含Cys的区域,可形成类似"锌指"的空间结构,在其"锌指结构域"后还有一段保守的螺旋区。类似的结构存在于可与核酸结合的许多基因调控蛋白中,推测p54可能与BVDV的基因组结合而调控其基因的表达[41]。p54可与gp53共转移,由于p54 N端疏水性很强,可与膜结合,推测p54在BVDV装配过程中也起一定作用[19]。

p80的表达与宿主细胞CPE的产生有密切关系[20,21,24],是多功能的酶。p80的蛋白酶活性中心由N端的三个不连续的氨基酸残基(His Asp Ser)组成,活性依赖于其蛋白结构的完整性,C端的缺失可使酶活性丧失。p80可自催化,从聚蛋白链上断裂下来成为成熟的p80。其蛋白酶活性是BVDV非结构蛋白加工过程中各位点断裂所必须的[24]。

此外,p80还具有核酸酶活性和RNA解旋酶活性,是DEAD/DExH解旋酶家族的一个成员[20,21]。p80可通过水解NTP获得的能量使结合在RNA模板链上的RNA或DNA解旋下来,作用方向是从模板链3′至5′端。在病毒复制过程中p80使新合成的RNA链与模板链分离[20]。

Pr p175是病毒非结构蛋白p58和p75的前体分子。目前对BVDV非结构蛋白p10、p30、p58的性质了解较少。p75是BVDV ORF C端的一个蛋白,具有依赖RNA的RNA聚合酶活性,是病毒的复制酶[18]。

对BVDV基因组结构及其表达策略的研究,可加深对BVDV在宿主细胞中增殖过程及其

维普资讯 http://www.cqvip.com

与宿主细胞相互关系的了解，有利于揭示 BVDV 的致病机制。

3 ncp 型 BVDV 向 cp 型转化的研究

BVDV 的毒株可分为两类，即 cp 型和 ncp 型 BVDV[27,42]。近些年的研究证明 ncp 型 BVDV 可以转化为 cp 型[27,43]。比较 ncp 型和 cp 型的 BVDV 在宿主细胞中蛋白质表达的异同，发现在 cp 型 BVDV 侵染的细胞中可检测到病毒非结构蛋白 p80 和 p54 的存在；而 ncp 型 BVDV 在宿主细胞中只表达 p125。对 cp 型和 ncp 型 BVDV 基因组核苷酸序列的分析显示：病毒基因组 RNA 与宿主细胞 RNA 间的重组，病毒 RNA 自身的重复复制、重排、缺失、替换都可导致 ncp 型 BVDV 向 cp 型转化[14,16,27,40,43]。上述因素导致 BVDV 生物型转变的机制是目前人们感兴趣的问题。

在病毒 p54 蛋白编码区插入一段宿主基因可导致 BVDV 由 ncp 型转变为 cp 型[16,40]。如：cp 型 NADL 株的基因组中插入了一段 270 个核苷酸的宿主细胞 RNA[14]、cp 型 Osloss 株中插入了一段 228 个核苷酸的泛素 RNA 序列[14]。Tautz 等的实验还表明，在有泛素序列插入的 cp 型 Osloss 株中，p125 加工成 p80 是由宿主细胞中泛素 C 端水解酶（ubiquitin carbosyl-terminal hydrolase, UCH）介导的[9]。

另外，重组替换也可导致 BVDV 由 ncp 型向 cp 型的转化[14,16]。cp 型 BVDV 的 Pe515CP 株和 CP6 株基因组中有重排的编码 p20、p80 及 p10 的重复序列。在这两个毒株的蛋白质加工过程中 p80 的 N 端是由 p20 的作用产生的[16]。

Tautz 等报道 DI 颗粒（defective interfering particle，也称缺陷性干扰型颗粒）的存在，可使感染 ncp 型 BVDV 的细胞产生 CPE[43]。他们从持续性感染 BVDV 的牛中分离到 BVDV CP9 毒株。该毒株感染的细胞中不仅具有 12.3 kb 的 BVDV 基因组 RNA，还发现 8 kb 的 RNA 片段。序列分析结果显示：8 kb 的 RNA 片段是 BVDV 基因组 RNA 内部缺失 4.3 kb 的产物，缺失部分是基因组中编码病毒结构蛋白和 p125 N 端的序列。在感染的细胞中，8 kb 片段表达的 p80 导致宿主细胞产生 CPE。

尽管导致 ncp 型 BVDV 向 cp 型突变的原因很多，但在蛋白质表达上却有其共同之处：即突变后的 ncp 型 BVDV 在宿主细胞中可表达病毒非结构蛋白 p80。为什么由 p125 N 端的 2/3 序列所构成的 p80 与细胞产生 CPE 的产生密切相关？Qi 等认为在感染细胞中，P125 N 端的疏水区域使 p125 定位在细胞内质网膜上。p80 缺少这一疏水区域，游离在胞质中，降解细胞中一些重要的蛋白质而损伤细胞[24,27]，导致细胞 CPE 的产生。但 Pidpath 和 Bolin 发现感染 ncp 型 BVDV 的细胞被 cp 型 BVDV 双重感染后，尽管有 p80 的表达，却不产生 CPE[44]。因此认为 p80 的表达只是导致细胞产生 CPE 的必要条件，而不是充分条件。可能需要积累一定量的 p 80 才能导致 CPE。在双重感染的细胞中，cp 型和 ncp 型 BVDV 在复制中相互干扰，p80 不能积累到可使细胞产生 CPE 的量。总之，要搞清楚 p80 的表达与 CPE 产生间的相互关系还需要更多的研究工作。

研究 p80/p125 功能的异同，p80 在病毒复制过程中的作用，对了解病毒复制、病毒与细胞的相互关系以及病毒病的致病机制和防治均具有重要意义。

参 考 文 献

1 Wengler G. Family Flaviviridae. In: RIB Francki et al eds, Classification and nomenclature of viruses. Fifth Report of the In-

维普资讯 http://www.cqvip.com

ternational Committee on Taxonomy of Viruses. 1991, Berlin: Springer－Verlag.

2 Hulst MM, Himes G, Newbigin E *et al*. Glycoprotein E2 of classical swine fever virus: expression in insect cells and identification as a ribonuclease Virol, 1994, 200: 558～565

3 Thiel H－J, Stark R, Weiland E *et al*. Hog cholera virus: molecular composition of virions from pestivirus. J Virol, 1991, 65: 4705～4712

4 Weiland E, Ahl R, Stark R *et al*. A second envelope glycoprotein mediates neutralization of a pestivirus hog cholera virus. J Virol, 1992, 66: 3677～3682

5 殷震,刘景华. 动物病毒学. 北京:科学出版社, 1985. 465

6 Harkness JW. The control of bovine viral diarrhea virus infection. Ann Res Vet, 1987, 18: 167～174

7 Larsson B, Traven M, Hulten C *et al*. Serum concentration of thyroid hormones in calves with a transient or persistent infection with bovine viral diarrhoea virus. Res Vet Sci, 1995, 58: 186～189

8 Wenvoort G, Terpstra C. Bovine viral diarrhoea infections in piglets from sows vaccinated against swine fever with contaminated vaccine. Res Vet Sci, 1988, 45: 143～148

9 Lee KM, Gillespie JH. Propagation of virus diarrhea virus of cattle in tissue culture. Ann J Vet Res, 1957, 18: 952～953

10 Underdahl NR, Grace OD, Hoerlein AB. Cultivation in tissue culture of cytopathyogenic agent from bovine mucosal disease. Proc Soc Exp Biol Med, 1957, 94: 795～797

11 Gray EW, Nettleton PF. The ultrastructure of cell cultures infected with border disease and bovine viral diarrhoea viruses. J Gen Virol, 1987, 68: 2339～2346

12 Collett MS, Larson R, Gold C *et al*. Molecular cloning and nucleotide sequence of the pestivirus bovine viral diarrhea virus. Virol, 1988, 165: 191～199

13 De Moerlooze L, Lecomte C, Brown－Shimmer S *et al*. Nucleotide sequence of the bovine viral diarrhoea virus Osloss strain: comparison with related viruses and identification of specific DNA probes in the 5′ untranslated region. J Gen Virol, 1993, 74: 1433～1438

14 Deng R, Brock KV. Molecular cloning and nucleotide sequence of a pestivirus genome noncytopathic bovine viral diarrhea virus strain SD－1. Virol, 1992, 191: 867～879

15 Collett MS. Molecular genetics of pestiviruses. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 1992, 15: 145～154

16 Meyers G, Tantz N, Stark R *et al*. Rearrangement of viral sequences in cytopathogenic pestiviruses. Virol, 1992, 191: 368～386

17 Collett MS, Wiskerchen M, Welniak E *et al*. Bovine viral diarrhea virus genomic organization. Arch Virol, 1991, Suppl 3: 19～27

18 Collett MS, Larson R, Belzer SK *et al*. proteins encoded by bovine viral diarrhea virus: the genomic organization of a pestivirus. Virol, 1988, 165: 200～208

19 Donis RO, Corapi WV, Dubovi EJ. Bovine viral diarrhea virus proteins and their antigenic analysis. Arch Virol, 1991, Suppl 3: 29～40

20 Warrener P, Collett MS. Pestivirus NS3 (p80) protein possesses RNA helicase activity. J Virol, 1995, 69: 1720～1726

21 Tamura JK, Warrener P, Collett MS. RNA－stimulated NTPase activity associated with the p80 protein of the pestivirus bovine viral diarrhea virus. Virol, 1993, 193: 1～10

22 Wiskerchen M, Belzer SK, Collett MS. Pestivirus gene expression: the first protein product of the bovine viral diarrhea virus large open reading frame p20 possesses proteolytic activity. J Virol, 1991, 65: 4508～4514

23 Rumenapf T, Unger G, Strauss JH *et al*. Processing of the envelop glycoproteins of pestiviruses. J Virol, 1993, 67: 3288～3294

24 Wiskerchen M, Collett M S. Pestivirus gene expression: protein p80 of bovine viral diarrhea virus is a proteinase involved in polyprotein processing. Virol, 1991, 184: 341～350

25 Chu HJ, Zee YC. Morphology of bovine viral diarrhea virus. Am J Vet Res, 1984, 45: 845～850

26 Brock KV, Deng R, Riblet S. Nucleotide sequence of 5′ and 3′ termini of BVDV by RNA ligation and PCR. J Virol Method,

维普资讯 http://www.cqvip.com

1992, 38:39～46

27 Qi FX, Ridpath JF, Lewis T *et al*. Analysis of the bovine viral diarrhea virus genome for possible cellular insertions. Virol, 1992, 189:285～292

28 Ridpath JF, Bolin SR, Katz J. Comparison of nucleic acid hybridization and nucleic acid amplication using conserved sequences from the 5′－noncoding region for detection of bovine viral diarrhea virus. J Clin Microbiol, 1993, 31:986～989

29 Brown EA, Zhang H, Ping LH *et al*. Secondary structure of the 5′ nontranslated regions of hepatitis C virus and pestivirus genomic RNAs. Nucleic Acids Res, 1992, 20:5041～5045

30 Le SY, Sonenbery N, Maizel JV. Unusual folding regions and ribosome landing pad within hepatitis C virus and pestivirus RNAs. Gene, 1995, 152:137～143

31 Poole TL, Wang C, Popp RA *et al*. Pestivirus translation initiation occurs by internal ribosome entry. Virol, 1995, 206:750～754

32 Donis RO, CoRapi W, Dubovi EJ. Neutralizing monoclonal antibodies to bovine diarrhoea virus bind to the 56k to 58k glycopotein. J Gen Virol, 1988, 69:77～86

33 Yu M, Gould AR, Morrissy CJ *et al*. High level expression of the envelope glycoprotein (gp53) of bovine viral diarrhoea virus (Singer) and its potential use as diagnostic reagent. Virus Res, 1994, 34:178～186

34 Xue W, Minocha HC. Identification of the cell surface receptor for BVDV by using anti－idiotypic antibodies. J Gen Virol, 1993, 74:73～79

35 Weiland E, Stark R, Haas B *et al*. Pestivirus glycoprotein which induces neutralizing antibodies forms part of a disulfide－linded heterodimer. J Virol, 1990, 64:3563～3569

36 Mayer R, Minocha HC, Lecomte J. Bovine viral diarrhea virus proteins: heterogeneity of cytopathogenic and non－cytopathogenic strains and evidence of a 53k glycoprotein neutralization epitope. Vet Microbiol, 1988, 16:303～314

37 Hertig C, Stalder H, Peterhans E. Genetic heterogeneity within the coding region of E2 and NS3 in strains of bovine viral diarrhea virus. Gene, 1995, 153:191～195

38 Schneider R, Unger G, Stark R *et al*. Identification of a structural glycoprotein of an RNA virus as ribonuclease. Sci, 1993, 261:1169～1171

39 Donis RO, Rubovi EJ. Differences in virus－induced polypeptides in cells in fected by cytopathic and noncytopathic biotypes of bovine virus diarrhea－mucosal disease virus. Virol, 1987, 158:168～173

40 Meyers G, Tautz N, Dubovi EJ *et al*. Viral cytopathogenicity correlated with integration of ubiquitin－coding sequences. Virol, 1991, 180:602～616

41 De Moerlooze LD, Renard A, Lecomte C *et al* A "zinc finger like" domain in the 54kDa protein of several pestiviruses. Arch Virol, 1991, Suppl 3:41～46

42 Greiser－Wilke I, Jaas L, Dittmar K *et al*. RNA insertions and gene duplications in the nonstructural protein p125 region of pestivirus strains and isolated *in vitro* and *in vivo*. Virol, 1993, 193:977～980

43 Tautz N, Thiel H－J, Dubovi EJ *et al*. Pathogenesis of mucosal disease: a cytopathogenic pestivirus generated by an internal deletion. J Virol, 1994, 68:3289～3297

44 Ridpath JF, Bolin SR. Viral protein products in homogenous mixed infection of cytopathic and noncytopathic bovine viral diarrhea virus. Arch Virol, 1990, 111:247～256