

诺瓦克病毒研究进展

王大鹏^{1,2,3} 吴清平^{1*} 寇晓霞^{1,2,3}

(¹ 广东省微生物研究所 广东省菌种保藏与应用重点实验室 广州 510070)

(² 中国科学院武汉病毒研究所 武汉 430071)

(³ 中国科学院研究生院 北京 100049)

摘 要 诺瓦克病毒(Noroviruses, NVs)是 1972 年在美国首次发现的新生病毒,到 1995 年国内才有报道。该病毒是严重危害人类健康的重要食源性病毒,可导致不同年龄阶段人群的急性病毒性腹泻。因为至今没有发现合适的细胞系和动物模型用于 NVs 的体外增殖,所以对于该病毒的研究相对滞后。随着分子生物学及其他学科不断发展,不同类群 NVs 全基因组测序完成并且病毒核衣壳蛋白分别获得真核和原核系统体外表达,从而对该病毒特性产生了一些新的认识和观点。论文从 NVs 的基因组结构与功能、蛋白质组成与功能、检测方法应用与发展和流行病学积累四个方面,系统介绍了该病毒国内外的研究现状以及其中存在的问题,其中,其蛋白质研究及其检测方法成为 NVs 的热点。论文还对 NVs 分子进化、检测技术和病毒体外增殖模式等提出不同的看法和建议。

关键词: 诺瓦克病毒;食源性;研究进展

中图分类号:Q934 文献标识码:A 文章编号:0001-6209(2007)05-0942-05

诺瓦克病毒(Noroviruses, NVs)又称类诺瓦克病毒(Norwalk-like virus)或小圆结构病毒(small round structured virus),属于嵌杯状病毒科的诺瓦克病毒属^[1],直径约 27nm,无囊膜,是 1972 年由 Kapikian 等首次用免疫电镜的方法发现。该病毒的特点是高发病率、低致病剂量和对外界抵抗力较强。NVs 是导致人类急性病毒性腹泻的主要病原,被 WHO 定为 B 类病原。据美国疾控中心统计,1997~2000 年期间共上报 233 起肠道腹泻病例,其中,经实验室证实约有 86% 与 NVs 有关^[2]。1995~2000 年,欧洲暴发的食源性病毒性腹泻至少有 85% 与 NVs 有关^[3]。日本和澳大利亚等国家均有因 NVs 引发流行病的报道。1995 年,国内由方肇寅等^[4]首次报道因该病毒引起的小儿急性腹泻;10 年来,全国已有多篇因 NVs 引起急性腹泻的报道。

通常根据核衣壳编码基因的不同将 NVs 分为 I 类和 II 类(GI 和 GII),也有以核衣壳蛋白质序列为依据将其分为 I-V 类的报道^[5]。到目前为止,仍没有建立敏感细胞株和动物模型以获得 NVs 体外增殖^[6],无法对其进行血清型鉴定。

1 NVs 基因组

NVs 属于单链正股 RNA 病毒,基因组约 7.7kb,含 3 个稳定的茎环结构,GC 含量约为 48%,具有 5'端连接蛋白和 3'端 ployA 尾巴^[7]。研究表明 3'端 ployA 对于负股 RNA 合成是非必须的^[8]。Jiang 等^[7]对 NVs 基因组测序(M 87661),发现其仅编码 3 个开放阅读框(ORF),依次为 ORF1、ORF2 和 ORF3。

其中,各 ORF 间有部分基因重叠,而不同病毒株的 ORF1 和 ORF2 重叠基因的碱基个数不同。例如 M 87661 两个读码框重叠 14bp,而广东省儿童医院公布序列(DQ369797)重叠基因为 20bp。相对地,ORF2 的终止密码子和 ORF3 的起始密码子仅共用一个 A 碱基。在 GI 中,ORF1 和 ORF2 重叠区的 27bp 与 ORF1 5'端有很高的保守性,而在 GII 中,该重叠区的 28bp 与 ORF1 5'端有很高的保守性。在两类 NVs 的保守序列中分别含有 2 个和 3 个起始密码子^[9]。

NVs 属于 RNA 病毒,强变异性是此类病毒的特点。Bull 等^[9]学者就对 NVs 断裂点进行数据分析并归纳出病毒重组的模式。分析结果显示,病毒基因重组是在 ORF1 与 ORF2 核苷酸重叠区发生。但是,他们所推测的 NVs 的重组变异机制理论上还至少需要满足以下两个条件:第一,共感染的病毒基因必须有一定数量碱基与 NVs 的 ORF1 与 ORF2 核苷酸重叠区互补或相同;第二,共感染的病毒粒子必须与 NVs 在同一个微环境中,而且两种病毒在一定空间距离范围内复制转录,才有发生 RNA 聚合酶跳跃的可能。另外,这种微环境条件存在于哪种细胞、组织或器官还是一个需要探讨和研究的问题。

通常,病毒的 RNA 启动子区形成茎环结构,在 NVs 的 ORF1 与 ORF2 起始区的重复序列中均含有这种茎环结构^[10]。可推测 NVs 基因组 5'端和 ORF2 具有 27/28bp 的保守序列有可能是 RNA 启动子序列的一部分或与启动子的识别有关。但是,与 ORF3 却没有任何相关性。

基金项目:广东省重大科技攻关项目(2002B3100103)

* 通讯作者。Tel/Fax: 86-20-87688132; E-mail: wuqp@gdla.ac.cn

作者简介:王大鹏(1979-)男,山东人,博士研究生,主要从事食品安全监测与控制研究。E-mail: dapeng2557@163.com

收稿日期:2006-11-21;接受日期:2007-01-29;修回日期:2007-02-28

2 NVs 蛋白质

1990年,Jiang等^[11]成功克隆NVs的基因组,并在昆虫细胞中利用杆状病毒表达系统获得不含病毒核酸的类病毒粒子。2005年,Asanaka等^[12]利用缺失疫苗株MVA编码的噬菌体T7 RNA聚合酶在哺乳动物293T细胞中表达NVs基因组和亚基因组cDNA并组装形成类病毒粒子,所获得的类病毒粒子与粪样分离物得到的NVs粒子相似,这有力地推动了对NVs认识的步伐。

2.1 非结构蛋白

ORF1编码非结构蛋白,由类3C蛋白酶剪切为6个蛋白元件,按照N-C顺序,依次编码蛋白48C(p48)、NTP酶(NTPase)、蛋白2X(p22/p20)、病毒基因组连接蛋白(VPg)、类3C蛋白酶(3CL^{pro})和RNA依赖的RNA聚合酶(RdRp)。非结构蛋白N端蛋白序列在GI和GII NVs中差别很大,但其C端蛋白较为保守,也是常用于NVs检测的靶位点。

NTPase又称为p41,可在细胞外结合ATP,但是如果其第168位的氨基酸发生突变则失去该活性。虽然NTPase具有水解ATP的活性,但是不能使异源双链RNA:DNA解旋,即NTPase没有解旋活性^[13]。VPg约15kDa,可共价结合NVs基因组和亚基因组mRNA,且缺少该蛋白的基因组RNA不具有感染性,可见该蛋白在病毒感染方面所起的重要作用。另外,不同病毒家族中该蛋白在病毒复制过程中起到不同的作用^[14]。RdRp则由蛋白酶与聚合酶的前体组成ProPol及成熟聚合酶Pol两部分构成,参与单链RNA的合成。研究表明:ProPol在NVs的复制过程中同时具有蛋白酶与聚合酶双重功能^[15]。在pH6.8~7.5时,RdRp的活性最高且受Mn²⁺浓度影响较大,其他离子影响甚微^[8]。其他非结构蛋白在病毒增殖过程中的功能与作用到目前还不是很清楚。

2.2 结构蛋白

结构蛋白是由ORF2和ORF3共同编码,分别编码VP1和VP2。NVs粒子核衣壳蛋白由90个VP1二聚体与1个或2个VP2组成单元构成^[16]。研究发现组装完整的NVs粒子对外界理化因素抗性较强,但是可溶性蛋白则易被胰蛋白酶从第227位氨基酸处切断^[17]。

VP1分子量为58~60kDa,含有抗原决定簇并具有株特异性^[14]。Hardy ME^[18]等学者利用重组类NVs粒子的单克隆抗体(McAb)定位核衣壳蛋白的抗原决定簇,结果显示:在Western blot和免疫沉淀反应中,8株McAb可以与核衣壳C半段结合,证明在核衣壳C半段含有抗原决定簇,其他3株McAb可识别不同人源NVs相对保守的核衣壳C端457到530位氨基酸的蛋白抗原位点。另外,还有许多学者认为有至少50%的可溶性病毒抗原存在于腹泻样本中。这为该病毒免疫学检测提供了很好的靶标。

利用X射线衍射对GI NVs粒子进行研究,发现该病毒粒子由180个VP1单体形成T=3的二十面体结构,VP1折叠成核衣壳S区和突出的P区2个区域^[19]。S区由217个氨基酸组成,形成NVs粒子二十面体结构的主框架,组装在核衣

壳蛋白的内部,P区变异性强位于核衣壳蛋白的外侧,又可细分为P1(P1-1和P1-2)和P2两个亚区。S区与P区之间仅有8个氨基酸相连,两者形成的二聚体可以增强衣壳蛋白的稳定性并形成电镜可见的突起^[20]。其中P2区是位于病毒粒子表面,嵌入VP1的127个氨基酸并暴露在最外面,是病毒粒子的受体结合位点,也是病毒粒子最易变的区域。该区在免疫反应中起重要的作用且与ABO血组织抗原对NVs易感度不同有关^[19]。还有学者利用进化追踪法对不同NVs毒株进行分析结果表明:不同NVs毒株核衣壳差异很大。S区序列同源性达30%;而P1与P2的同源性分别为11%和8%^[20]。Tan等^[21]研究发现:单一的P区蛋白只形成二聚体而不形成病毒样粒子,但可以像病毒粒子一样结合人类血组织抗原,P区的二聚体可以在pH2到pH11条件下保持稳定^[22]。另外,Tan等^[23]研究表明:P区C端含有高保守的精氨酸簇是NVs吸受体,而且该保守精氨酸簇的缺失和替换都会严重影响P区受体的吸附效率及P区蛋白的形成。另外,缺失实验证明P区是受体结合的必须区域。相反,S区蛋白仅组成小的单层病毒样粒子,但不能结合人类组织抗原。

VP2分子量为22~29kDa,且不同毒株延伸序列有所不同^[24]。该蛋白是一种基本蛋白,等电点大于10.0,据推测其与RNA结合有关^[25]。VP2在病毒复制过程中所起的作用目前还不清楚,但在同病毒科的兔出血性病毒中证实VP2是一种小结构蛋白且每个病毒粒子都有1个或2个拷贝^[26]。Bertolotti-Ciarlet等^[27]学者研究表明体外单独ORF2基因的表达量很低,ORF2+ORF3+3'UTR联合体就可明显提高VP1的表达量。VP2可提高VP1对蛋白酶的稳定性,而且可增加NVs粒子和类病毒粒子的相似性。

3 NVs 的检测

水产贝类和腹泻样本是NVs检测的主要实验和临床检测对象,但国际上还没有统一的NVs检测方法。目前用于检测该病毒的方法主要有电镜法、分子检测和免疫学检测等,这些检测方法是分别基于病毒外形特点、特异性核酸和主要抗原决定簇而建立的。

3.1 电镜法

1972年,Kapikian等学者利用免疫电镜法首次发现NVs,因此该方法便成为NVs判定的经典方法。电镜法包括常规电镜法(EM)和免疫电镜法(IEM)。EM依靠眼观病毒颗粒形状判别,但是由于NVs在电镜下的结构特征不明显,给诊断工作带来很大困难。由于EM的灵敏度较低,需要在发病后2~3d内进行检测而且检测限较高,每克(毫升)样品不低于10⁶个病毒粒子;患病2~3d后,检出率只有10%~20%。IEM可提高电镜的灵敏度10~100倍。该方法是在显微镜检查格上利用患者恢复期血清捕捉同型抗原,从而提高检出率。IEM的缺陷在于它的成功与否完全取决于操作者的技能和经验。另外,电镜法技术要求高、劳动强度大和检测费用高,应用受到很大的制约^[28]。

3.2 分子检测

在分子检测技术中最为常用的是 RT-PCR 方法,也是目前最有效的 NVs 检测方法,被称为 NVs 检测的金标准,主要有 RT-PCR 和巢式 RT-PCR 等。RT-PCR 方法具有应用性强、特异性好等特点。此类方法的引物序列是基于 NVs 基因组保守序列设计的,常用保守区有 RdRp、ORF1 3'端和 ORF2 的两端 4 个区域^[5]。

Mohamed 等^[29]建立一种简单的单管反转录实时定量 RT-PCR,该方法利用双探针和三条引物来增强灵敏性,同时还可以区分粪样中不同基因型的 NVs。利用保守序列设计特异性引物建立半巢式多重 RT-PCR,可以从临床样品中同时检测不同类的 NVs,该方法对于粪样上清的检测限是每微升 20 个病毒粒子,其灵敏度为 100%,比电镜的灵敏度高约 6 倍^[30];一步法 TaqMan RT-PCR 可以检测并鉴别粪样和贝壳类样品中的 G I 和 G II NVs,该方法较巢式 PCR 灵敏度要高,耗时仅为 90min^[31]。

RT-PCR 的检测灵敏度较高且从样品处理到获得 RT-PCR 结果一般需要约 6h 即可完成。RT-PCR 产物一般为几百个碱基,对 NVs 基因组完整性要求较低,对模板提取的技术性要求不高,降低了操作难度。但是,由于 NVs 基因的易变异性,不同毒株序列差别较大,目前还没有任何一对引物可以检出所有的诺瓦克病毒株。VPg 是 NVs 基因组 RNA 具有感染性的必要条件^[14],所以该区具有相对的高保守性,可以参考该区核苷酸序列设计特异性引物用于 NVs 的检测,还可以针对不同类 NVs 设计不同的引物区别感染病毒的类属。另外,制备高质量的 RNA 模板、RNA 的易降解性和样品中含 RT-PCR 抑制剂等是困扰该方法推广应用的难点。

另外,我们建立了 NVs 的 NASBA(nucleic acid sequence-based amplification)检测法,可同时应用于区分 G I 和 G II,而且省时高效,其灵敏度与 RT-PCR 相同甚至更高。以该方法检测临床样本和人工模拟污染贝类样本,检测限分别为 5 pg/ml 和 100pg/1.5g^[32],该方法还可以在仅以目标核酸为模板或高浓度的非特异性核酸存在的混合模板中,均可产生清晰的目标带,表现出高特异性。NASBA 法扩增效率高、灵敏度高、快速易操作,尤其适用在基层单位推广应用。

3.3 免疫学检测方法

免疫学检测虽然操作简单实用性强,但对抗原位点的依赖性和抗体识别的特异性要求较高,也是该方法在 NVs 检测规模化应用中需要解决的关键问题。目前,用于 NVs 检测的免疫学方法主要有 酶免疫检测和 ELISA 等。

酶免疫检测(Enzyme immunoassay, EIA)由 Herrmann 等^[33]首次建立用于检测 NVs 腹泻样本的免疫学方法。EIA 是利用抗 NVs 原始株 8F II a 的 McAb 为基础建立的,该株 McAb 不与其他肠道病毒发生交叉反应。该方法较以多抗建立的 ELISA 方法特异性高两倍,检测限为 1ng/mL。随后,Brinke 等^[34]利用重组蛋白制备 McAb IgM 建立捕获 EIA,适于检测 NVs 及其他 I 类嵌杯状病毒,尤其适合发病早期样本病原的检测。

Richards 等^[28]对已经商业化的 IDEIA™ 类诺瓦克病毒 ELISA 检测试剂盒与经典的 EM 和 RT-PCR 法进行比较试验。结果显示,该方法与 RT-PCR 法相比灵敏度和特异性分别达到 55.5% 和 98.3%;与 EM 相比灵敏度和特异性则分别达到 23.9% 和 99.2%,而且随着检测样品数量的不断增多,该方法的灵敏性和特异性均有不同程度的提高。

由于 NVs 核衣壳蛋白外端的 P2 蛋白变异性较强,而且对于不同类 NVs 粒子的抗原表位差别较大,导致免疫学检测在该病毒的应用变得相对困难。因此,以 NVs 核衣壳为基础寻找易于免疫反应且为 G I 和 G II 的共同抗原决定簇便成为有可能拓宽该方法检测谱的一个突破点。

4 NVs 流行病学

NVs 多在冬春季节诱发急性腹泻,以腹泻、呕吐和恶心想为特征的一种自身限制性疾病,主要致病因素为 NVs 感染所导致的机体严重脱水。典型症状一般在病毒感染后 24~48h 出现,症状可持续 12~24h^[35]。症状消失后,患者仍有几个周的排毒期。该病毒感染性很强,经典传播途径是粪口途径,还可以通过气溶胶传播,呕吐物或腹泻物均可致病,可通过不洁净饮食或与患者亲密接触感染所有年龄阶段的人^[36]。

NVs 感染发病可能与人的 ABO 血组织基因有关。O 型血的个体易感,而 B 型血的个体则不易感。试验结果表明,6 人没有产生分泌型 IgG 的试验者 O 型血 4 人(67%);5 人未产生分泌型 IgA 的试验者均为 O 型血(100%);其中 2 位 O 型血试验者两种抗体都没有产生。而 6 位 B 型血试验者均产生明显的分泌型 IgG 和 IgA^[37]。这对于 NVs 体外增殖模式的探讨有极高的参考价值。

NVs 的免疫反应期较短且抗体的交叉保护性很差,目前没有任何有效疫苗用于该病毒的预防。有关 NVs 疫苗方面的研究报道非常少。研究发现即使成年人经反复感染,该病毒抗体也会逐渐消失^[35]。因没有合适的动物模型,故该病毒的阳性血清还需要志愿者感染后获得,这极大地限制了 NVs 的研究进展。另外,NVs 多导致儿童发病,这可能与其消化道和机体免疫系统发育尚不完全有关。从这一角度来看,进一步研究可尝试用新生乳鼠或仔鸡等幼龄小动物作为 NVs 感染的动物模型,为预防和控制 NVs 地方性暴发的寻找出有效途径。

5 小结

NVs 是导致人类急性病毒性腹泻的罪魁祸首之一,对全球的危害显得日益严重,但是由于至今还没有建立起合适的 NVs 体外增殖体系,一直困扰着该病毒的研究进展。目前,对 NVs 的侵染定殖方式还不清楚,大部分 NVs 蛋白生物学功能研究不透彻,尤其是非结构蛋白;检测该病毒的方法对 RT-PCR 依赖性较大,也没有一种统一的检测方法用于该病毒的检测,缺乏流行病学资料积累。另外,对 NVs 的侵染定殖方式还不清楚,大部分 NVs 蛋白生物学功能研究不透彻,

尤其是非结构蛋白;所以,建立起合适的 NVs 体外增殖模式是加快该病毒研究进展的关键。

参 考 文 献

- [1] Green J, Vinje J, Gallimore CI, *et al.* Capsid protein diversity among Norwalk-like viruses. *Virus Genes*, 2000, **20**(3): 227 - 236.
- [2] Fankhauser RL, Monroe SS, Noel JS, *et al.* Epidemiologic and molecular trends of Norwalk-like viruses associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J Infect Dis* 2002, **186**(1): 1 - 7.
- [3] Lopman BA, Reacher MH, Van Duynhoven Y, *et al.* Viral gastroenteritis outbreaks in Europe, 1995-2000. *Emerg Infect Dis*, 2003, **9**(1): 90 - 96.
- [4] 方肇寅, 温乐英, 晋圣瑾, 等. 在我国腹泻患儿中发现诺瓦克样病毒感染. *病毒学报*, 1995, **11**(3): 215 - 219.
- [5] Zheng D, Andoa T, Fankhauser RL, *et al.* Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virology*, 2006, **346**(2): 312 - 323.
- [6] Duizer E, Schwab KJ, Neill FH, *et al.* Laboratory efforts to cultivate noroviruses. *J Gen Virol* 2004, **85** Pt 1): 79 - 87.
- [7] Jiang X, Wang M, Wang K, *et al.* Sequence and genomic organization of Norwalk virus. *Virology*, 1993, **195**(1): 51 - 61.
- [8] Fukushi S, Kojima S, Takai R, *et al.* Poly(A) and primer-independent RNA polymerase of Norovirus. *J Virol*, 2004, **78**(8): 3889 - 3896.
- [9] Bull RA, Hansman GS, Clancy LE, *et al.* Norovirus Recombination in ORF1/ORF2 Overlap. *Emerg Infect Dis* 2005, **11**(7): 1079 - 1085.
- [10] Pletneva MA, Sosnovtsev SV, Green KY. The genome of Hawaii virus and its relationship with other members of the Caliciviridae. *Virus Genes* 2001, **23**(1): 5 - 16.
- [11] Jiang X, Graham DY, Wang KN, *et al.* Norwalk virus genome cloning and characterization. *Science*, 1990, **250**(4987): 1580 - 1583.
- [12] Asanaka M, Atmar RL, Ruvolo V, *et al.* Replication and packaging of Norwalk virus RNA in cultured mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**(29): 10327 - 10332.
- [13] Pfister T, Wimmer E. Polypeptide p41 of a Norwalk-like virus is a nucleic acid-independent nucleoside triphosphatase. *J Virol*, 2001, **75**(4): 1611 - 1619.
- [14] Hardy ME. Norovirus protein structure and function. *FEMS Microbiol Lett* 2005, **253**(1): 1 - 8.
- [15] Belliot G, Sosnovtsev SV, Chang KO, *et al.* Norovirus proteinase-polymerase and polymerase are both active forms of RNA-dependent RNA polymerase. *J Virol* 2005, **79**(4): 2393 - 2403.
- [16] Prasad BV, Rothnagel R, Jiang X, *et al.* Three-dimensional structure of baculovirus-expressed Norwalk virus capsids. *J Virol*, 1994, **68**(8): 5117 - 5125.
- [17] Hardy ME, White LJ, Ball JM, *et al.* Specific proteolytic cleavage of recombinant Norwalk Virus capsid protein. *J virol*, 1995, **69**(3): 1693 - 1698.
- [18] Hardy ME, Tanaka TN, Kitamoto N, *et al.* Antigenic mapping of the recombinant Norwalk Virus capsid protein using monoclonal antibodies. *Virology*, 1996, **217**(1): 252 - 261.
- [19] Prasad BV, Hardy ME, Dokland T, *et al.* X-ray crystallographic structure of the Norwalk virus capsid. *Science*, 1999, **286**(5438): 287 - 290.
- [20] Chakravarty S, Hutson AM, Estes MK, *et al.* Evolutionary trace residues in Noroviruses: Importance in receptor binding, antigenicity, virion assembly, and strain diversity. *J Virol*, 2005, **79**(1): 554 - 568.
- [21] Tan M, Hegde RS, Jiang X. The P domain of Norovirus capsid protein forms dimer and binds to histo-blood group antigen receptors. *J Virol*, 2004, **78**(12): 6233 - 6242.
- [22] Jiang X, Wang M, Graham DY, *et al.* Expression, self-assembly, and antigenicity of the Norwalk virus capsid protein. *J Virol*, 1992, **66**(11): 6527 - 6532.
- [23] Tan M, Meller J, Jiang X. C-terminal arginine cluster is essential for receptor binding of norovirus capsid protein. *J Virol*, 2006, **80**(15): 7322 - 7331.
- [24] Seah EL, Gunesekere IC, Marshall JA, *et al.* Variation in ORF3 of genogroup 2 Norwalk-like viruses. *Arch Virol*, 1999, **144**(5): 1007 - 1014.
- [25] Glass PJ, White LJ, Ball JM, *et al.* Norwalk virus open reading frame 3 encodes a minor structural protein. *J Virol*, 2000, **74**(14): 6581 - 6591.
- [26] Wirblich C, Thiel HJ, Meyers G. Genetic map of the calicivirus rabbit hemorrhagic disease virus as deduced from *in vitro* translation studies. *J Virol*, 1996, **70**(11): 7974 - 7983.
- [27] Bertolotti-Ciarlet A, Crawford SE, Hutson AM, *et al.* The 3' End of Norwalk Virus mRNA contains determinants that regulate the expression and stability of the viral capsid protein VP1: a novel function for the VP2 protein. *J Virol*, 2003, **77**(21): 11603 - 11615.
- [28] Richards AF, Lopman B, Gunn A, *et al.* Evaluation of a commercial ELISA for detecting Norwalk-like virus antigen in faeces. *J Clin Virol*, 2003, **26**(1): 109 - 115.
- [29] Mohamed N, S andor Bel ak, Kjell-Olof Hedlund, *et al.* Experience from the development of a diagnostic single tube real-time PCR for human caliciviruses, Norovirus genogroups I and II. *J Virol Methods*, 2006, **133**(1 - 2): 69 - 76.
- [30] Yuen LKW, Catton MG, Cox BJ, *et al.* Heminested multiplex reverse transcription-PCR for detection and differentiation of norwalk-like virus genogroups 1 and 2 in fecal samples. *J Clin Microbiol*, 2001, **39**(7): 2690 - 2694.
- [31] Jothikumar N, Lowther JA, Henshilwood K, *et al.* Rapid and sensitive detection of Noroviruses by using TaqMan-based one-step reverse transcription-PCR assays and application to naturally contaminated shellfish samples. *Appl Environ Microbiol*, 2005, **71**(4): 1870 - 1875.
- [32] Kou X, Wu Q, Zhang J, *et al.* Rapid detection of noroviruses in fecal samples and shellfish by nucleic acid sequence-based

- [33] Herrmann JE , Blacklow NR , Matsui SM , *et al.* Monoclonal antibodies for detection of Norwalk virus antigen in stools. *J Clin Microbiol* , 1995 , **33** (9) : 2511 – 2513.
- [34] Brinker JP , Blacklow NR , Estes MK , *et al.* Detection of Norwalk virus and other genogroup 1 human caliciviruses by a monoclonal antibody , recombinant-antigen-based immunoglobulin M capture enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* , 1998 , **36** (4) : 1064 – 1069.
- [35] Sharp TW , Hyams KC , Watts D , *et al.* Epidemiology of Norwalk virus during an outbreak of acute gastroenteritis aboard a US aircraft carrier. *J Virol Methods* , 1995 **45** (1) : 61 – 67.
- [36] Rockx B , De Wit M , Vennema H , *et al.* Natural history of human calicivirus infection : a prospective cohort study. *Clin Infect Dis* , 2002 **35** (3) : 246 – 253.
- [37] Tacket CO , Szeim MB , Losonsky GA , *et al.* Humoral , mucosal , and cellular immune responses to oral Norwalk virus-like particles in volunteers. *Clin Immunol* , 2003 **108** (3) : 241 – 247.

Development of Noroviruses

WANG Da-peng^{1 2 3} , WU Qing-ping^{1*} , KOU Xiao-xia^{1 2 3}

(¹ Guangdong Institute of Microbiology , Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application , Guangzhou 510070 , China)

(² Wuhan Institute of Virology , Chinese Academy of Sciences , Wuhan 430071 , China)

(³ Graduate University of Chinese Academy of Sciences , Beijing 100049 , China)

Abstract : Noroviruses (NVs) were one of the new borne viruses , which was found firstly in the Unit States of America in 1972 and reported in China in 1995. The main food-borne viral pathogens affect people badly and cause the epidemic acute gastroenteritis in all kinds of people. And to this day , however , no cell lines and animal models have been found , which has hampered the study of these viruses. With the progress of the molecular biology and other subjects , the genomes of different NVs were sequenced , and the proteins of the viruses were expressed *in vitro* by the eukaryotic and prokaryotic expression systems respectively. Therefore , the novel knowledge and ideas on NVs were developed quickly in the character of these kinds of viruses. In this article , the NVs were described systematically , such as the structure of genomes and function of these nucleotides , organization and function of proteins , application and development of detecting and accumulation of epidemiology. Furthermore , the majority of researchers were interested in and focused on the study of protein and the detection of viruses. The progress and obstacles in this field were also involved. In addition , the suggestions were mentioned about the molecular evolution , detection and multiplication system *in vitro* on the viruses.

Keywords : Noroviruses ; food-borne ; development