

## 博卡病毒属基因组特征与致病的分子机制

李建宁, 姚青, 孙玉宁\*

宁夏医科大学生物化学与分子生物学系, 银川 750004

**摘要:**博卡病毒是细小病毒科细小病毒亚科的成员之一。目前已知博卡病毒成员有牛博卡病毒、犬博卡病毒、人博卡病毒、以及新鉴定的猪博卡病毒, 猩猩、猫、犬以及加利福尼亚海狮体内发现的新博卡病毒成员。作为新发病原, 博卡病毒成为各国科研人员的研究热点。本文结合前人的文献和我们近期的研究成果, 对博卡病毒的家族成员分类、基因组结构与复制、临床致病特点、致病分子机制等方面进行了阐述, 为广大科研人员对博卡病毒的研究提供一定的帮助。

**关键词:**博卡病毒, 新发病原, 细小病毒

**中图分类号:** R392      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0001-6209 (2013) 05-0421-08

近年来, 随着分子生物学技术在病毒学研究领域中的应用, 由病毒引起的世界性呼吸道疾病越发显得突出, 如 2002 年冠状病毒在我国引起的严重急性呼吸综合症 (Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS) 的爆发流行, 2006 年甲型流感病毒 H1N5 亚型 (禽流感病毒) 在世界范围的爆发流行以及 2009 年 H1N1 亚型 (猪流感病毒) 的爆发流行。2005 年, 瑞典科学家 Tobias Allander<sup>[1]</sup> 采用随机体外聚合酶链反应 (Polymerase Chain Reaction, PCR) 扩增技术, 测序并结合生物信息方法, 对儿童急性呼吸道感染的标本进行大规模筛查, 发现一种新的人类呼吸道病毒, 被命名为人博卡病毒 (human Bocavirus, HBoV)。随后澳大利亚、美国、加拿大、法国、日本、泰国等国家也相继应用 PCR 的方法, 从临床小儿下呼吸道样本中检测到人博卡病毒<sup>[2]</sup>。2006 年至今, 我国科研工作者也相继报道在北京、浙江、上海、重

庆、兰州等全国各地检测到 HBoV 的感染病例。和人博卡病毒 HBoV 属于同一博卡病毒家族 (Bocavirus) 属的还有牛博卡病毒 (Bovine Parvovirus, BPV) 和犬博卡病毒 (Minute virus of Canine, MVC)。近来又有报道, 在黑猩猩、猪、猫、犬以及加利福尼亚海狮体内发现了博卡病毒的新家族成员<sup>[3-8]</sup>。这些病原大多分离于患病个体, 其很可能在不同生物疾病的发生中起到一定的作用。本文就博卡病毒成员组成、基因组结构与复制、临床致病特点、致病分子机制等方面进行了阐述, 希望对广大研究者有所帮助。

### 1 博卡病毒家族成员和基因组分子特征

博卡病毒 (Bocavirus) 属细小病毒家族成员之

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (81060130); 宁夏自然科学基金项目 (NZ10107)

\* 通信作者。Tel: +86-951-6980113; E-mail: sunraining2008@hotmail.com

**作者简介:** 李建宁 (1976-), 男, 宁夏银川人, 讲师, 博士, 主要从事病毒感染与免疫方面的研究。E-mail: ljn1976@gmail.com

**收稿日期:** 2012-10-17; **修回日期:** 2013-02-17

一。国际病毒命名委员将细小病毒亚科分为 5 个属:即细小病毒属 (Parvovirus)、依赖性病毒属 (Dependovirus)、核红病毒属 (Erythrovirus)、阿姆多病毒属 (Amdovirus) 和博卡病毒属 (Bocavirus)。目前博卡病毒属主要含有 3 个家族成员:牛博卡病毒 (BPV)、犬博卡病毒 (MVC)、人博卡病毒 (HBoV)。最近报道,在黑猩猩 (GBoV)、猪 (PBoV)、猫 (FBoV)、犬 (CBoV) 以及加利福尼亚海狮中也发现了博卡病毒的新家族成员<sup>[3-8]</sup>。新成员的发现,为博卡病毒的研究拓开新的研究方向和领域。

细小病毒科的总体结构特征为直径为 20 nm - 26 nm,无包膜、为等轴对称二十面体的小颗粒。病毒基因组相对较小,属于线性单链 DNA 分子,可以是正链,也可能为负链分子,基因组大小约为 5kb 左右,其 DNA 复制完全依赖于宿主细胞<sup>[9]</sup>。总体情况下,细小病毒基因组含有 2 - 3 个基因编码区,主要编码 2 种类型蛋白,一是病毒的结构蛋白,即病毒衣壳蛋白 (VP1, VP2, VP3);另一种是非结构蛋白 (NS1, NS2, NP1)。其中 VP2 系构成衣壳蛋白的主要成份,在病毒的感染中发挥重要作用。病毒的线性单链 DNA 分子末端碱基序列构成回文序列,称为发卡结构末端 (Terminal Hairpin-like Structure),此结构的形成是病毒 DNA 复制及转录,病毒感染性的

重要结构基础,具有重要的功能。目前普遍认为发卡结构存在 3 个方面的功能:一是由于局部互补碱基的作用使末端起到复制引物的作用,作为病毒线性 DNA 分子复制的起始点;二是作为空间结构调节区域用于调整 DNA 分子末端复制叉的构型;三是发卡结构中含有病毒非结构蛋白 NS1、结构蛋白的转录控制元件,参与转录及病毒 DNA 与结构蛋白相互作用<sup>[9]</sup>。也正是由于末端的局部发夹结构,使得直接通过病毒样本,或 RT-PCR 来获得发卡结构的碱基序列变得十分困难。

博卡病毒属家族成员中,BPV、MVC 线性的全基因组 DNA 序列(包括末端发卡结构部分)已研究得比较清楚,并且获得了感染性克隆载体;而 HBoV、PBoV 及 GBoV 目前均未获得其完整的 DNA 序列。BPV 的线性单链分子 DNA 分子主要以负链形式存在(病毒分子中 90% 为负链)<sup>[9]</sup>,因而我们也推测 MVC 病毒分子也是以负链作为主要的存在形式。BPV 和 MVC 的线性基因组大小 5kb 左右,分子结构(包括两个末端的发卡重复结构)非常相似,在此根据我们小组成员的前期研究成果和相关文献报道,以 MVC 基因组分子特征为例,总结绘制线性、单链博卡病毒基因组 DNA 分子结构模式图如下(图 1)。

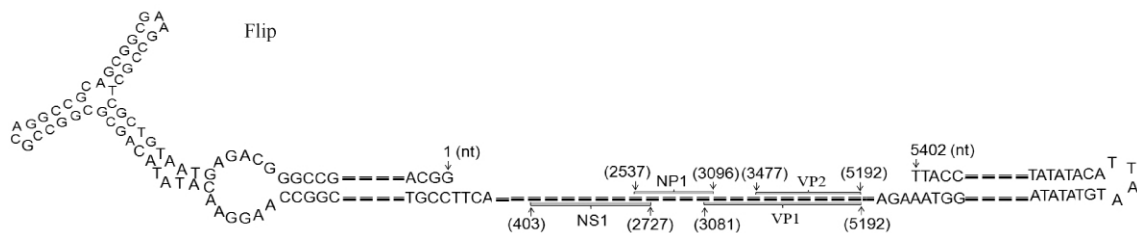


图 1. 博卡病毒 MVC 基因组序列和结构示意图

Figure 1. Schematic diagram of sequence and structure of MVC genome The MVC genome is composed of 5,404 nucleotides (nt). It had distinct palindromic hairpins of 183 nt and 198 nt at the left-end and right-end termini of the genome, respectively. The left-end terminus was also found in two alternative orientations (flip or flop). The only one promoter (P6) located at nt 350. The genomic sequence of MVC revealed three open reading frames (ORFs). The left-hand ORF (nt 403 to 2727) was predicted to encode the nonstructural protein NS1. The middle ORF (nt 2537 to 3096) is thought to encode the abundant 20-kDa nonstructural protein NP1, which is a bocavirus unique protein among parvoviruses. The right-hand ORF (nt 3081 to 5192 or nt 3477 to 5192) was predicted to encode the structural protein VP1 or VP2, respectively. The stem-arm structures at two-end hairpin contains the NS1 binding sites, which had important implications for the viral DNA replication of MVC.

近年来研究发现:在 HBoV、PBoV 感染的组织或粪便中筛查获得以附加体 (episome) 形式存在的环状博卡病毒基因组,其序列与熟知的线状基因组略有不同。Kapoor<sup>[10]</sup> 及 Zhao<sup>[11]</sup> 等先后从 HBoV 感

染的组织及粪便中获得 HBoV3-E1 (5319 nt)、HBoV2-C1 (5307 nt) 环状基因组,并且二者在末端非编码区结构上有区别之处。国内学者杨晚竹等<sup>[12]</sup> 利用半巢式 PCR 方法在健康猪粪便标本中筛

查出 2 株猪博卡病毒环状附加体 PBoV-G2 和 PBoV-G3, 并通过序列分析及二级结构的预测, 发现 PBoV-G2 与 HBoV3-E1 附加体结构相似, 而 PBoV-G3 与博卡病毒属其他成员的末端二级结构存在较大差别。博卡病毒 HBoV、PBoV 环状附加体的发现揭示了此类博卡病毒与其他细小病毒的复制方式存在一定差异, 这为今后博卡病毒感染性克隆的构建提供了一条新的研究思路。

### 1.1 博卡病毒 BPV 的基因组分子特征

博卡病毒 BPV 的研究是博卡病毒属 3 个成员中研究的最多, 目前对于博卡病毒的有关知识主要来自早期对 BPV 的研究<sup>[13]</sup>。BPV 全基因组序列 (包括两个末端的发夹结构) 含有 5515 碱基, 左侧末端“兔耳型”的发夹结构含有 155 碱基, 右侧末端“U 型”的发夹结构含有 163 碱基。BPV 基因组含有 3 个阅读框架, 左侧端阅读框架编码非结构蛋白 NS1; 中间阅读框架编码非结构蛋白 NP1, 分子量大小在 24 kDa, 目前对其功能知之甚少; 右侧端是一个大的阅读框架编码结构蛋白, 其内包含有 3 个小读码框, 经转录调节和转录后修饰编码具有相同的 C 端的 3 个结构蛋白 (衣壳蛋白): VP1 (80 kDa), VP2 (72 kDa) 和 VP3 (62 kDa)。BPV 基因组只含有一个转录启动子 (P4), 经转录产生的一个前提 mRNA (Pre-mRNA) 经过不同方式的剪切, 形成至少 8 个转录体。1988 年 Shull BC 等<sup>[13]</sup> 研究小组报道获得了 BPV 的感染性克隆, 揭示了 BPV 基因组的一些基本特性, 由于时间等诸多原因, BPV 感染性克隆已失传。我们在前期研究中, 利用 BPV 病毒感染其易感的牛胚气管细胞 (EBTr 细胞) 后, 通过病毒纯化和分子克隆技术, 再次获得了 BPV 基因组两末端的反转重复序列, 通过测序和分析, 序列结构和二级构型与先前文献报道一致, 同时我们也获得到了 BPV 全基因组克隆, 目前感染性正在鉴定中<sup>[14]</sup>。

### 1.2 博卡病毒 MVC 的基因组分子特征

博卡病毒 MVC 最早由 Binn 等研究小组首次从犬的粪便中分离得到, MVC 能够感染沃尔特里德犬 (WRD, Walter Reed canine) 细胞, 并能产生很高滴度的病毒颗粒。2002 年 Schwartz 等<sup>[15]</sup> 报道了 MVC 的不完全基因组序列 (GenBank accession no. NC-00442), 基因组大小为 5097 nt (缺少两个末端发卡结构序列), 随后, 日本和中国上海的研究者<sup>[16-17]</sup> 也先后报道 MVC 样本的不完全基因组序

列, 都是缺少末端的发卡结构序列。我们在前期研究中, 通过分子克隆策略和技术, 成功获得了 MVC 病毒的两个末端发夹回文结构的碱基序列, 首次报道博卡病毒 MVC 的全基因组序列, 并获得了博卡病毒 MVC 的感染性克隆载体 pI-MVC<sup>[14]</sup>。我们研究发现<sup>[14]</sup>: MVC 病毒基因组全长为 5402 nt (GenBank accession no. FJ214110.1, 包含两个末端的重复回文发夹结构), 其中左侧末端重复回文序列含有 183 碱基, 形成与 BPV 相似形状的“兔耳型”发夹结构; 右侧末端含有 198 nt 碱基, 形成“U 型”的发夹结构。同时研究证实: 博卡病毒 MVC 基因组同样含有 3 个阅读框架, 左侧端阅读框架编码非结构蛋白 NS1, 分子量大小在 85 kDa; 中间阅读框架编码非结构蛋白 NP1, 分子量大小在 20 kDa; 右侧端是一个大的阅读框架, 分别编码结构蛋白 VP1 (81 kDa), VP2 (67/63 kDa) 和 VP3 (61 kDa)。同时, 利用 Northern blot 结合 RNA 保护试验, 证实 MVC 基因转录体 mRNA 经过剪接后, 至少产生 6 种转录体, 分别作为 MVC 病毒非结构蛋白 NS1、NP1, 结构蛋白 VP1/VP2 的翻译模板<sup>[14]</sup>。MVC 基因组结构特征见图 1 所示。

### 1.3 博卡病毒 HBoV 的基因组分子特征

人博卡病毒是近年来新发现的博卡病毒属成员: HBoV1-HBoV4<sup>[1,18]</sup>。Tobias Allander 等<sup>[1]</sup> 报道 HBoV1 基因组序列全长为 5299 nt, 由于缺少两侧末端的发夹回文序列, HBoV1 克隆载体不具有感染性。序列比对分析发现, HBoV 碱基序列及结构与已知的博卡病毒 BPV 和 MVC 十分相似, 同源性达到 51% - 53%<sup>[14]</sup>。HBoV1 的 NS1, NP1 及 VP1 基因序列与 MVC 基因的同源性分别达到 38.5%, 39.9% 和 43.7%。NP1 氨基酸序列与 MVC 的同源性达到 40%。2009 年 Dijkman R 等<sup>[19]</sup> 报道 HBoV 能够感染人呼吸道上皮细胞并能进行病毒的扩增, 并通过 RT-PCR 的方法初步分析了 DNA 的转录特点, 但是细胞产生的病毒滴度很低。最新研究报道, Huang 等<sup>[20]</sup> 利用 HBoV 碱基序列与博卡病毒 BPV 和 MVC 非常相似的特性, 采用反向遗传分析策略, 通过 PCR 扩增获得了 HBoV1 两个末端的“发卡样”回文重复序列。HBoV1 左侧末端的“兔耳型”和右侧末端“U 型”的发夹结构与 MVC 和 BPV 极为相似。同时 Huang 等采用反向遗传策略获得并构建了 HboV1 全长基因组序列 (GenBank no. JQ923422,

5464 nt), 克隆载体 pIHBoV1 转染 HEK293 细胞后, 能够检测到病毒基因组的复制并形成病毒子, 而且 pIHBoV1 能够感染具有分化极性的呼吸道上皮细胞。这些研究成果为深入研究 HBoV 的分子特征、致病机制提供了帮助和研究前景。

## 2 博卡病毒基因组复制方式

目前认为 BPV 和 MVC 线性 DNA 基因组的复制方式属于细小病毒典型的复制形式: 即基于发卡结构的滚环复制模式 (rolling-hairpin' model), 以发卡结构末端作为复制的引物, 开始基因组复制的起始, 采取 Head-to-Head, Tail-to-Tail 形成复制中间体的复制模式。以附加体形式存在的环状基因组是如何进行病毒基因组复制呢? 2009 年 Schnepf 等<sup>[21]</sup> 研究报道, 自然状态下存在的环状 AAV 病毒以自身为模板, 采用特异性线性滚环复制方法, 可以快速大量合成 AAV 分子克隆并能在 AAV 容许细胞中进行复制。目前推测认为: 以附加体形式存在的 HBoV 和 PBoV 环状基因组, 则可能采用 Head-to-Tail 的类似滚环复制模式进行复制, 这一点需要进一步研究和证实。

## 3 博卡病毒感染的流行病学特征和临床症状

### 3.1 博卡病毒 MVC 感染的流行病学特征和临床症状

博卡病毒 MVC 最早在美国被发现, 从成年犬的粪便中分离得到的, 关于 MVC 的分布及与犬类的相关疾病并未完全阐明。早期的研究发现, MVC 与胚胎期的感染时引起的疾病存在密切的关系, MVC 感染能够引发新生幼崽的呼吸困难<sup>[22-23]</sup>、严重的腹泻性肠炎及胚胎死亡<sup>[24-25]</sup>; 动物感染模型研究发现, 在胚胎的肺及小肠组织里均发现病理病灶。这些症状与其他类型的细小病毒引起的胚胎及呼吸疾病的症状非常相似。同时研究发现, MVC 呈阳性的粪便样品中, 往往合并其他病毒的存在<sup>[25]</sup>。2010 年上海交大研究组报道: 从 158 例伴有发热和腹泻的病例中, 检测到 1 例 MVC 阳性病例, 其基因组序列与我们目前研究的 MVC 株序列高度的一致<sup>[17]</sup>。这些结果强烈提示博卡病毒 MVC 感染也呈现全球性的

分布, 而且它与幼犬的急性呼吸道感染、腹泻及胚胎死亡存在密切相关性。

### 3.2 博卡病毒 HBoV 感染的流行病学特征和临床症状

自 2005 年 HBoV 被报道发现以后, 世界各国和地区相继报道在呼吸道感染患者的呼吸道标本中检测出 HBoV, 证实 HBoV 在世界范围内广泛分布。HBoV 全年都可检测到, 流行季节与各地区的气候有关, 多在冬春季节感染流行。目前研究提示 HBoV 是人类常见而重要的呼吸道病原之一, 其易感人群主要是儿童尤其是婴幼儿, 成年人也可发生感染。Allander 等<sup>[1]</sup> 首先就是在呼吸道感染的成年人和儿童的呼吸道分泌物样品中筛查到 HBoV, 并发现 HBoV 阳性感染者均为儿童, 年龄在 4 个月至 5 岁。在呼吸道感染患儿的呼吸道分泌物标本中 HBoV 总的阳性检出率在 3.1% - 18.1%, 检出率的差异与地区、年份、季节和检测人群不同有关。部分文献报道 HBoV 常与其他呼吸道病毒, 如流感病毒、鼻病毒、呼吸道合胞病毒、腺病毒等存在较高的混合感染, 混合感染率可高达 55.6%。HBoV 感染的临床表现症状表现为发热、咳嗽、鼻炎, 少数患者可见到结膜炎或皮疹。除呼吸道症状外, HBoV 感染与胃肠道疾病也存在相关性, 这一点与动物细小病毒很相似, 犬和牛细小病毒可引起相应宿主的胃肠道感染。通常成年人感染 HBoV 多为上呼吸道感染, 病情较轻, 但 HBoV 可能也会引起免疫抑制, 引发成人重症呼吸道感染。Kupfer 等<sup>[26]</sup> 报道 1 例 28 岁的淋巴瘤并发严重肺部感染患者的肺泡灌洗液中检测到 HBoV 的存在。目前关于 HBoV 的流行病学研究多为回顾性, 缺乏对有临床症状患者的详细临床资料记载和长期随访, HBoV 的致病地位有待于进一步研究。

## 4 博卡病毒感染致病的分子机制

细小病毒感染引起靶细胞病变已有广泛的报道, 如鼠细小病毒 MVM (Minute virus of mice), 人细小病毒 B19, 细小病毒 H-1 以及博卡病毒 BPV 等<sup>[27-34]</sup>。目前已公认非结构蛋白 NS1 是细小病毒非常重要的一种多功能磷酸化蛋白, 在病毒 DNA 的复制中发挥重要作用, 敲除 NS1 基因的克隆载体, 在转染嗜性靶细胞后, 病毒基因组失去复制能力和

感染性<sup>[9,14]</sup>。此外,有些病毒的 NS1 蛋白还参与对靶细胞的细胞毒性作用。MVM 感染引起靶细胞发生非凋亡途径的死亡,其中 NS1 蛋白起到很重要的作用,后者介导和干扰细胞内的 CKII 信号通路<sup>[35-37]</sup>。B19 病毒感染引起人源初级红系祖细胞(primary erythroid progenitor cells)发生细胞凋亡,病毒的非结构蛋白 11 kDa 发挥了重要的作用<sup>[27,38]</sup>。H-1 病毒引起受感染细胞发生凋亡或非凋亡途径的死亡,死亡途径视细胞类型不同而不同<sup>[31-32]</sup>。

目前关于博卡病毒致病的分子机理及相关蛋白功能的报道有限。Abdel 等<sup>[33]</sup>报道 BPV 感染靶细胞 EBTR 后,细胞主要呈坏死性变化,而非发生细胞凋亡过程。我们在前期研究中<sup>[14]</sup>,在成功构建了博卡病毒 MVC 的感染性克隆的基础上,揭示了 NS1、NP1、VP1/VP2 基因在病毒基因组 DNA 复制中的相关作用及功能。NP1 基因敲除后,病毒基因组 DNA 的复制能力明显下降;但是当 NP1 基因敲除体 [pIMVC-NP1(-)] 与 NP1 基因克隆载体(包括 BPV、HBoV、MVC 来源)共转染靶细胞后,能够部分补偿 MVC 基因的复制能力。同时研究发现<sup>[32]</sup>,MVC 感染引起靶细胞(WRD)主要产生与线粒体途径相关的细胞凋亡性改变,并且发现这种病理改变与病毒 DNA 的复制明显有关,而单独存在的病毒 NS1、NP1、VP1/2 基因转染后,靶细胞没有产生明显的病变形态,结果提示只有在病毒基因组复制过程中,才会产生靶细胞病变。此外,MVC 感染靶细胞后,主要发生 G2/M 期的细胞周期阻滞。2011 年 Luo 等<sup>[39]</sup>进一步研究发现 MVC 感染导致靶细胞的病变与 MVC 基因组复制引起靶细胞 DNA 损伤密切相关。由此看出,MVC 的致病机制与 BPV 感染的致病机制存在明显不同。

一般认为大多数细小病毒结构蛋白 VP1 的特有区域含有磷脂酶 A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) 的保守序列(如 HDXXY, YXGXG 等区域),具有磷脂酶 A<sub>2</sub> 活性,能够分解磷脂产生溶血磷脂和 3 个自由脂肪酸分子,对于病毒 DNA 从吞噬体进入细胞核起到重要的作用<sup>[40]</sup>。2007 年瞿小旺等利用原核表达体系,表达纯化 HBoV 的 VP1 蛋白,体外方法证实了 HBoV 的 VP1 蛋白磷脂酶 A<sub>2</sub> 活性<sup>[41]</sup>。我们也通过突变的方法,改变 MVC 的磷脂酶 A<sub>2</sub> 的保守序列,发现酶活性的改变,明显影响了博卡病毒 MVC 在靶细胞中的 DNA 复制能力<sup>[14]</sup>。

Huang 等<sup>[20]</sup>利用构建的感染性克隆 pIHBoV,感染具有极性的呼吸道上皮细胞系 HAE (polarized ciliated primary HAE) 后,能够明显看到 HAE 发生细胞肿胀、绒毛减少、细胞连接破坏的病理改变。在病毒感染与细胞发生免疫应答的机制中,我国学者 Zhang 等<sup>[42]</sup> 研究报道,利用近全长 HBoV 克隆载体转染细胞发现,HBoV 能够明显抑制仙台病毒和多聚脱氧腺-胸苷酸 [poly (deoxyadenylic-thymidylic) acid] 诱导的 IFN- $\beta$  产生,同时进一步研究证实病毒非结构蛋白 NP1 在此方面发挥了重要作用,NP1 蛋白通过影响 IFN- $\beta$  启动子 IRF-3 (IRF-3/5D) 而抑制 IFN- $\beta$  的表达。目前对于 HBoV 感染及致病的分子机理方面的研究还十分有限,感染性克隆 pIHBoV 的产生,对于深入研究 BoV 感染及致病机理提供了研究平台和基础。

## 5 展望

博卡病毒作为一种新发现的呼吸道病毒,除了能够引起上呼吸道感染外,更能引起严重的下呼吸道感染和胃肠道症状。目前,尽管在病原学、流行病学、诊断方法、致病机制等方面取得了一定的突破,但在其致病性、感染性克隆、稳定的体外培养系统等方面的研究还比较薄弱,尤其是人博卡病毒的研究方面还需进一步深入研究。相信通过科研人员今后更多的努力,我们会得到更多的关于博卡病毒家族成员的相关知识。

## 参考文献

- [1] Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 2005, 102 (36): 12891-12896.
- [2] Jartti T, Hedman K, Jartti L, Ruuskanen O, Allander T, Söderlund-Venermo M. Human bocavirus—the first 5 years. *Reviews in Medical Virology*, 2012, 22 (1): 46-64.
- [3] Kapoor A, Mehta N, Esper F, Poljsak-Prijatelj M, Quan PL, Qaisar N, Delwart E, Lipkin WI. Identification and characterization of a new bocavirus species in gorillas. *PLoS One*, 2010, 5 (7): e11948.
- [4] Li B, Ma J, Xiao S, Li B, Ma J, Xiao S, Fang L,

- Zeng S, Wen L, Zhang X, Ni Y, Guo R, Yu Z, Zhou J, Mao A, Lv L, Wang X, He K. Complete genome sequence of a novel species of Porcine Bocavirus, PBoV5. *Journal of Virology*, 2012, 86 (2) :1286-1287.
- [5] Blomström AL, Belák S, Fossum C, McKillen J, Allan G, Wallgren P, Berg M. Detection of a novel porcine boca-like virus in the background of porcine circovirus type 2 induced postweaning multisystemic wasting syndrome. *Virus Research*, 2009, 146 (1-2) :125-129.
- [6] Lau SK, Woo PC, Yeung HC, Teng JL, Wu Y, Bai R, Fan RY, Chan KH, Yuen KY. Identification and characterization of bocaviruses in cats and dogs reveals a novel feline bocavirus and a novel genetic group of canine bocavirus. *The Journal of General Virology*, 2012, 93 (Pt 7) : 1573-1582.
- [7] Kapoor A, Mehta N, Dubovi EJ, Simmonds P, Govindasamy L, Medina JL, Street C, Shields S, Lipkin WI. Characterization of novel canine bocaviruses and their association with respiratory disease. *The Journal of General Virology*, 2012, 93 (Pt 2) : 341-346.
- [8] Li L, Shan T, Wang C, Côté C, Kolman J, Onions D, Gulland FM, Delwart E. The fecal viral flora of California sea lions. *Journal of Virology*, 2011, 85 (19) : 9909-9917.
- [9] Kerr JR, Cotmore SF, Bloom ME, Linden RM, Parrish CR. Parvoviruses. New York: Oxford University Press Inc., 2006: 47-121.
- [10] Kapoor A, Hornig M, Asokan A, Williams B, Henriquez JA, Lipkin WI. Bocavirus episome in infected human tissue contains non-identical termini. *PLoS One*, 2011, 6 (6) : e21362.
- [11] Zhao H, Zhao L, Sun Y, Qian Y, Liu L, Jia L, Zhang Y, Dong H. Detection of a bocavirus circular genome in fecal specimens from children with acute diarrhea in Beijing, China. *PLoS One*, 2012, 7 (11) : e48980.
- [12] Yang W, Huang C, Duan Z. Identification and characterization of porcine bocavirus episome. *Chinese Journal of Virology*, 2012, 28 (4) : 418-423. (in Chinese)  
杨晚竹, 黄灿平, 段招军. 猪博卡病毒环状附加体的发现与鉴定. *病毒学报*, 2012, 4 (28) : 418-423.
- [13] Shull BC, Chen KC, Lederman M, Stout ER, Bates RC. Genomic clones of bovine parvovirus: construction and effect of deletions and terminal sequence inversions on infectivity. *Journal of Virology*, 1988, 62:417-4126.
- [14] Sun Y, Chen AY, Cheng F, Guan W, Johnson FB, Qiu J. Molecular characterization of infectious clones of the minute virus of canines reveals unique features of bocaviruses. *Journal of Virology*, 2009, 83 (8) : 3956-3967.
- [15] Schwartz D, Green B, Carmichael LE, Parrish CR. The canine minute virus (minute virus of canines) is a distinct parvovirus that is most similar to bovine parvovirus. *Virology*, 2002, 302 (2) : 219-223.
- [16] Ohshima T, Kawakami K, Abe T, Mochizuki M. A minute virus of canines (MVC: canine bocavirus) isolated from an elderly dog with severe gastroenteritis, and phylogenetic analysis of MVC strains. *Veterinary Microbiology*, 2010, 145 (3-4) : 334-338.
- [17] Shan TL, Cui L, Dai XQ, Guo W, Shang XG, Yu Y, Zhang W, Kang YJ, Shen Q, Yang ZB, Zhu JG, Hua XG. Sequence analysis of an isolate of minute virus of canines in China reveals the closed association with bocavirus. *Molecular Biology Reports*, 2010, 37 (6) : 2817-2820.
- [18] Kapoor A, Simmonds P, Slikas E, Li L, Bodhidatta L, Sethabutr O, Triki H, Bahri O, Oderinde BS, Baba MM, Bukbuk DN, Besser J, Bartkus J, Delwart E. A newly identified bocavirus species in human stool. *The Journal of Infectious Diseases*, 2009, 199:196-200.
- [19] Dijkman R, Koekkoek SM, Molenkamp R, Schildgen O, van der Hoek L. Human bocavirus can be cultured in differentiated human airway epithelial cells. *Journal of Virology*, 2009, 83 (15) : 7739-7748.
- [20] Huang Q, Deng X, Yan Z, Cheng F, Luo Y, Shen W, Lei-Butters DC, Chen AY, Li Y, Tang L, Söderlund-Venermo M, Engelhardt JF, Qiu J. Establishment of a reverse genetics system for studying human bocavirus in human airway epithelia. *PLoS Pathogens*, 2012, 8 (8) : e1002899.
- [21] Schnepf BC, Jensen RL, Clark KR, Johnson PR. Infectious molecular clones of adeno-associated virus isolated directly from human tissues. *Journal of Virology*, 2009, 83 (3) : 1456-1464.
- [22] Carmichael LE, Schlafer DH, Hashimoto A. Pathogenicity of minute virus of canines (MVC) for the canine fetus. *The Cornell Veterinarian*, 1991, 81:151-171.
- [23] Pratelli A, Buonavoglia D, Tempesta M, Guarda F, Carmichael L, Buonavoglia C. Fatal canine parvovirus type-1 infection in pups from Italy. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1999, 11 (4) : 365-367.

- [24] Binn LN, Marchwicki RH, Eckermann EH, Fritz TE. Viral antibody studies of laboratory dogs with diarrheal disease. *American Journal of Veterinary Research*, 1981, 42 (10) :1665-1667.
- [25] Mochizuki M, Hashimoto M, Hajima T, Takiguchi M, Hashimoto A, Une Y, Roerink F, Ohshima T, Parrish CR, Carmichael LE. Virologic and serologic identification of minute virus of canines (canine parvovirus type 1) from dogs in Japan. *Journal of Clinical Microbiology*, 2002, 40 (11) : 3993-3998.
- [26] Kupfer B, Vehreschild J, Cornely O, Kaiser R, Plum G, Viazov S, Franzen C, Tillmann RL, Simon A, Müller A, Schildgen O. Severe pneumonia and human bocavirus in an adult. *Emerging Infectious Diseases*, 2006, 12 (10) :1614-1616.
- [27] Chen AY, Qiu J. Parvovirus infection-induced cell death and cell cycle arrest. *Future Virology*, 2010, 5 (6) : 731-743.
- [28] Cohen S, Marr AK, Garcin P, Panté N. Nuclear envelope disruption involving host caspases plays a role in the parvovirus replication cycle. *Journal of Virology*, 2011, 85 (10) : 4863-4874.
- [29] Ruiz Z, Mihaylov IS, Cotmore SF, Tattersall P. Recruitment of DNA replication and damage response proteins to viral replication centers during infection with NS2 mutants of Minute Virus of Mice (MVM). *Virology*, 2011, 410 (2) : 375-384.
- [30] Poole BD, Kivovich V, Gilbert L, Naides SJ. Parvovirus B19 nonstructural protein-induced damage of cellular DNA and resultant apoptosis. *International Journal of Medical Sciences*, 2011, 8 (2) : 88-96.
- [31] Di Piazza M, Mader C, Geletneky K, Herrero Y Calle M, Weber E, Schlehofer J, Deleu L, Rommelaere J. Cytosolic activation of cathepsins mediates parvovirus H-1 induced killing of cisplatin and TRAIL-resistant glioma cells. *Journal of Virology*, 2007, 81 (8) : 4186-4198.
- [32] Hristov G, Krämer M, Li J, El-Andaloussi N, Mora R, Daeffler L, Zentgraf H, Rommelaere J, Marchini A. Through its nonstructural protein NS1, parvovirus H-1 induces apoptosis via accumulation of reactive oxygen species. *Journal of Virology*, 2010, 84 (12) : 5909-5922.
- [33] Abdel-Latif L, Murray BK, Renberg RL, O'Neill KL, Porter H, Jensen JB, Johnson FB. Cell death in bovine parvovirus-infected embryonic bovine tracheal cells is mediated by necrosis rather than apoptosis. *The Journal of General Virology*, 2006, 87 (Pt 9) : 2539-2548.
- [34] Kivovich V, Gilbert L, Vuento M, Naides SJ. The putative metal coordination motif in the endonuclease domain of human parvovirus B19 NS1 is critical for NS1 induced S phase arrest and DNA damage. *International Journal of Biological Sciences*, 2012, 8 (1) : 79-92.
- [35] Daeffler L, Hörlein R, Rommelaere J, Nüesch JP. Modulation of minute virus of mice cytotoxic activities through site-directed mutagenesis within the NS1 coding region. *Journal of Virology*, 2003, 77 (23) : 12466-12478.
- [36] Nüesch JP, Rommelaere J. NS1 interaction with CKII alpha: novel protein complex mediating parvovirus-induced cytotoxicity. *Journal of Virology*, 2006, 80 (10) : 4729-4739.
- [37] Nüesch JP, Rommelaere J. A viral adaptor protein modulating casein kinase II activity induces cytopathic effects in permissive cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 2007, 104 (30) : 12482-12487.
- [38] Chen AY, Zhang EY, Guan W, Cheng F, Kleiboeker S, Yankee TM, Qiu J. The small 11 kDa nonstructural protein of human parvovirus B19 plays a key role in inducing apoptosis during B19 virus infection of primary erythroid progenitor cells. *Blood*, 2010, 115 (5) : 1070-1080.
- [39] Chen AY, Luo Y, Cheng F, Sun Y, Qiu J. Bocavirus infection induces mitochondrion-mediated apoptosis and cell cycle arrest at G2/M phase. *Journal of Virology*, 2010, 84 (11) : 5615-5626.
- [40] Luo Y, Chen AY, Qiu J. Bocavirus infection induces a DNA damage response that facilitates viral DNA replication and mediates cell death. *Journal of Virology*, 2011, 85 (1) : 133-145.
- [41] Zádori Z, Szelei J, Lacoste MC, Li Y, Gariépy S, Raymond P, Allaire M, Nabi IR, Tijssen P. A viral phospholipase A2 is required for parvovirus infectivity. *Developmental Cell*, 2001, 1 (2) : 291-302.
- [42] Qu XW, Liu WP, Qi ZY, Duan ZJ, Zheng LS, Kuang ZZ, Zhang WJ, Hou YD. Phospholipase A2-like activity of human bocavirus VP1 unique region. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2008, 365 (1) : 158-163.
- [43] Zhang Z, Zheng Z, Luo H, Meng J, Li H, Li Q, Zhang X, Ke X, Bai B, Mao P, Hu Q, Wang H. Human bocavirus NP1 inhibits IFN- $\beta$  production by blocking association of IFN regulatory factor 3 with IFNB promoter. *Journal of Immunology*, 2012, 189 (3) :1144-1153.

# Genomic characteristics of bocavirus and molecular mechanism of its pathogenicity—A review

Jianning Li, Qing Yao, Yuning Sun\*

Department of Biochemistry & Molecular Biology, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China

**Abstract:** Bocavirus was considered as a member of the subfamily parvovirinae of the family parvoviridae, which includes bovine bocavirus, minute virus of canines, human bocavirus, as well as the newly identified swine bocavirus, gorilla bocavirus, feline bocavirus, canine bocavirus and bocavirus identified in California sea lion sample. At present, as an emerging pathogen, bocavirus members attract great attention by researchers worldwide. We reviewed published papers in combination with our study for several aspects of bocavirus family including their classification, genome structure and replication, clinical pathogenic characteristics and molecular pathogenesis.

**Keywords:** bocavirus, emerging pathogen, parvovirus

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81060130) and by the Natural Science Foundation of Ningxia Province (NZ10107)

\* Corresponding author. Tel: +86-951-6980113; E-mail: sunraining2008@hotmail.com

Received: 17 October 2012/Revised: 17 February 2013

## 1953 年创刊以来所有文章全文上网

从 2008 年 1 月开始《微生物学报》的所有文章开始全文上网了。欢迎广大读者登陆本刊主页 (<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>) 浏览、查询、免费下载全文! 由于《微生物学报》历史久远, 为方便读者查阅, 将刊期变化作以下统计。

### 《微生物学报》刊、期统计表

2013 年 5 月统计

时间	刊期	卷号	期号
1953 - 1956	半年刊	1 - 4	1 - 2
1957 - 1958	季刊	5 - 6	1 - 4
1959	季刊	7	1 - 2
1959 - 1962	停刊 3 年		
1962	季刊	8	3 - 4
1963 - 1965	季刊	9 - 11	1 - 4
1966	季刊	12	1 - 2
1966 - 1972	停刊 6 年半		
1973 - 1988	季刊	13 - 28	1 - 4
1989 - 2007	双月刊	29 - 47	1 - 6
2008 - 2012	月刊	48 - 52	1 - 12
2013	月刊	53	1 - 5