

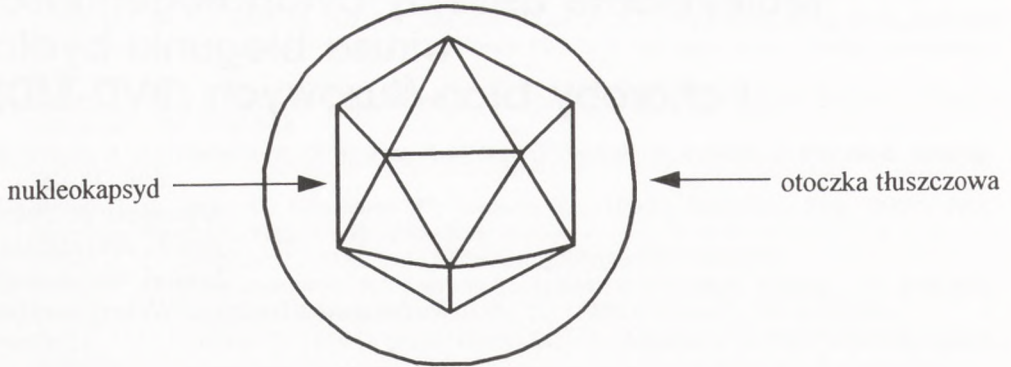
Molekularne aspekty cytopatogenności wirusa biegunki bydła i choroby błon śluzowych (BVD-MD)

Mirosław P. Polak
Jan F. Żmudziński
Zakład Wirusologii
Państwowy Instytut Weterynaryjny
Puławy

1. Wstęp

Wirus biegunki bydła i choroby błon śluzowych (BVD-MDV — *Bovine Viral Diarrhea-Mucosal Disease Virus*) jest powszechnie występującym w populacji bydła na całym świecie patogenem, powodującym poważne straty ekonomiczne oceniane w niektórych krajach na dziesiątki/setki milionów dolarów (3). Straty te wynikają głównie z zakażenia trwałego, które jest konsekwencją zakażeń krów matek w okresie do 125. dnia ciąży i transmisji wirusa do płodu (2). W zależności od zaawansowania ciąży zakażenie wirusem BVD-MD matek może doprowadzać do poronień, rodzenia się cieląt o zmniejszonej żywotności ze skłonnością do zapadania na wtórne infekcje bakteryjne i wirusowe. Mogą rodzić się cielęta z wadami wrodzonymi, jak np. małowózgowie, niedorozwój mózdzku, zwyrodnienie torbielowate mózgu, wodogłowie, niepełna mielinizacja rdzenia kręgowego, zaćma, zwyrodnienie siatkówki, zapalenie nerwu wzrokowego, mikroftalmia, aplazja grasicy, skąpe owłosienie, wyłysienia, opóźnienie wzrostu, niedorozwój płuc oraz szpiku kostnego i zwolniony rozwój kości (2).

Szczególne znaczenie w patogenezie choroby mają cielęta zakażone trwale, będące głównym źródłem wirusa w stadzie. Osobniki takie mogą w późniejszym wieku zachorować na śmiertelną chorobę błon śluzowych na skutek nadkażenia (superinfekcji) homologicznym szczepem wirusa BVD-MD. W Polsce, w populacji bydła, stwierdza się wysoki odsetek zwierząt serologicznie dodatnich (30). Przyjmuje się, że zwierzęta takie są w zasadzie odporne i nie zachorowują przy ponownym kontakcie z wirusem BVD-MD. Brak jest bliższych danych dotyczących rozprzestrzenienia zakażeń trwałych, a zatem zwierząt stanowiących źródło wirusa.

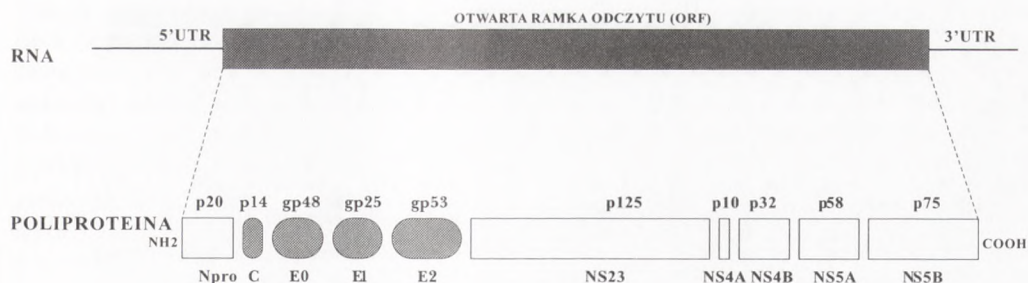


Rys. 1. Schematyczny model wirusa BVD-MD: rdzeń o symetrii dwudziestościanu równoległobocznego osłania otoczka tłuszczowa.

Wirus BVD-MD należy, obok wirusa pomoru klasycznego świń (HCV — *Hog Cholera Virus*) i wirusa choroby granicznej owiec (BDV — *Border Disease Virus*), do rodziny Flaviviridae, rodzaju *Pestivirus* (41). Średnica wirionu wynosi 40-60 nm. Rdzeń wirusa o średnicy 30 nm ma symetrię dwudziestościanu foremnego i osłania go otoczka tłuszczowa szerokości 8 nm. Obecność tej otoczki warunkuje wrażliwość wirusa BVD-MD na działanie rozpuszczalników organicznych (eter, chloroform) (rys. 1). Fenotypowo wirus BVD-MD można zróżnicować na dwa biotypy: cytopatyczny (cp) i niecytopatyczny (ncp) (14). W hodowli komórek zakażonych biotypem cytopatycznym, stwierdza się wakuolizację cytoplazmy, piknozę jąder, zaokrąglenie i odrywanie się martwych komórek od podłoża (21). Biotyp niecytopatyczny nie daje widocznych zmian w hodowli komórkowej nawet po długotrwałej inkubacji. W warunkach naturalnych powszechnie występuje biotyp ncp, zaś mutacje w obrębie jego genomu prowadzą do powstania biotypu cp.

2. Genom oraz kodowane przez niego białka

Materiał genetyczny wirusa BVD-MD, stanowi jednoniciowy kwas rybonukleinowy o dodatniej polarności. Wielkość genomu poszczególnych szczepów jest zmienna i waha się od 12 000 do 13 000 nukleotydów (8). Na końcach wirusowego RNA brak jest dwóch struktur typowych dla większości eukariotycznych mRNA: 7-metyloguanozyny (cap) na końcu 5' i sekwencji poliadenylowej (poli A) na końcu 3' (4). Jedna duża otwarta ramka odczytu (ORF — *Open Reading Frame*) koduje poliproteinę o długości około 4000 aminokwasów. ORF ograniczają rejony niekodujące (UTR — *Untranslated Region*) o długości: 385 nukleotydów na końcu 5' i 230 nukleotydów na końcu 3' (12) (rys. 2). Przypuszcza się, że rejony te podobnie jak cap i poli A kontrolują stabilność RNA (19,27,28). Poliproteina powstała na matrycy



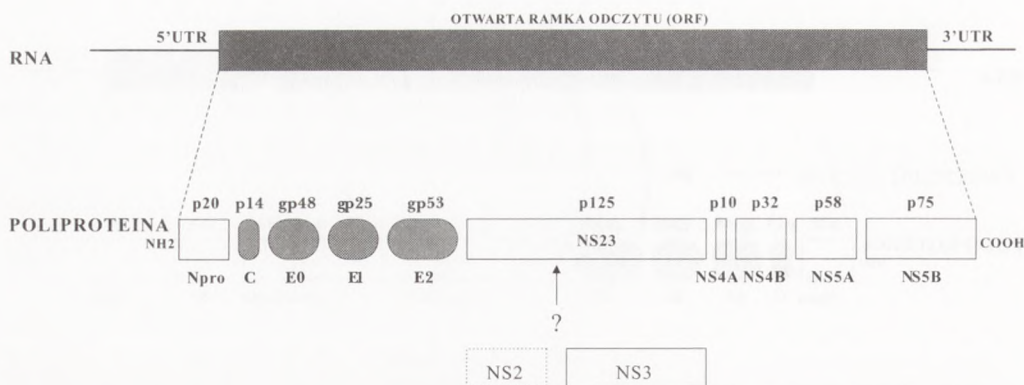
pola zakreskowane — białka strukturalne
pola puste — białka niestrukturalne

Rys. 2. Organizacja genomu wirusa BVD-MD oraz ekspresja białek — biotyp NCP.

RNA wirusa BVD-MD jest cięta przez wirusowe i komórkowe proteazy na pojedyncze białka wirusowe. Powstanie wszystkich białek wirusa wymaga cięcia poliproteiny prawdopodobnie w co najmniej dziesięciu miejscach (9). Proces ten zachodzi podczas translacji oraz posttranslacyjnie.

2.1. Białka strukturalne

Białko **p14/C** jest drugim białkiem wirusa BVD-MD kodowanym od końca 5' oraz pierwszym białkiem strukturalnym. Jest to białko kapsydu otaczające wirusowy genom, tworzące nukleokapsyd (6). W obrębie rejonu kodującego białko p14/C, znajduje się prawdopodobnie wewnętrzna sekwencja sygnałowa, która jest odpowiedzialna za przemieszczenie prekursora dalszych białek strukturalnych (glikoprotein) do retikulum endoplazmatycznego (43). Po odłączeniu z poliproteiny podjednostki p14/C powstaje kompleks określany jako E012. Odłączenie glikoproteiny **gp53/E2**, umożliwia cięcie powstałego kompleksu E01 na **gp48/E0** i **gp25/E1** (34). Podjednostki gp25/E1 i gp53/E2 są zakotwiczone w tłuszczowej otoczce wirusa BVD-MD. Niejasny jest mechanizm związania gp48/E0 z wirionem. Brak rejonu hydrofobowego w sekwencji tej glikoproteiny, sugeruje słabe oddziaływanie z otoczką wirusa. Analiza sekwencji aminokwasowej podjednostki E0 wirusa pomoru klasycznego świń, który wykazuje duże pokrewieństwo z wirusem BVD-MD, doprowadziła do identyfikacji sekwencji typowych dla roślinnych rybonukleaz. Enzymy te mogą oddziaływać cytotoksycznie poprzez degradację komórkowego RNA (35). Białko gp25/E1 posiada dwie domeny hydrofobowe, służące zarówno do osadzenia białka w błonie jak i do zainicjowania procesu przemieszczenia przylegającego do gp25/E1 polipeptydu gp53/E2 (34). W wirionie, gp25/E1 jest kowalencyjnie połączona z gp53/E2 wiązaniami dwusiarczko-



pola zakreskowane — białka strukturalne

pola puste — białka niestrukturalne

(ekspresja białka NS2 nie występuje u wszystkich szczepów cp)

(ekspresja białek NS3 oraz NS2 występuje zawsze)

Rys. 3. Organizacja genomu wirusa BVD-MD oraz ekspresja białek — biotyp CP.

wymi. Glikoproteina gp53/E2 jest ostatnim białkiem strukturalnym wirusa BVD-MD (39). W przeprowadzonych badaniach z użyciem przeciwciał monoklonalnych wykazano, że epitopy rozmieszczone na tej glikoproteinie (gp53/E2) odgrywają podstawową rolę w procesie neutralizacji wirusa BVD-MD (13).

2.2. Białka niestrukturalne

Białko **p20/Npro** (masa cząteczkowa 20 kDa na podstawie migracji podczas elektroforezy w żelu poliakrylamidowym — SDS-PAGE) jest pierwszym produktem translacji RNA wirusa BVD-MD. Stanowi ono autoproteazę uwalniająca się z poliproteiny w wyniku cięcia wewnątrzcząsteczkowego (43). Jedyną poznaną dotąd funkcją p20/Npro jest tworzenie końca aminowego (N) dla następującego po nim białka p14/C. Kolejnym białkiem niestrukturalnym wirusa BVD-MD jest białko **p125/NS23**. Posiada ono cztery główne domeny: „palców cynkowych”, hydrofobową, proteazy i helikazy. Domena typu „palców cynkowych” spełnia, jak się przypuszcza, funkcję wiązania wirusowego RNA przy współudziale hydrofobowej domeny z końca N białka p125/NS23 (10). Kolejna domena o aktywności proteazy serynowej, odpowiada za uwalnianie białek niestrukturalnych przez serię cięć wewnątrz p125/NS23 i międzycząsteczkowych w obrębie wirusowej poliproteiny (15,16,40,44). Pierwsze takie cięcie prowadzi do oddzielenia białka p125/NS23 od poliproteiny (44). U cytopatycznych izolatów wirusa BVD-MD zawsze dochodzi do pojawienia się **p80/NS3**, które jest fragmentem

p125/NS23 (rys. 3), co sugeruje jego udział w destrukcji zakażonych komórek (7,29). Ostatnia domena p125/NS23: helikaza, katalizuje rozdzielanie nici dupleksów RNA. Spełnia zatem ważną funkcję w przygotowaniu RNA do wbudowania w nukleokapsyd (15,16,40,44). Niektóre cytopatyczne szczepy wirusa tworzą białko **p54/NS2**, będące produktem proteolizy p125/NS23 od N-końca (25). Posiada ono domenę typu „palców cynkowych” oraz wysoce hydrofobową domenę od N-końca. Najbardziej konserwatywnym peptydem rodzaju *Pestivirus*, jest białko p80/NS3, występujące jedynie u cytopatycznych szczepów wirusa BVD-MD (rys. 2,3). Zawiera ono domeny helikazy i proteazy i leży przed białkiem p10/NS4A (40,41).

Dalsze białka niestrukturalne powstają w wyniku proteolitycznej aktywności białka p125/NS23 (44). Są to kolejno: wspomniane już białko **p10/NS4A** o nieznannej bliżej funkcji; białko **p32/NS4B** - kofaktor aktywności proteazowej p125/NS23 oraz białka **p58/NS5A** i **p75/NS5B**, odpowiedzialne za replikację wirusowego RNA (6,44). Białko p58/NS5A to prawdopodobnie polipeptyd pomocniczy dla białka p75/NS5B, które jest wirusową polimerazą RNA zależną od RNA.

3. Biotypy wirusa, a choroba błon śluzowych

Przeważający w przyrodzie biotyp ncp wirusa BVD-MD prowadzi najczęściej do zakażenia bezobjawowego o łagodnym przebiegu (1). W przeciwieństwie do zakażeń bezobjawowych, choroba błon śluzowych (MD — *Mucosal Disease*) cechuje się ostrym przebiegiem, z prawie 100% śmiertelnością chorych zwierząt (2). Choroba rozwija się u zwierząt zakażonych trwale biotypem ncp wirusa BVD-MD, w wyniku superinfekcji (nadkażenia) biotypem cp. Do zakażenia trwałego dochodzi w okresie życia płodowego, gdy biotyp ncp wirusa przenika drogą łożyskową do płodu przed nabyciem przezeń immunokompetencji. Powstaje stan immunotolerancji na zakażający biotyp ncp, co prowadzi do przetrwania wirusa w organizmie (brak odpowiedzi immunologicznej i neutralizacji wirusa). W każdym przypadku choroby błon śluzowych izoluje się od chorych zwierząt biotyp cp i ncp wirusa BVD-MD o wysokim stopniu pokrewieństwa antygenowego (określane jako biotypy homologiczne) (5). Dzięki homologii antygenowej, układ immunologiczny gospodarza toleruje nadkażający biotyp cp wirusa BVD-MD i nie wytwarza przeciwko niemu przeciwciał neutralizujących. Prowadzi to do rozwoju choroby błon śluzowych. Jest to niezwykle ciekawe zjawisko, niespotykane w patogenezie zakażeń innymi wirusami. Nadkażenie heterologicznym biotypem cp zwierząt zakażonych trwale, nie prowadzi do powstania choroby, gdyż układ immunologiczny zwierzęcia rozpoznaje w tym przypadku wirus BVD-MD jako obcy antygen i wytwarza przeciwciała, które neutralizują heterologiczny wirus nadkażający (26). Jest to kolejny fenomen towarzyszący zakażeniom wirusem BVD-MD kiedy to, niezależnie od obecności i siewstwa wirusa (szczep ncp), stwierdza się u tego samego osobnika obecność przeciwciał dla wirusa BVD-MD (nadkażenie heterologicznym w stosunku do przetrwałego wirusa ncp wirusem cp). Pierwotnie

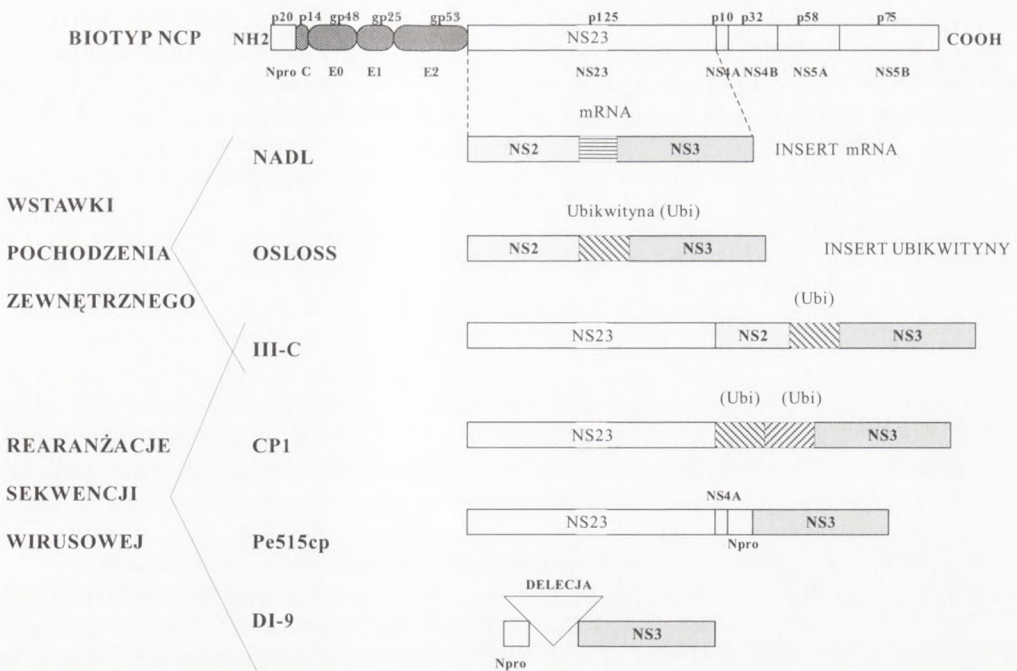
zakładano zewnętrzne pochodzenie cytopatycznego szczepu powodującego powstanie choroby błon śluzowych. Udane próby wywołania MD u zwierząt zakażonych trwale, trzymany w izolacji, skłoniły do zwrócenia uwagi na możliwość wyodrębniania się biotypu cp z przetrwałego w organizmie zwierzęcia biotypu ncp (18). Zjawisko to jest jeszcze jednym fenomenem występującym w przebiegu zakażeń wirusem BVD-MD.

Na poziomie molekularnym jedyną cechą różniącą biotyp cp i ncp wirusa BVD-MD jest pojawianie się białka p80/NS3 podczas namnażania się wszystkich dotychczas poznanych szczepów cytopatycznych. Rejon kodujący p80/NS3 leży w obrębie sekwencji kodującej p125/NS23. W związku z tym p80/NS3 określa się jako marker cytopatogenności wirusa BVD-MD, gdyż jego pojawienie się związane jest z indukowaniem zmian cytopatycznych w zakażonych komórkach (7). Zjawiska te mogą być wynikiem bezpośredniego oddziaływania p80/NS3 z elementami komórek. Może także dochodzić do wzmocnienia replikacji wirusa BVD-MD i związanego z tym wzrostu patogenności. Hipotezę tę, jak się wydaje, potwierdza aktywność enzymatyczna białka p80/NS3 jako proteazy i helikazy.

4. Analiza sekwencji kodującej białko p125/NS23 w szczepach cytopatycznych

Analiza sekwencji p125/NS23 dwóch szczepów cp wirusa BVD-MD (NADL, Osloss), wskazała na istnienie wstawek nukleotydowych (insertów) w tym rejonie (rys. 4). Podobnych insertów nie stwierdzono u badanych szczepów ncp. W przypadku szczepu NADL odkryto istnienie sekwencji komórkowego mRNA o długości 270 nukleotydów, a w szczepie Osloss 228 nukleotydów sekwencji kodującej ubikwitynę*. Obie wstawki są zlokalizowane w rejonie miejsca cięcia białka p125/NS23 czego efektem jest pojawienie się p54/NS2 i p80/NS3. Dotychczas zakładano, że aktywność proteolityczna, jaką wykazuje p80/NS3, pozwala temu białku na samoistne odcięcie się od p125/NS23. Obecność ubikwityny w rejonie kodującym p125/NS23 sugeruje jej współdziałanie w cięciu białka p125/NS23 z następującym powstaniem p80/NS3. Związana z odkryciem ubikwityny hipoteza zakłada, że to komórkowe proteazy rozpoznają p80/NS3 poprzez insert ubikwityny przyczepiony do jego końca N i tną p125/NS23 uwalniając p80/NS3 (37). Analiza sekwencji nukleotydów dla białka p125/NS23 szczepu CP1 (pochodzącego od krowy chorej na chorobę błon śluzowych), wykazała duplikację rejonu ko-

***Ubikwityna** to białko, wysoce konserwatywne u wszystkich komórek eukariotycznych, zbudowane z 76. aminokwasów. Bierze ono udział w takich procesach regulacyjnych jak: ekspresja genów, biosynteza rybosomów, ekspresja receptorów itd. (36). Najlepiej poznany jest współdziałanie ubikwityny w degradacji białek. Poprzez kowalencyjne przyłączenie ubikwityny do substratów białkowych, dochodzi do ich rozpoznania i degradacji przez wysokocząsteczkowe proteazy. Proces ten jest zależny od ATP i wymaga przyłączenia całego kompleksu monomerów ubikwityny (42).



Rys. 4. Zmiany w obrębie sekwencji kodującej białko NS23 u cytopatycznych szczepów wirusa BVD-MP.

dującego p80/NS3, oraz nieobecność drugiego białka wchodzącego w skład p125/NS23, tzn. p54/NS2 (24). Sugeruje to, że w przypadku szczepu CP1 za ekspresję p80/NS3 odpowiedzialny jest zduplikowany rejon sekwencji kodującej p80/NS3. W trakcie dalszej analizy par szczepów ncp-cp izolowanych od zwierząt chorych na MD, w jednym ze szczepów cp nie stwierdzono zmian w obrębie rejonu kodującego białko p125/NS23 (brak duplikacji i insertów), chociaż stwierdzano obecność białka p80/NS3 (32). W tym przypadku hipoteza o istnieniu insertów i/lub duplikacji jako warunku pojawiania się p80/NS3 — białka markera cytopatogenności nie miałyby zastosowania.

Badania potwierdziły bliższe pokrewieństwo pomiędzy parami wirusów ncp-cp izolowanych od chorych zwierząt (90-98% homologii nukleotydowej), niż między izolatami cp i standardowym, laboratoryjnym szczepem cp NADL (82-86% homologii). Umocnia to teorię pojawiania się szczepów cytopatycznych w wyniku zmian w obrębie genomu wirusa niecytopatycznego. Analiza innego szczepu CP9 wirusa BVD-MD, pochodzącego od krwi chorej na MD, wykazała w zakażonych komórkach obecność dwóch rodzajów wirusowego RNA o długości 12 300 nukleotydów oraz 8000 nukleotydów (38). RNA wielkości 8000 nukleotydów odpowiada genomowi wirusa BVD-MD z wewnętrzną delecją 4300 nukleotydów. Obecność delecji jest cechą charakterystyczną

dla interferującej cząstki defektywnej (DIP — *Defective Interfering Particle*)*. W hodowli zakażonej wirusem CP9 stwierdzono obecność dwóch wirusów: pomocniczego i DIP, zapewniającej cytopatogenność poprzez uwalnianie p80/NS3. W genomach wcześniej poznanych szczepów cp wirusa BVD-MD, jak wspomniano, mechanizm pojawiania się p80/NS3 zależny był od obecności insertu ubikwityny, fragmentu komórkowego RNA lub duplikacji w rejonie kodującym p125/NS23. W przypadku wirusa CP9/DIP9, N-koniec białka p80/NS3 powstaje w wyniku aktywności autoproteazy p20/Npro sąsiadującej bezpośrednio z p80/NS3. Jest to wynik delekcji rejonu kodującego wszystkie białka strukturalne oraz fragment sekwencji kodującej p125/NS23 od końca N w genomie DIP9 (rys. 4). Warunkiem rozwoju MD jest immunotolerancja w stosunku do szczepu ncp i nadkażenie homologicznym szczepem cp. Genom wirusa DIP9 nie koduje żadnych białek strukturalnych, a dojrzałe wiriony DIP9 zawierają białka strukturalne wirusa przetrwałego w organizmie krowy zakażonej trwale CP9, który spełnia rolę wirusa pomocniczego w replikacji DIP9. Te unikatowe zjawiska występują tylko podczas replikacji wirusa BVD-MD. Umożliwiają one wirusowi nadkażającemu uniknięcie reakcji obronnej ze strony układu odpornościowego gospodarza, co w efekcie prowadzi do rozwoju śmiertelnej choroby błon śluzowych.

Odmienny mechanizm cytopatogenności wykryto dla szczepu Pe515, u którego nie występuje delekcja fragmentu 4300 nukleotydów (rys. 4). W genomie tego wirusa stwierdzono duplikację sekwencji kodującej białko p20/Npro, leżącej w pobliżu zduplikowanego regionu dla białka p80/NS3 (25). W tym przypadku ekspresja p80/NS3 nie jest wynikiem obecności insertów obcych sekwencji (jak ubikwityna czy RNA komórek gospodarza), a jedynie rearanżacji (duplikacji) nukleotydów w obrębie istniejącej sekwencji genomu wirusa BVD-MD.

5. Podsumowanie

Przedstawione informacje dowodzą, że patogeneza zakażeń wirusem BVD-MD jest unikatowa, niespotykana przy zakażeniach innymi wirusami. Warunkuje ona występowanie szeregu syndromów klinicznych, które są konsekwencją i odbiciem zmian wirusa BVD-MD zachodzących na poziomie molekularnym. Może dlatego tak trudno było zrozumieć zależności jakie występują pomiędzy wirusem a organizmem zwierzęcia. Choroba błon śluzowych bydła, schorzenie o niemal 100% współczynniku zejść śmiertelnych, to wynik

***Interferujące cząstki defektywne** (DIP — *Defective Interfering Particles*) — cząstki wirusowe pozbawione części materiału genetycznego powstałe po seryjnych pasażach nierozcieńczonego materiału wyjściowego (wirus rodzicielski, standardowy). Poznano dotychczas DIP dla niemal wszystkich znanych zarówno DNA jak i RNA wirusów roślinnych i zwierzęcych. Główne cechy DIP to: niekompletny genom; namnażanie się jedynie przy współudziale wirusa pomocniczego (wirus z prawidłowym genomem); specyficzna interferencja replikacji niedefektywnego wirusa homologicznego. Poza ubytkiem materiału genetycznego, niektóre DIP mogą posiadać wstawki obcych sekwencji nukleotydów, lub też duplikacje sekwencji własnych.

nadkażenia biotypem cytopatycznym wirusa BVD-MD zwierząt zakażonych trwale biotypem niecytopatycznym. Zakażenie zwierząt immunokompetentnych szczepem ncp wirusa prowadzi do łagodnego schorzenia z następowym zdrowieniem i wytworzeniem długotrwałej odporności. Porównanie profilów białkowych dla obydwu biotypów wykazało obecność białka p80/NS3 uwalnianego z polipeptydu p125/NS23 w hodowli zakażonej biotypem cytopatycznym. Ponieważ poza uwalnianiem tego białka nie stwierdza się innych różnic pomiędzy obydwoma biotypami, obecność białka p80/NS3 uznawane jest za marker cytopatogenności wirusa.

Założenie, że cytopatogenność zależy od rearanzacji w rejonie kodującym p125/NS23, wiąże się z powstawaniem nowego miejsca cięcia w obrębie p125/NS23, co w konsekwencji powoduje uwolnienie białka p80/NS3. W przypadku jednych szczepów czynnikiem wyzwalającym cytopatogenność, jak się wydaje, jest obecność obcej sekwencji kodującej ubikwitynę, w obrębie rejonu kodującego p125/NS23. U innych szczepów, podobny efekt dają zmiany w postaci duplikacji i delecji w rejonie kodującym p125/NS23. Trzeba jednak zaznaczyć, że istnieją szczepy cp, u których brak jest zmian w rejonie kodującym p125/NS23, a mimo to indukują one zmiany cytopatyczne w hodowli komórek. Sugeruje się obecność innego, poza wymienionymi, mechanizmu warunkującego cytopatogenność wirusa. Analiza molekularna dalszych par izolatów ncp-cp wirusa BVD-MD pochodzących od zwierząt chorych na chorobę błon śluzowych, powinna pomóc w wyjaśnieniu i zrozumieniu tego zjawiska.

Literatura

1. Ames T. R., (1986), *Vet. Med.*, 81, 848-869.
2. Baker J. C., (1987), *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 190, 1449-1458.
3. Bolin S. R., (1990), *Vet. Med.*, 85, 1124-1132.
4. Brock K. V., Deng R., Riblet S. M., (1992), *J. Virol. Methods*, 38, 39-46.
5. Brownlie J., Clarke M. C., Howard C. J., (1984), *Veterinary Record*, 114, 535-536.
6. Collett M. S., (1992), *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 15, 145-151.
7. Collett M. S., Larson R., Belzer S. K., Retzel E., (1988), *Virology*, 165, 200-208.
8. Collet M. S., Larson R., Gold C., Strinck D., Anderson D. K., Purchio A. F., (1988), *Virology*, 165, 191-199.
9. Collett M. S., Tamura J. K., Warrener P., Poole T. L., Potgeiter L. N. D., Wiskerchen M. A., (1993), *Proceedings of the Second Symposium on Pestiviruses*, Ed. Edwards S., Fondation Marcel Merieux, Annecy, (1-3 October 1992), 7-15.
10. de Moerlooze L., Desport M., Renard A., Lecomte C., Brownlie J., Martial J. A., (1990), *Virology*, 177, 812-815.
11. de Moerlooze L., Lecomte C., Brown-Shimmer S., Schmetz D., Guiot C., Vandenberghe D., Allaer D., Rossius M., Chappuis G., Dina D., Renard A., Martial J. A., (1993), *J. Gen. Virol.*, 74, 1433-1438.
12. Deng R., Brock K. V., (1992), *Virology*, 191, 867-879.
13. Donis R. O., Corapi W., Dubovi E. J., (1988), *J. Gen. Virol.*, 69, 77-86.
14. Gillespie J. H., Baker J. A., McEntee K., (1960), *Cornell Vet.*, 50, 73-79.
15. Gorbalenya A. E., Donchenko A. P., Koonin E. V., Blinov V. M., (1989), *Nucl. Acids Res.*, 17, 3889-3897.
16. Gorbalenya A. E., Koonin E. V., Donchenko A. P., Blinov V. M., (1989), *Nucl. Acids Res.*, 17, 4713-4730.

17. Greiser-Wilke I., Haas L., Dittmar K., Liess B., Moennig V., (1993), *Virology*, 193, 977-980.
18. Gunn M., Weavers E., (1992), *Vet. Rec.*, 131, 376.
19. Iizuka N., Najita L., Franzusoff A., Sarnow P., (1994), *Mol. Cell. Biol.*, 14, 7322-7330.
20. Kawai A., Matsumoto S., (1977), *Virology*, 122, 60-71.
21. Larski Z., (1982), *Wirusologia weterynaryjna*, PWRiL, Warszawa.
22. McClurkin A. W., Bolin S. R., Coria M. F., (1985), *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 186, 568-569.
23. Meyers G., Rumenapf T., Thiel H. J., (1989), *Nature*, 341, 491.
24. Meyers G., Tautz N., Dubovi E. J., Thiel H. J., (1991), *Virology*, 180, 602-616.
25. Meyers G., Tautz N., Stark R., Brownlie J., Dubovi E. J., Collett M. S., Thiel H. J., (1992), *Virology*, 191, 368-386.
26. Moennig V., Frey H. R., Liebler E., Pohlenz J., Liess B., (1990), *Vet. Rec.*, 127, 200-203.
27. Molla A., Jang S. K., Paul A. V., (1992), *Nature*, 356, 255-257.
28. Pestova T. V., Hellen C. U., Wimmer E., (1994), *Virology*, 204, 729-737.
29. Pocock D. H., Howard C. J., Clarke M. C., Brownlie J., (1987), *Arch. Virol.*, 94, 43-53.
30. Polak M. P., Żmudziński J. F., (1994), *Materiały konferencji naukowej PAN, PTM, IWet.*, 54, (Puławy 3-4 czerwca, 1994).
31. Popescu M., Schaefer H., Lehmann-Grube F., (1976), *J. Virol.*, 20, 115-119.
32. Qi F., Ridpath J. F., Lewis T., Bolin S. R., Berry E. S., (1992), *Virology*, 189, 285-292.
33. Ridpath J. F., Bolin S. R., (1990), *Arch. Virol.*, 111, 247-256.
34. Rumenapf T., Unger G., Strauss J. H., Thiel H.-J., (1993), *J. Virol.*, 67, 3288-3294.
35. Schneider R., Unger G., Stark R., Schneider-Scherzer E., Thiel H.-J., (1993), *Science*, 261, 1169-1171.
36. Schwartz A. L., Ciechanover A., (1992), *Am. J. Resp. Cell Mol. Biol.*, 7, 463-468.
37. Tautz N., Meyers G., Thiel H. J., (1993), *Virology*, 197, 74-85.
38. Tautz N., Thiel H. J., Dubovi E. J., (1994), *J. Virol.*, 68, 3289-3297.
39. Thiel H.-J., Stark R., Weiland E., Rumenapf T., Meyers G., (1991), *J. Virol.*, 65, 4705-4712.
40. Warrenner P., Collett M. S., (1995), *J. Virol.*, 69, 1720-1726.
41. Wengler G., (1991), *Classification and Nomenclature of Viruses; Fifth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, Eds. Francki R. I. B., Fauquet C. M., Knudson D. L., Brown F., Springer Verlag, Berlin.
42. Węgleński P. i wsp. (1995), *Genetyka molekularna*, Warszawa, 246-247.
43. Wiskerchen M. A., Belzer S. K., Collet M. S., (1991), *J. Virol.*, 65, 4508-4514.
44. Wiskerchen M., Collett M. S., (1991), *Virology*, 184, 341-350.

Molecular aspects of cytopathogenicity of Bovine Viral Diarrhea — Mucosal Disease Virus (BVD-MDV)

Summary

Contemporary views on molecular biology of Bovine Viral Diarrhea Virus are reviewed. Diversity of viral genome in the region coding for p125/NS23 and functions of viral proteins are described. Special emphasis is put on viral cytopathogenicity correlated with the rearrangement of nucleotide sequences of cytopathic strains of BVDV in a region coding for p125/NS23 protein. Pathogenesis of Mucosal Disease with respect to viral genome rearrangements is also reviewed.

Key words:

Bovine Viral Diarrhea Virus, Mucosal Disease, cytopathogenicity, genome organization, sequence rearrangements.

Adres do korespondencji:

Mirosław P. Polak, Zakład Wirusologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy.