

# 浙江省野生动物鼬獾狂犬病毒全基因组序列测定分析

雷永良 王晓光 柳付明 陈秀英 叶碧峰 梅建华 兰进权 唐青

**【摘要】** 目的 测定浙江省分离的2株野生动物鼬獾狂犬病毒株全基因组序列,从分子水平进行遗传变异特征分析,了解狂犬病毒在浙江省的流行和变异情况。方法 RT-PCR测定鼬獾狂犬病毒株全基因组核苷酸序列,并进行基因序列和编码蛋白相似性比较及种系发生分析。结果 测序获得2株鼬獾狂犬病毒全基因组核苷酸序列信息:基因组全长11 923 nts, leader长58 nts,由5个编码区组成:NP(1353 nts)、PP(894 nts)、MP(609 nts)、GP(1575 nts)、LP(6386 nts)、N-P-M-G间隔序列长2、5、5 nts;G-L基因间伪基因 $\Psi$ 长423 nts; trailer长70 nts。核酸BLAST及多序列比对显示,浙江省鼬獾狂犬病毒株全基因组序列的组成和结构符合弹状病毒科狂犬病毒属特征;鼬獾病毒株负链RNA基因组5个基因编码氨基酸的长度没有变异,编码区基因没有发生重组,编码蛋白仅表现较少的序列变化,多数只发生碱基的替代;中国病毒株之间特别是同种动物狂犬病毒之间各个基因区域核苷酸与氨基酸序列相似性最高,鼬獾狂犬病毒基因组序列相似性在氨基酸水平明显高于核苷酸水平,蛋白质编码基因的核苷酸变异大多属于同义突变。结论 鼬獾狂犬病毒与研究中选择代表性疫苗株或者街毒株的变异位点和变异类型相似,多序列相似性比较和N基因种系发生分析显示,鼬獾狂犬病毒均属于基因1型,具有中国地域性特点,2株野生动物鼬獾狂犬病毒极有可能是存在于自然界中固有的街毒株。

**【关键词】** 狂犬病毒; 鼬獾; 全基因组; 序列分析

**Complete genome sequencing and analyses of rabies viruses isolated from wild animals (Chinese Ferret-Badger) in Zhejiang province** LEI Yong-liang\*, WANG Xiao-guang, LIU Fu-ming, CHEN Xiu-ying, YE Bi-feng, MEI Jian-hua, LAN Jin-quan, TANG Qing. *Lishui Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang 323000, China*

Corresponding author: TANG Qing, Email: qtang04@sina.com. *National Institute for Viral Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100052, China*

**【Abstract】** **Objective** Based on sequencing the full-length genomes of two Chinese Ferret-Badger, we analyzed the properties of rabies viruses genetic variation in molecular level to get information on prevalence and variation of rabies viruses in Zhejiang, and to enrich the genome database of rabies viruses street strains isolated from Chinese wildlife. **Methods** Overlapped fragments were amplified by RT-PCR and full-length genomes were assembled to analyze the nucleotide and deduced protein similarities and phylogenetic analyses of the N genes from Chinese Ferret-Badger, sika deer, vole, dog. Vaccine strains were then determined. **Results** The two full-length genomes were completely sequenced to find out that they had the same genetic structure with 11 923 nts including 58 nts-Leader, 1353 nts-NP, 894 nts-PP, 609 nts-MP, 1575 nts-GP, 6386 nts-LP, and 2, 5, 5 nts- intergenic regions (IGRs), 423 nts-Pseudogene-like sequence ( $\Psi$ ), 70 nts-Trailer. **Conclusion** The two full-length genomes were in accordance with the properties of *Rhabdoviridae Lyssa virus* by blast and multi-sequence alignment. The nucleotide and amino acid sequences among Chinese strains had the highest similarity, especially among animals of the same species. Of the two full-length genomes, the similarity in amino acid level was dramatically higher than that in nucleotide level, so that the nucleotide mutations happened in these two genomes were most probably as synonymous mutations. Compared to the referenced rabies viruses, the lengths of

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2009.08.015

基金项目: 国家“863” 高技术研究发展计划(SQ2006AA02Z112882); 公益性行业(农业) 科研专项(200803014)

作者单位: 323000 浙江省丽水市疾病预防控制中心(雷永良、王晓光、柳付明、陈秀英、叶碧峰、梅建华、兰进权); 中国疾病预防控制中心病毒预防控制所(唐青)

通信作者: 唐青, Email: qtang04@sina.com

the five protein coding regions did not show any changes or recombination, but only with a few-point mutations. It was evident that the five proteins appeared to be stable. The variation sites and types of the two ferret badgers genomes were similar to the referenced vaccine or street strains. The two strains were genotype 1 according to the multi-sequence and phylogenetic analyses, which possessing the distinct geographiphic characteristics of China. All the evidence suggested a cue that these two ferret badgers rabies viruses were likely to be street virus that already circulating in wildlife.

【Key words】 Rabies virus; Chinese Ferret-Badger; Full-length genome; Sequencing and analyses

狂犬病是自然疫源性人兽共患传染病,许多种哺乳动物都与全世界狂犬病的维系和传播有关<sup>[1]</sup>。家养、无主或未驯服的犬是人狂犬病的主要储存宿主<sup>[2]</sup>,但是伴随着家犬狂犬病计划免疫政策的实施,犬狂犬病发病率逐渐下降,其他宿主动物的重要性则相对上升,而且大量的家犬免疫可能会导致狂犬病毒向野生动物转移,因此狂犬病毒在野生动物中的携带和传播变得非常重要。目前野生动物鼬獾(Chinese Ferret-badger/*Melogale moschata*)在浙江省人狂犬病流行中的作用正逐渐突显<sup>[3-5]</sup>,应用单克隆抗体以及核酸序列分析等技术已经证实狂犬病毒的变异普遍存在<sup>[6]</sup>,且不同毒株之间在核苷酸和氨基酸序列上的变异明显,因此有必要进行鼬獾狂犬病毒街毒流行株基因组序列测定分析。本研究共获得浙江省 2 株鼬獾狂犬病毒(F02、F04)全基因组序列信息,从分子水平对病毒进行遗传变异分析,了解野生动物狂犬病毒在浙江省的流行和变异情况,以丰富我国野生动物狂犬病毒街毒流行株的基因信息。

材料与方 法

1. 标本来源:本研究标本来自浙江省疑似狂犬病鼬獾的脑组织,在负压生物安全二级实验室内直接剖开鼬獾头颅,取脑组织待检,经过 DFA 检测狂犬病毒特异性抗原和 RT-PCR 检测狂犬病毒特异性核酸确定阳性脑组织标本,冻存于-70℃备用。

2. 引物设计:根据狂犬病毒基因 1 型病毒亚洲地方株并参考巴斯德株(PV, M13215)全基因组序列,利用软件 DNASTar 和 Primer Premier 5.0 设计扩增狂犬病毒全基因组核苷酸序列引物(表 1)。

3. RT-PCR: Trizol (Invitrogen, 美国)试剂抽提阳性脑组织标本细胞总 RNA,用随机引物 pd(N), (TaKaRa, 大连)、Ready-To-Go® You-Prime First-Strand Beads (GE, 美国)反转录得到 cDNA;用 GoTaq® Green Master Mix (Promega, 美国)进行 PCR 扩增,反应体系参照试剂盒说明书;PCR 扩增的特异性片段 1%琼脂糖(OXOID, 英国)凝胶电泳分离,用 QIAquick Gel Extraction Kit(QIAGEN, 德国)切胶回

收并进行序列双向测定(上海生工生物工程技术有限公司)。

4. 序列分析:用生物学软件分析处理测序得到的狂犬病毒基因序列和引用序列:ATCG、BioEdit、

表 1 狂犬病毒基因组扩增及测序用引物序列

引物	序列(5' ~ 3')	目的基因	扩增长度 (bp)	位置
3' F	GTACCTAGACGCTTAACAAC	3'	499	1 ~ 499
3' R	AAGACCGACTAAGGACGCAT			
NF	ATGTAACACCTCTACAATGG	N	1533	55 ~ 1587
NR	CAGTCTCYTCNGCCA TCT			
PF	GAACCAYCCCAAAYATGAG	P	1001	1500 ~ 2500
PR	TTCATTTTRTYAGTGGTGTTC			
MF	AAAAACRGGCAACACCACT	M	641	2479 ~ 3119
MR	TCCTCYAGAGGTAWACAAGTG			
G1F	TGGTGTATAACATGRAYTC	G	1097	3000 ~ 4096
G1R	ACCCATGTCCRTCATAAG			
G2F	TGGATTTGGGATKAAAGAGGC	G	1542	3995 ~ 5536
G2R	GAGTTNAGRTTGTARTCAGAG			
L1F	TGGRGAGGTYATGATGACCC	L	726	5430 ~ 6155
L1R	CAGCATNAGTGTAGTTTCTGTG			
L2F	GGTCGATTATGATAAKGCATTTGG	L	704	5885 ~ 6588
L2R	TTGACAGACCCCTTCGATAATC			
L3F	GGATCAATTCGACAACATACATG	L	550	6473 ~ 7024
L3R	AAGTCTTCATCHGGCARTCCTCC			
L4F	AGACTAGCTTCHTGGYTGTCCAG	L	708	6882 ~ 7589
L4R	TACTTTGGTCTTGTGTCTCTG			
L5F	AGTGTTTGGATTGAAGAGAGTGTT	L	662	7337 ~ 7998
L5R	GAAAGACTGCCTGCACACTGACAT			
L6F	AATAGTCAACCTCGCCAATATAATG	L	767	7879 ~ 8645
L6R	GGATCTCTGAGTTGTAGAAGGATTC			
L7F	CCGAGTCAATCATTGGATTGATAC	L	621	8517 ~ 9137
L7R	GAATACCCCTCCTCGCTGTATCTG			
L8F	GAGAAGGTCCCAATGTTGATG	L	1045	8958 ~ 10002
L8R	AGATCCAYRCCAGTCATTTCTC			
L9F	ACATAATGCTCAGAGAACCCTG	L	503	9820 ~ 10322
L9R	CCATTCTGAACATCCTACCTT			
L10F	TGTTTCAGAATGGGTCTGCTCT	L	501	10311 ~ 10811
L10R	TGCATCGCAAATAATGAGGT			
L11F	ATTATTTGCGATGCAGAAGT	L	524	10797 ~ 11320
L11R	RATGATAGCCACTTTAGACAGAGT			
L12F	GTTACAGAGGGGAACCTCTGTCT	L	386	11285 ~ 11670
L12R	TCTTCACTATCTGTAAATCAACCT			
5' F	TGGATCAGGTTGATTTACAAGATAGT	5'	293	11640 ~ 11932
5' R	ACGCTTAACAAATAACAACAAAAAT			

注:F为正向引物,R为反向引物;引物参考巴斯德株(PV, M13215)

GENEDOC 进行编辑处理;ATCG、SeqMan 进行序列拼装,ClustalX 1.82 进行多重序列比对;MEGA 3.1 软件用 Neighbor-Joining (NJ, replications=1000) Method 绘制种系发生树,通过 DNAStar 中 MegAlign 软件进行序列联配和多序列比对。26 个全基因组参考序列除 6 个为狂犬病毒基因 2~7 型(GT2~GT7)序列外,其他 20 个均为基因 1 型(GT1)狂犬病毒,参考序列来源于 GenBank(图 1)。

### 结 果

1. 鼬獾狂犬病毒全基因组序列组成:经过序列测定拼接后,获得 2 株鼬獾狂犬病毒(Accession No: F02: FJ712195; F04: FJ712196)全基因组核苷酸序列:基因组全长 11 923 个核苷酸(nts),3' 端到 5' 端包含 5 个开放阅读框(ORF),依次排列 *N*、*P*、*M*、*G* 和 *L* 基因,各个基因起始信号 AACA 和聚腺苷酸化信号 Poly(A)尾信号 AAAAAA 以及各个基因编码区的起始密码子 ATG 和终止密码子 TAA(或 TAG/TGA)均与其他序列一致(表 2)。3' 端 *N* 基因上游有一段 58 个核苷酸的先导保守不翻译序列(leader),5' 端 *L* 基因下游有一处 70 个核苷酸的非翻译区(trailer), leader 近 *N* 末端(ACG CTT AAC AAC)和 trailer 近 *C* 末端(TTT GTT AAG CGT)的 12 个核苷酸序列完全保守,且其中 11 个核苷酸完全反向互补;在 *N*-*P*-*M*-*G* 间有 2、5、5 个核苷酸的间隔序

列,在大多数狂犬病毒序列中,间隔区通常为:CT、CAGGC 和 CTATT,比较发现:*N*-*P* 基因间隔区 F02 为 TT, F04 为 TC; *P*-*M* 基因间隔区除 CTN181 为 CATGC 外,其他基因 1 型序列完全一致; *M*-*G* 基因间隔区 F02、F04、CTN181、8764THA 为 CTTTT; *G*-*L* 基因间有 423 个核苷酸的伪基因  $\Psi$ (表 3)。

2. 蛋白功能位点序列比较:以 PV 株氨基酸序列作为对照,对鼬獾狂犬病毒株与引用毒株多序列比较各编码蛋白氨基酸水平上的差异,找到鼬獾病毒 F02、F04 株在不同结构域存在的氨基酸变化, NP: 抗原位点第 332 位为 T, 第 373 位为 S; PP: 特定的蛋白激酶磷酸化丝氨酸位点第 63~64 位和第 162、210、271 位均为 P、S、S、S、S, 与胞浆动力蛋白(dynein)轻链 LC8 作用区域第 143~148 位区域为 DRXTQT; MP: 保证病毒装配和芽生功能的结构域第 35~38 位为 PPEY; GP: 潜在的糖基化(表 4)氨基酸第 37~39 位为 N-L-S, 第 319~321 位为 N-K-T, 第 247~249 位为(F02:R-E-T; F04:D-E-T); LP: 保守序列 III 区第 729~731 位均为 GDN。

3. 序列相似性比较:将浙江省鼬獾狂犬病毒与巴斯德株(PV)、中国梅花鹿(DRV)、野鼠(MRV)狂犬病毒株以及中国犬狂犬病毒街毒株(BD06)全基因组序列的各个蛋白区域核苷酸和氨基酸序列分别比较。鼬獾狂犬病毒与这些病毒全基因组核苷酸序列表现出较高的相似性,差异在 1.7%~16.7%之间,

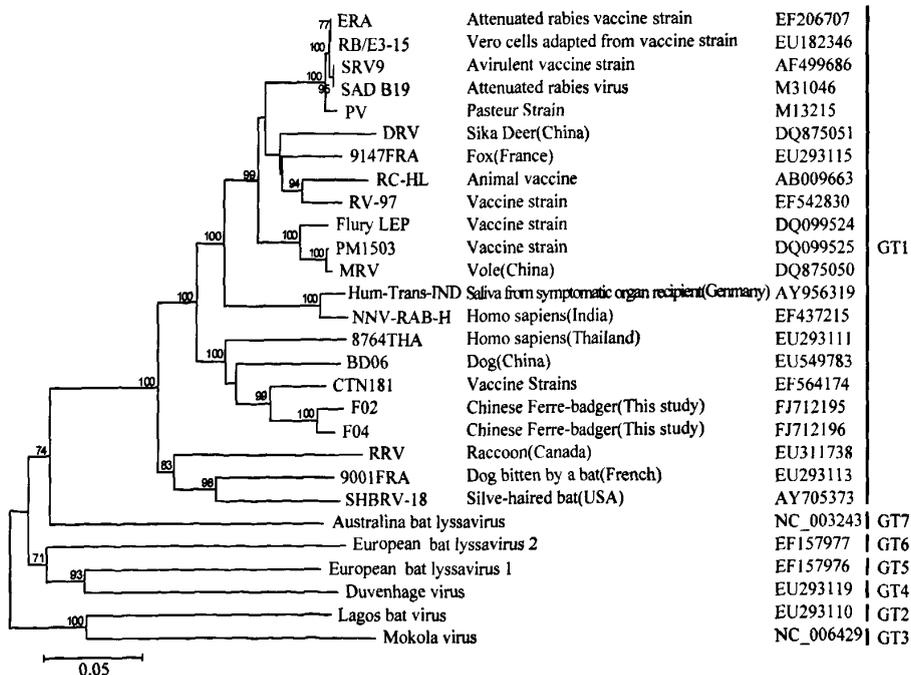


图 1 基于狂犬病毒基因组全序列 *N* 基因的种系发生分析

表 2 F02、F04 编码基因转录翻译起止信号序列

基因		mRNA				CDS	
		起始		终止		起始位置	终止位置
		序列	位置	序列	位置		
N	F02/F04	AACACCCCT	59 ~ 67	ATGAAAAAAAA	1 474 ~ 1 483	ATG	TAA
P	F02	AACACCCCTT	1486 ~ 1494	ATGAAAAAAAA	2 465 ~ 2 474	ATG	TGA
	F04	AACACCCCC		ATGAAAAAAAA			
M	F02/F04	AACACCACT	2480 ~ 2488	GTGAAAAAAAA	3 273 ~ 3 282	ATG	TAG
G	F02/F04	AACATCCCT	3288 ~ 3296	AGGGGGACATC	4 945 ~ 4 955	ATG	TAA
				GAGAAAAAAAA	5 345 ~ 5 354		
				CTGAAAAAAAA	11 844 ~ 11 853		
L	F02/F04	AACACTTCT	5379 ~ 5387	CTGAAAAAAAA	11 844 ~ 11 853	ATG	TGA

表 3 F02、F04 基因间隔区序列及位置

基因间隔区		核苷酸长度(nts)	位置
leader RNA	F02/F04	58	1 ~ 58
N-P	F02	2 (TT)	1 484 ~ 1 485
	F04	2 (TC)	
P-M	F02/F04	5 (CAGGC)	2 475 ~ 2 479
M-G	F02/F04	5 (CTTTT)	3 283 ~ 3 287
Ψ	F02/F04	423	4 956 ~ 5 378
trailer RNA	F02/F04	70	11 854 ~ 11 923

中国病毒株之间各个基因区域核苷酸与氨基酸序列相似性最高:F02 与 F04 序列的相似性最高(98.1%), 5 个编码蛋白仅表现较少的序列变化:NP(nt/aa, 2.2%/1.3%)、PP(nt/aa, 0%/0.3%)、MP(nt/aa, 0.8%/1.5%)、GP(nt/aa, 0.3%/0.6%)、Ψ(nt:0.5%)、LP(nt:2.7%); F02 与 CTN181 相似性次之(92.5%), 与 DRV、MRV、PV 株的相似性最低(表 5)。

4. 种系发生分析:对浙江鼬獾狂犬病毒基因序列与来源于 GenBank 中的不同国家地区代表不同基因型的 20 株基因 1 型序列以及其他 6 个基因型序列进行基于狂犬病毒基因组全序列 N 基因的种系发生分析(图 1), 结果显示, 鼬獾狂犬病毒基因序列与其

他基因 1 型序列形成独立的进化分支, 同属于基因 1 型, 与中国疫苗株 CTN181 和犬街毒株 BD06 共同聚类为一个分支, 与 CTN181 在种系进化上最为近缘, 与 DRV、MRV、其他国家野生动物狂犬病毒(浣熊、狐狸、蝙蝠)以及疫苗株进化关系均比较远。

### 讨 论

核酸 BLAST 及多序列比对显示浙江省鼬獾狂犬病毒株全基因组序列的组成和结构符合弹状病毒科(Rhabdoviridae)狂犬病毒属(Lyssa virus)特征, F02、F04 基因组序列全长 11 923 nts, (A+U)% 丰富(F02: 55.03%; F04: 54.83%), 从功能上分为先导 RNA、编码区、非编码区和间隔区 4 个部分。核苷酸和氨基酸序列相似性比较结果类似, 在氨基酸水平明显高于核苷酸, 蛋白质编码基因的核苷酸变异大多属于同义突变。鼬獾狂犬病毒株负链 RNA 基因组 5 个基因编码氨基酸的长度没有变化, 各个基因起始信号和 Poly(A) 尾信号以及各个基因编码区的起始、终止密码子也与其他序列一致, 病毒编码区基

表 4 部分狂犬病毒 GP 抗原位点与糖基化位点比较

病毒株	G I		G II			G III		糖基化位点		
	231	34 ~ 42	147	184	198 ~ 200	330 ~ 357	37 ~ 39	247 ~ 249	319 ~ 321	
PV	L	GCTNLSGFS	R	R	KRA	KSVRTWNEIIPSKGCLRVGGRRCHPHVNG	N-L-S	N-E-T	N-K-T	
F02	L	GCTNLSGFS	K	R	KRA	KSVRTWNEIIPSKGCLRVGGRRCHPHVNG	N-L-S	R-E-T	N-K-T	
F04	L	GCTNLSGFS	K	R	KRA	KSVRTWNEIIPSKGCLRVGGRRCHPHVNG	N-L-S	D-E-T	N-K-T	
CTN181	L	GCTNLSGFS	K	R	KRA	KSVQTWDEIIPSKGCLRVGARCHPHVNG	N-L-S	N-E-T	N-K-T	
B06	L	GCTNLSGFS	K	R	KRA	KSVRTWNEIIPSKGCLRVGGRRCHPHVNG	N-L-S	D-E-I	N-K-T	
DRV	P	GCTNLSGFS	K	R	KRA	KSVRTWNEIIPSKGCLRVGGGCHPHVNG	N-L-S	N-E-T	N-K-T	
MRV	L	GCTNLSEFS	K	R	KRA	KSVRTWNEIIPSKGCLKVGRRCHPHVNG	N-L-S	G-E-T	N-K-T	

表 5 鼬獾狂犬病毒 F02 与其他病毒株核苷酸和氨基酸序列相似性比较(%)

病毒株	核苷酸(氨基酸)						序列相似性
	N	P	M	G	Ψ	L	
F02-F04	97.8(98.7)	100.0(99.7)	99.2(98.5)	99.7(99.4)	99.5	97.3	98.1
F02-PV	87.1(96.5)	82.2(90.3)	84.7(94.1)	84.5(92.4)	74.5	84.7	84.0
F02-CTN181	93.2(97.3)	92.7(96.0)	95.4(97.5)	93.4(96.0)	90.3	92.0	92.5
F02-B06	91.8(98.7)	87.4(92.6)	91.1(95.1)	88.1(93.3)	83.9	89.1	88.9
F02-DRV	85.1(92.0)	82.4(88.9)	84.7(92.6)	83.2(89.3)	75.7	84.2	83.3
F02-MRV	87.2(96.9)	82.1(89.3)	85.9(93.6)	84.3(89.7)	76.4	84.2	83.7

因没有发生重组,研究也表明狂犬病毒进化过程中没有基因组重组变异证据的存在,点突变和纯选择作用是狂犬病毒进化的主要动力<sup>[7]</sup>。

鼬獾狂犬病毒株与本研究选择的代表性引用街毒株以及来自街毒的减毒株的变异位点和变异类型相似,对分离的街毒株进行抗原位点和其他功能位点变异分析,能够更详细地掌握病毒的变异规律,而且能够找到筛选疫苗免疫或者分析免疫失败的直接证据,对分离的街毒株进行主要抗原位点和淋巴细胞表位的变异分析是非常必要的<sup>[8]</sup>。鼬獾病毒株 5 个编码序列与以往报道的一致,F02、F04 在编码区的变异多数只发生碱基的替代,仅个别功能位点存在着差异,非编码区的变异除碱基的替代还发生了碱基的插入和缺失,所以非编码区的变异显著<sup>[9]</sup>。单克隆抗体分析 NP 有 4 个空间位置明显区别的抗原位点  $N_I \sim N_{IV}$ <sup>[10]</sup>,其中  $N_I$ 、 $N_{II}$  未见变化; $N_{III}$  第 332 位、 $N_{IV}$  第 373 位氨基酸发生碱基的替代。特定的 PP 蛋白激酶磷酸化丝氨酸位点<sup>[11]</sup>和中部与细胞胞浆内 LC8 相互作用区域均高度保守<sup>[12]</sup>。MP 中高度保守并富含脯氨酸的结构域(L-Domains)PPxY 是保证病毒的装配和芽生功能的结构基础<sup>[13]</sup>,出现在 MP 第 29~44 位氨基酸序列中,鼬獾狂犬病毒符合这一结构特点。GP 与中和抗体结合的主要部位和细胞外区域糖基化氨基酸位点均未见变化<sup>[14]</sup>。RNA 依赖的 RNA 聚合酶(RNA-dependent RNA polymerases, RdRp)特有的 GDD 基序是酶的活性中心<sup>[15]</sup>,而第二个 G 相对并不保守,在鼬獾病毒 LP 保守序列 III 区第 729~731 位 GDN 基序在比较的所有狂犬病毒株的 LP 氨基酸序列中是绝对保守的<sup>[16]</sup>。

多序列相似性比较显示各个编码基因核苷酸与氨基酸序列相似性均比较高,特别是同种动物狂犬病毒之间序列相似性最高,与资料报道亚洲是基因 1 型狂犬病毒主要流行区域<sup>[17,18]</sup>,且进化较为保守,在全球范围内 1 型病毒核苷酸与氨基酸的相似性均比较高的论断相同。Smith 等<sup>[19]</sup>分析有限的基因序列证明不同毒株间的流行病学关系可以从其核苷酸序列中反映出来,并且病毒不同序列间的差异程度与它们的亲缘关系远近有关,中国狂犬病毒相互间较为一致的变异规律体现了中国地域性分布特点,在进化上最为近缘。

NP 是狂犬病毒稳定和高效表达的蛋白,其氨基酸序列是 5 个结构蛋白中最保守的,由于不同型别及毒株的 NP 序列存在较高的保守性、相似性和高度一致的抗原性,目前 NP 抗原性及其基因序列已作为

狂犬病毒分型的重要依据<sup>[20]</sup>,因此本研究选用 N 基因构建种系发生树,浙江鼬獾狂犬病毒街毒株均属于基因 1 型,中国病毒株与其他国家地区病毒株区别明显,具有中国地域特点,鼬獾狂犬病毒与犬街毒株(BD06)具有较近的亲缘关系,由于鼬獾作为野生动物生活在自然界中,其感染自然疫源性疾病的的可能性较大,推测鼬獾狂犬病毒可能是存在于自然界中固有的街毒株,也是中国的优势流行株,并出现从鼬獾到犬/人的传播过程,进一步使得狂犬病毒从野生动物传播扩散到家养动物甚至人。

### 参 考 文 献

- [1] 唐家琪. 自然疫源性疾病. 北京: 科学出版社, 2005.
- [2] Jackson AC, Wunner WH. RABIES, 2nd ed. 2007.
- [3] Zhenyu G, Zhen W, Enfu C, et al. Human rabies cluster following badger bites, People's Republic of China. *Emerging Infectious Diseases*, 2007, 13: 1956-1957.
- [4] 雷永良, 陈秀英, 柳付明, 等. 国内首次在鼬獾中检测到狂犬病毒. *中国卫生检验杂志*, 2008, 18(10): 2121-2122.
- [5] 李奕新, 田建三, 徐志春. 鼬獾咬伤引发 7 例狂犬病. *中国人兽共患病杂志*, 2004, 20: 1103.
- [6] Morimoto K, Hooper DC, Carbaugh H. Rabies virus quasispecies: implications for pathogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 3152-3157.
- [7] Badrane H, Tordo N. Host switching in Lyssavirus history from the Chiroptera to the Carnivora orders. *J Virol*, 2001, 75(17): 8096-8104.
- [8] 赵云蛟, 郭利, 黄莹, 等. 1 株鼠源狂犬病毒野毒株全基因组序列测定与分析. *中国人兽共患病学报*, 2008, 24(7): 651-658.
- [9] 赵云蛟, 郭利, 黄莹, 等. 1 株梅花鹿源狂犬病毒毒株全基因组测序与分析. *病毒学报*, 2008, 24(3): 227-233.
- [10] Wu XF, Gong XM, Heather DF, et al. Both viral transcription and replication are reduced when the rabies virus nucleoprotein is not phosphorylated. *J Virol*, 2002, 76: 4153-4161.
- [11] Gao Y, Lenard J. Multimerization and transcriptional activation of the phosphoprotein (P) of vesicular stomatitis virus by casein kinase-II. *EMBO*, 1995, 14: 1240-1247.
- [12] Raux H, Flamand A, Blondel D. Interaction of the rabies virus P protein with the LC8 dynein light chain. *Virology*, 2000, 74: 10212-10216.
- [13] Irie T, Licata JM, McGettigan JP, et al. Budding of PPxY-containing rhabdoviruses is not dependent on host proteins TGS101 and VPS4 A. *J Virol*, 2004, 78: 2657-2665.
- [14] Benmansour A, Leblouis H, Coulon P, et al. Antigenicity of rabies virus glycoprotein. *Virology*, 1991, 65(8): 4198-4203.
- [15] Dijk AA, Makeyev EV, Bamford DH. Initiation of viral RNA-dependent RNA polymerization. *J General Virol*, 2004, 85: 1077-1093.
- [16] Mercier PL, Jacob Y, Tordo N. The complete Mokola virus genome sequence: structure of the RNA-dependent RNA polymerase. *J General Virol*, 1997, 78: 1571-1576.
- [17] Susetya H, Sugiyama M, Inagaki A, et al. Genetic characterization of rabies field isolates from Thailand. *Microbiol Immunol*, 2003, 47: 653-659.
- [18] Park YJ, Shin MK, Kwon HM, et al. Genetic characterization of rabies virus isolates in Korea. *Virus Genes*, 2005, 30: 341-347.
- [19] Smith JS, Orciari LA, Yager PA, et al. Epidemiologic and historical relationship among 87 rabies virus isolates as determined by limited sequence analysis. *Infect Diseases*, 1992, 166: 296.
- [20] Kissi B, Tordo N, Bourhy H. Genetic polymorphism in the rabies virus nucleoprotein gene. *Virology*, 1995, 209(2): 526-537.

(收稿日期: 2009-04-13)

(本文编辑: 张林东)