

· 综述 ·

鱼类神经坏死病毒研究进展与发展趋势

陈文捷^{1,2}, 刘晓丹¹, 胡先勤¹, 王文文¹, 秦真东¹,
王 瑶¹, 周 洋¹, 刘小玲¹, 林 鑫^{1,2,3*}

(1. 华中农业大学水产学院,水生动物医学系,湖北 武汉 430700;

2. 华中农业大学淡水水产健康养殖湖北省协同创新中心,湖北 武汉 430070;

3. 华中农业大学农业部淡水生物繁育重点实验室,湖北 武汉 430070)

摘要:神经坏死病毒(nervous necrosis virus,NNV)是一种世界范围内流行、严重危害多种海水和淡水鱼类的传染性病原。NNV为单一正链、2节段RNA病毒,基因组由RNA1(3.1 kb)和RNA2(1.4 kb)组成。在病毒复制过程中,会合成亚基因组RNA3。RNA1编码RNA聚合酶。RNA2编码衣壳蛋白,为病毒的唯一结构蛋白。RNA3编码B1和B2两种非结构蛋白。根据病毒衣壳蛋白的基因序列,神经坏死病毒可以分成4种基因型,分别为拟鲮、红鳍东方鲀、条斑星鲷和赤点石斑神经坏死病毒基因型。但是,目前只发现A、B、C三种病毒血清型,A对应拟鲮神经坏死病毒基因型,B对应红鳍东方鲀神经坏死病毒基因型、C对应条斑星鲷神经坏死病毒和赤点石斑神经坏死病毒基因型。病毒存在垂直和水平两种传播途径,而且广泛分布于养殖和野生鱼类中。阻断病毒在野生与养殖鱼类之间的传播和开展新型鱼类疫苗研发是将来研究趋势。

关键词:神经坏死病毒;病毒基因组;病毒蛋白;基因型;血清型;疾病防控

中图分类号:S 941

文献标志码:A

1 鱼类神经坏死病毒及其研究概况

1.1 病毒的发现

病毒性神经坏死症的研究历史可追溯到20世纪80年代中期。1985年,澳大利亚、日本、东南亚和加勒比海地区几乎同时在多种海水鱼类种苗培育中暴发了一种新的疾病,死亡率高达90%以上。患病鱼苗食欲差,体色灰白或者偏黑,通常浮在水面,间或作突发性的螺旋游动,组织切片观察可见脑部有空泡化病变^[1-5]。起初,人们推测此病是由于饲料中缺乏高度不饱和脂肪酸或者水中氨氮过高所致^[6]。直到1990年,日本Yoshikoshi等^[7]在空泡化的条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)稚鱼脑部观察到大量的直径约为34 nm的病毒粒子,并首次命名此病为病毒性神经坏死

症。同年,澳大利亚Glazebrook等^[8]在尖吻鲈(*Lates calcarifer*)的脑和视网膜上也观察到大量的空泡和直径为25~30 nm的病毒粒子。1991年,日本Mori等^[9]报道了赤点石斑(*Epinephelus akaara*)神经坏死病毒,并做了回归感染,证实了此病毒是导致神经组织空泡化的病原。1992年,Mori等^[10]从患病的拟鲮(*Pseudocaranx dentex*)幼鱼上纯化了病毒,研究了病毒的核酸和衣壳蛋白,将病毒命名为拟鲮神经坏死病毒(striped jack nervous necrosis virus, SJNNV),隶属于野田病毒科(Nodaviridae)。在此之前,野田病毒科只分布在昆虫,由于鱼类神经坏死病毒的出现,《国际病毒分类委员会病毒分类》第七版上,将所有鱼类来源的野田病毒类归入 β -野田病毒属(*Betanodavirus*),代表种为拟鲮神经坏死病毒,而

收稿日期:2014-05-18 修回日期:2014-07-14

资助项目:国家自然科学基金(31372563);中央高校基本科研业务费专项(52204-12020,2013PY069,2014PY035)

通信作者:林 鑫,E-mail:linli@mail.hzau.edu.cn

将昆虫来源的野田病毒类归入 α -野田病毒属 (*Alphanodavirus*)。

1.2 病毒的命名、分布和分类系统

目前,鱼类野田病毒还没有统一的命名规则,通常根据病毒的宿主和主要病征来命名,如日本学者通常称其为神经坏死病毒,欧洲研究者大都称其为脑炎病毒,现在则倾向通用鱼类野田病毒。

1995年,日本 Nishizawa 等^[11]根据病毒衣壳蛋白基因的核苷酸序列,对来自不同国家和地区 16 种鱼类 25 株病毒进行分析,将 NNV 分成 4 个基因型:拟鲆神经坏死病毒基因型 (Striped jack NNV, SJNNV)、红鳍东方鲀 (*Takifugu rubripes*) 神经坏死病毒基因型 (Tiger puffer NNV, TPNNV)、条斑星鲈神经坏死病毒基因型 (Barfin flounder NNV, BFNNV) 和赤点石斑神经坏死病毒基因型 (Red spotted grouper NNV, RGNNV)。除了基因型外, Nishizawa 等^[12]对病毒血清型也进行研究,结果表明,4 种基因型衣壳蛋白的 254 ~ 256 位氨基酸为主要抗原决定簇,分别为 PAN、PPG、PEG 和 PDG。Mori 等^[13]进一步研究表明,病毒分为 3 种主要血清型 (A、B、C)。血清型和基因型的关系为:A 对应 SJNNV 基因型,B 对应 TPNNV 基因型,C 对应 BFNNV 和 RGNNV 基因型,BFNNV 和 RGNNV 基因型具有较高的相似性。

我国对鱼类神经坏死病毒的研究起步较晚。2001 年 Lin 等^[14]在广东省大亚湾孵化培育的石斑鱼中发现大量死亡,根据其临床症状与组织病

理学确定为赤点石斑病毒性神经坏死症,这是我国大陆地区对 NNV 的首次报道。随后,黄剑南等^[15-17],陈晓艳等^[18-19],龚艳清等^[20]、刘荏等^[21]、田飞焱等^[22]等对我国大陆流行的鱼类野田病毒基因型进行研究,认为属于 RGNNV 型,其他基因型是否存在还需要进一步调查。2003 年 Chi 等^[4]对 1994—2001 年间中国台湾地区分离的所有 NNV 病毒株进行了基因型和抗原特性的研究,认为属于 RGNNV 基因型。

鱼类野田病毒分布很广,能感染多种鱼类。目前报道感染的鱼类大都是海水鱼类,淡水鱼类也有零星报道。Chi 等^[4]首次报道了生活在淡水中的欧洲鳗鲡 (*Anguilla anguilla*) 和鲟 (*Parasilurus asotus*) 受到 NNV 感染,引起欧洲鳗鲡的死亡率为 30%,鲟的死亡率达 100%,表明有向淡水鱼类蔓延的趋势。

2 病毒的基因组结构与进化

病毒粒子无囊膜,直径约 30 ~ 40 nm,为单一正链、2 节段 RNA 病毒。病毒基因组由 RNA1 (3.1 kb) 和 RNA2 (1.4 kb) 组成,3' 端无多聚腺嘌呤 (PolyA) 结构。RNA1 编码 RNA 聚合酶, RNA2 编码衣壳蛋白,为唯一的病毒结构蛋白。在病毒复制过程中,会合成亚基因组 RNA3, RNA3 编码 B1 和 B2 两种非结构蛋白。目前鱼类神经坏死病毒 4 种基因型的基因组测序已经全部完成^[23-26],序列比对分析表明病毒四种基因型的基因组序列有不同程度的相似性 (表 1 和表 2)。

表 1 鱼类神经坏死病毒四种基因型 RNA1 序列对比

Tab.1 Comparisons among RNA1 sequence of four *betanodavirus* genotypes

分类 type	长度/nt length	登录号 accession no.	相似度/% match	参考文献 reference
RGNNV	3 105	NC_008040.1	参考序列 reference molecule	Iwamoto 等 ^[23]
BFNNV	3 101	NC_013458.1	82%	Okinaka 等 ^[24]
TPNNV	3 112	NC_013460.1	82%	Okinaka 等 ^[24]
SJNNV	3 107	NC_003448.1	82%	Iwamoto 等 ^[25]

表 2 鱼类神经坏死病毒四种基因型 RNA2 序列对比

Tab.2 Comparisons among RNA2 sequence of four *betanodavirus* genotypes

分类 type	长度/nt length	登录号 accession no.	相似度/% match	参考文献 reference
RGNNV	1 434	NC_008041.1	参考序列 reference molecule	Iwamoto ^[23]
BFNNV	1 433	NC_013459.1	82%	Okinaka ^[24]
TPNNV	1 422	NC_013461.1	79%	Okinaka ^[24]
SJNNV	1 421	NC_003449.1	78%	Iwamoto ^[25]

3 病毒编码蛋白与主要功能

3.1 RNA 聚合酶

RNA 聚合酶由病毒编码,分子量约为 100 ku;在入侵细胞后,病毒利用宿主的核糖体系统,采用基因组 RNA1 为模板,首先合成病毒 RNA 聚合酶,随后利用合成的 RNA 聚合酶进行病毒基因组的复制和转录。RNA 聚合酶具有线粒体膜定位信号,可以锚定在宿主线粒体膜上,进行高效复制和转录。

3.2 B1 蛋白

B1 蛋白由病毒基因组 RNA1 转录出来的亚基因组 RNA3 (大小约 0.4 kb) 编码。蛋白含有 111 个氨基酸,其开放读码框与 RNA 聚合酶相同,位于 RNA 聚合酶编码框的 5' 端,分子量约为 12 ku,是病毒早期感染中合成的非结构蛋白。2009 年,Chen 等^[27]采用 RGNNV 感染鱼类细胞,在感染 24 h 后,检测到大量的 B1 蛋白。B1 蛋白主要定位在细胞核中,其中 33 到 38 位氨基酸 (PRRARAA) 是核定位信号^[28-29]。B1 蛋白具有抗坏死因子的作用,可以减少宿主细胞线粒体膜电位的损失,以维持宿主细胞线粒体的功能,增强宿主细胞的生存能力^[28]。

3.3 B2 蛋白

B2 蛋白和 B1 蛋白一样,也是由亚基因组 RNA3 编码,和 B1 蛋白重叠,但是其开放读码框为 RNA 聚合酶读码框的 +1 移位。B2 蛋白含有 75 个氨基酸,分子量约 8 ku。B2 是在病毒感染早期表达的蛋白,感染 24 h 后,免疫荧光检测发现,B2 蛋白定位在细胞质中的线粒体上;感染 48 h 后,在细胞核中也检测到了 B2 蛋白^[29]。在病毒的生活史中,B2 蛋白具有保护病毒 RNA 和促进宿主坏死两个主要功能。虽然 NNV 是单链 RNA 病毒,但是在复制过程中会产生双链 RNA, B2 蛋白和病毒双链 RNA 结合,从而保护病毒 RNA 免受宿主蛋白酶的降解,对病毒的高效复制是必需的^[30-31]。此外,B2 还是一种坏死因子,它可以通过自身信号肽的介导作用,定位在线粒体膜上,导致线粒体膜电位的损失,从而抑制线粒体复合体 II (琥珀酸脱氢酶) 的活性,阻断细胞内 ATP 合成,导致细胞内 ATP 供应枯竭而坏死,这和病毒感染导致的细胞空泡化坏死病理特征一致^[29]。

3.4 衣壳蛋白

神经坏死病毒的衣壳蛋白由 RNA2 编码,含有约 338 ~ 340 个氨基酸。衣壳蛋白存在细胞核定位信号,可以促进宿主细胞的凋亡^[32-33]。目前已经建立了细菌、酵母和昆虫细胞表达衣壳蛋白系统。表达提纯的衣壳蛋白在电镜下可以观察到病毒样颗粒,并具有很好的免疫源性。昆虫野田病毒的衣壳蛋白具有成熟加工过程,没有成熟的病毒粒子由 43 ku 的衣壳蛋白 α 组成。在病毒的个体发生过程中, α 蛋白的近羧基末端处通过蛋白酶裂解,产生 β 蛋白和 γ 多肽,这个成熟过程对病毒粒子的感染力是必须的。对鱼类神经坏死病毒而言,也检测到大小为 42 和 40 ku 衣壳蛋白,40 ku 蛋白质可能是 42 ku 蛋白加工产生。Delsert 等^[34]认为,衣壳蛋白没有成熟裂解过程。Kroniris 等^[35]采用点突变技术对衣壳蛋白进行研究,结果表明鱼类神经坏死病毒衣壳蛋白存在分子内二硫键,二硫键会影响衣壳蛋白的形状从而影响它在 SDS-PAGE 电泳中的移动速度,因而出现 40 和 42 ku 两条蛋白带,这两条带和衣壳蛋白的成熟加工无关。鱼类神经坏死病毒是否存在昆虫野田病毒衣壳蛋白的成熟过程,还需要进一步确认。

4 病毒的检测、流行病学和感染模式的建立

1994 年,Nishizwa 等^[36]以衣壳蛋白基因为基础,建立了神经坏死病毒的 RT-PCR 检测方法,并开展病毒传播途径的研究,表明此类病毒存在垂直和水平传播两种途径。病毒可以通过亲鱼垂直传播给子代。在我国广东的大亚湾海域,采用比较灵敏的半套式 RT-PCR 法,野生鱼类和网箱养殖鱼类的病毒携带率分别达到 42% 和 63%。这些鱼类携带的病毒可以通过水体传播给鱼苗繁育场。因此,开展封闭的循环水繁育海水鱼类育苗将是有效的预防措施。敏感细胞株的建立是病毒研究所必需的。1996 年,英国学者建立了病毒敏感细胞 SSN-1^[37],随后日本学者克隆了新的细胞株^[38],我国学者 Qin 等^[39]也建立了石斑鱼敏感细胞株。利用对鱼类神经坏死病毒敏感的细胞系来增殖病毒,能大大提高病毒诊断的灵敏度。在鱼类感染模型方面,目前已经建立了青鳉 (*Oryzias latipes*)^[40]和斑马鱼 (*Danio rerio*) 感染

模型^[41],并开展病毒感染与宿主免疫相互作用的研究,结果表明,小鱼苗免疫系统发育不全是导致感染病毒大量死亡的主要原因^[41]。

5 病毒性神经坏死症的防治对策

目前,病毒性神经坏死症防控还存在瓶颈。切断传播途径是预防病毒病的重要措施。理论上通过筛选没有携带病毒的亲鱼可以切断垂直传播途径,但是由于检测灵敏度的局限等原因,很难保证获得没有携带病毒的亲鱼。另外使用臭氧、碘试剂消毒可以减少病毒的水平传播。最近研究表明,病毒不仅存在于受精卵的表面,还存在于受精卵的膜内部^[42],因此,受精卵表面消毒无法完全有效切断病毒的传播。疫苗是防治病毒的重要手段,虽然注射重组病毒衣壳蛋白对较大的鱼苗具有较好的免疫保护^[43-44],但是这类病毒主要感染稚苗期,而稚苗的特异性免疫系统还没有充分发育,更无法使用常规免疫法来防治疾病。由于上述瓶颈的制约,目前还没有有效防治此病毒病的措施,导致此类疾病在我国还时常发生,制约着我国鱼类的健康养殖。针对感染稚鱼无法产生特异性抗体的特点,开发口服疫苗被动免疫小鱼苗,将会是比较有效的防控措施。

6 存在的问题与发展趋势

尽管已经有许多关于 NNV 的研究报道^[45],但大都集中于疾病的描述和部分病毒编码蛋白的功能等方面^[46],对病毒的复制过程了解还有限。病毒的复制是病毒生活史的核心环节,也是开展病毒防治的重要靶位点。关于病毒的入侵途径,病毒在宿主细胞内的复制过程和机理,病毒粒子的包装、释放过程和机制等方面还有待深入研究。不同血清型病毒之间的异同还需要进一步证实。

病毒的命名也应引起重视。目前,通常以发现病毒时所感染的鱼类和主要病征来命名病毒。而一些病毒没有宿主特异性,可感染多种鱼类;同时,一种鱼类可受多种病毒株的感染。因此,现有的命名方法容易引起混乱,给研究工作带来不便。探究一种规范、统一的命名规则是当前亟待解决的问题之一。

NNV 的盐度适应范围广,病毒有可能在海水和淡水鱼类之间传播,因此对 NNV 进行流行病学调查和人工感染试验是很有必要的。关于

NNV 自然传播途径方面的信息还很缺乏。病毒是否会随着鱼类的表皮细胞和上皮细胞(包括鳃、消化道)的分泌物、脱落物的扩散进行传播,这一问题还没有引起人们足够的重视。

疫苗的研究引起人们极大的兴趣,使用高效价抗血清被动免疫亲鱼和口服疫苗的研发,是值得探讨的领域,而抗病毒转基因鱼的研究工作还有待开展。

参考文献:

- [1] Glazebrook J S, Heasman M P, de Beer S W. Picorna-like viral particles associated with mass mortalities in larval barramundi, *Lates calcarifer* (Bloch) [J]. *Journal of Fish Diseases*, 1990, 13(3): 245 - 249.
- [2] Breuil G, Bonami J R, Pepin J F, et al. Viral infection (picorna-like virus) associated with mass mortalities in hatchery-reared sea-bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae and juveniles [J]. *Aquaculture*, 1991, 97(3): 109 - 116.
- [3] Bloch B, Gravningen K, Larsen J L. Encephalomyelitis among turbot associated with a pocornavirus-like agent [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1991, 10: 65 - 70.
- [4] Chi S C, Shieh J R, Lin S J. Genetic and antigenic analysis of betanodaviruses isolated from aquatic organisms in Taiwan [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2003, 55(3): 221 - 228.
- [5] Lin L, Huang J N, Weng S P, et al. Histopathological examination and electron microscopy observation of viral nervous necrosis in red-spotted grouper, *Epinephelus akaara* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2005, 29(4): 519 - 523. [林鑫, 黄剑南, 翁少萍, 等. 赤点石斑鱼病毒性神经坏死症的组织病理和电镜观察. *水产学报*, 2005, 29(4): 519 - 523.]
- [6] Munday B L, Kwang J, Moody N. Betanodavirus infections of teleost fish: a review [J]. *Journal of Fish Diseases*, 2002, 25: 127 - 142.
- [7] Yoshikoshi K, Inoue K. Viral nervous necrosis in hatchery-reared larvae and juveniles of Japanese parrotfish, *Oplegnathus fasciatus* (Temminck & Schlegel) [J]. *Journal of Fish Diseases*, 1990, 13(1): 69 - 77.
- [8] Glazebrook J S, Heasman M P, de Beer S W. Picorna-like viral particles associated with mass mortalities in larval barramundi, *Lates calcarifer* (Bloch) [J]. *Journal of Fish Diseases*, 1990, 13(3):

- 245 - 249.
- [9] Mori K, Nakai T, Nagahara M, *et al.* A viral disease in hatchery-reared larvae and juveniles of red spotted grouper [J]. *Fish Pathology*, 1991, 26 : 209 - 210.
- [10] Mori K, Nakai T, Muroga K, *et al.* Properties of a new virus belonging to Nodaviridea found in larval striped jack (*Pseudocaranx dentex*) with necrosis disease [J]. *Virology*, 1992, 187 (1) : 368 - 371.
- [11] Nishizawa T, Furuhashi M, Nagai T, *et al.* Genomic classification of fish nodaviruses by molecular phylogenetic analysis of the coat protein gene [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63 (4) : 1633 - 1636.
- [12] Nishizawa T, Kise Masaaki, Nakai T, *et al.* Neutralizing monoclonal antibodies to striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) [J]. *Fish Pathology*, 1995, 30 (2) : 111 - 114.
- [13] Mori K, Mangyoku T, Iwamoto T, *et al.* Serological relationships among genotypic variants of betanodavirus [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2003, 57 (1 - 2) : 19 - 26.
- [14] Lin L, He J G, Mori K, *et al.* Mass mortalities associated with viral nervous necrosis in hatchery-reared groupers in the People's Republic of China [J]. *Fish Pathology*, 2001, 36 (3) : 186 - 188.
- [15] Huang J N, Lin L, Weng S P, *et al.* Genotypic analysis of nervous necrosis virus isolate from red spotted grouper (*Epinephelus akaara*) in Dayawan bay, People's Republic of China [J]. *High Technology Letters*, 2004, 14 (11) : 75 - 80. [黄剑南, 林鑫, 翁少萍, 等. 中国大亚湾赤点石斑鱼神经坏死病毒分离株的基因型分析. 高技术通讯, 2004, 14 (11) : 75 - 80.]
- [16] Huang J N, Lin L, Weng S P, *et al.* Molecular cloning and sequence analysis of complete coat protein gene of nervous necrosis virus from *Epinephelus akaara* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2005, 29 (3) : 429 - 432. [黄剑南, 林鑫, 翁少萍, 等. 赤点石斑神经坏死病毒外壳蛋白全基因克隆与序列分析. 水产学报, 2005, 29 (3) : 429 - 432.]
- [17] Huang J N, Lin L, Weng S P, *et al.* Purification and Western-blot assay of the capsid protein of the red-spotted grouper nodavirus [J]. *South China Fisheries Science*, 2005, 1 (5) : 33 - 36. [黄剑南, 林鑫, 翁少萍, 等. 赤点石斑鱼诺达病毒的纯化及其衣壳蛋白的 Western-blot 分析. 南方水产, 2005, 1 (5) : 33 - 36.]
- [18] Chen X Y, Huang J N, Lv L, *et al.* Cloning and sequence analysis of the coat protein gene of nervous necrosis virus in *Epinephelus coioides* [J]. *Journal of Fisheries China*, 2004, 28 (2) : 183 - 188. [陈晓艳, 黄剑南, 吕玲, 等. 斜带石斑神经坏死病毒外壳蛋白基因克隆与序列分析. 水产学报, 2004, 28 (2) : 183 - 188.]
- [19] Chen X Y, Weng S P, Lv L, *et al.* Sequences of RNA1 and RNA2 from orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) nervous necrosis virus, China strain [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2005, 44 (1) : 73 - 77. [陈晓艳, 翁少萍, 吕玲, 等. 斜带石斑神经坏死病毒基因组 RNA1 和 RNA2 序列测定及分析. 中山大学学报, 2005, 44 (1) : 73 - 77.]
- [20] Gong Y Q, Chen X Z. Development and application of reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) assay for fish viral nervous necrosis virus [J]. *Inspection and Quarantine Science*, 2004, 14 (supplement) : 53 - 56. [龚艳清, 陈信忠. 逆转录聚合酶链式反应 (RT-PCR) 检测石斑鱼神经坏死病毒方法的建立和应用. 检验检疫科学, 2004, 14 (增刊) : 53 - 56.]
- [21] Liu H, Shi X J, Gao L Y, *et al.* Establishment of discriminating method of various genotypes of viral nervous necrosis virus (VNNV) and application in quarantine and surveillance of VNNV [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2004, 28 (6) : 695 - 702. [刘荭, 史秀杰, 高隆英, 等. 鱼病毒性神经坏死病病毒 (VNNV) 不同基因型鉴别方法的建立及在 VNN 检疫和监测中的应用. 水产学报, 2004, 28 (6) : 695 - 702.]
- [22] Tian F Y, Lv J Q, Liu H, *et al.* Molecular characterization and phylogenetic tree of cp gene from six isolates of viral nervous necrosis virus [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2008, 27 (3) : 414 - 418. [田飞焱, 吕建强, 刘荭, 等. 6 株鱼类病毒性神经坏死病病毒 cp 基因的分子特征和遗传发生分析. 华中农业大学学报, 2008, 27 (3) : 414 - 418.]
- [23] Iwamoto T, Okinaka Y, Mise K, *et al.* Identification of host-specificity determinants in betanodaviruses by using reassortants between striped jack nervous necrosis virus and sevenband grouper nervous necrosis virus [J]. *Journal of Virology*, 2004, 78 (3) : 1256 - 1262.
- [24] Okinaka Y, Nakai T. Comparisons among the complete genomes of four betanodavirus genotypes

- [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2008, 80 (2): 113 – 121.
- [25] Iwamoto T, Mise K, Mori K, *et al.* Establishment of an infectious RNA transcription system for striped jack nervous necrosis virus, the type species of the betanodaviruses [J]. *Journal of General Virology*, 2001, 82 (11): 2653 – 2662.
- [26] Liu H, Teng Y, Zheng X C, *et al.* Complete sequence of a viral nervous necrosis virus (NNV) isolated from red-spotted grouper (*Epinephelus akaara*) in China [J]. *Archives of Virology*, 2012, 23 (2): 114 – 123.
- [27] Chen L J, Su Y C, Hong J R. Betanodavirus non-structural protein B1: A novel anti-necrotic death factor that modulates cell death in early replication cycle in fish cells [J]. *Virology*, 2009, 385 (2): 444 – 454.
- [28] Wen C M, Ku C C, Wang C S. Viral susceptibility, transfection and growth of SPB-a fish neural progenitor cell line from the brain of snubnose pompano, *Trachinotus blochii* (Lacépède) [J]. *Journal of Fish Diseases*, 2013, 36 (1): 657 – 667.
- [29] Su Y C, Hong J R. Betanodavirus B2 causes ATP depletion-induced cell death via mitochondrial targeting and complex II inhibition *in vitro* and *in vivo* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285 (51): 39801 – 39810.
- [30] Fenner B J, Goh W, Kwang J. Dissection of double-stranded RNA binding protein B2 from betanodavirus [J]. *Journal of Virology*, 2007, 81 (11): 5449 – 5459.
- [31] Fenner B J, Goh W, Kwang J. Sequestration and protection of double-stranded RNA by the betanodavirus b2 protein [J]. *Journal of Virology*, 2006, 80 (14): 6822 – 6833.
- [32] Guo Y X, Dallmann K, Kwang J. Identification of nucleolus localization signal of betanodavirus GGNNV protein alpha [J]. *Virology*, 2003, 306 (2): 225 – 235.
- [33] Guo Y X, Wei T, Dallmann K, *et al.* Induction of caspase-dependent apoptosis by betanodaviruses GGNNV and demonstration of protein alpha as an apoptosis inducer [J]. *Virology*, 2003, 308 (1): 74 – 82.
- [34] Delsert C, Morin N, Comps M. A fish encephalitis virus that differs from other nodaviruses by its capsid protein processing [J]. *Archives of Virology*, 1997, 142 (12): 2359 – 2371.
- [35] Krondiris J V, Sideris D C. Intramolecular disulfide bonding is essential for betanodavirus coat protein conformation [J]. *Journal of General Virology*, 2002, 83 (9): 2211 – 2214.
- [36] Nishizawa T, Mori K, Nakai T, *et al.* Polymerase chain reaction (PCR) amplification of RNA of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1994, 18: 103 – 107.
- [37] Frerichs G N, Rodger H D, Peric Z. Cell culture isolation of piscine neuropathy nodavirus from juvenile sea bass, *Dicentrarchus labrax* [J]. *Journal of General Virology*, 1996, 77 (9): 2067 – 2071.
- [38] Iwamoto T, Nakai T, Mori K, *et al.* Cloning of the fish cell line SSN-1 for piscine nodaviruses [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2000, 43 (2): 81 – 89.
- [39] Qin Q W, Wu T H, Jia T L, *et al.* Development and characterization of a new tropical marine fish cell line from grouper (*Epinephelus coioides*) susceptible to iridovirus and nodavirus [J]. *Journal of Virological Methods*, 2006, 131 (1): 58 – 64.
- [40] Furusawa R, Okinaka Y, Nakai T. Betanodavirus infection in the freshwater model fish medaka (*Oryzias latipes*) [J]. *Journal of General Virology*, 2006, 87 (8): 2333 – 2339.
- [41] Lu M W, Chao Y M, Guo T C, *et al.* The interferon response is involved in nervous necrosis virus acute and persistent infection in zebrafish infection model [J]. *Molecular Immunology*, 2008, 45 (4): 1146 – 1452.
- [42] Kuo H C, Wang T Y, Hsu H H, *et al.* Nervous necrosis virus replicates following the embryo development and dual infection with iridovirus at juvenile stage in grouper [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (4): e36183.
- [43] Su Y L, Guo Z X, Feng J, *et al.* Protective efficacy of recombinant MCP of viral nervous necrosis virus Vaccine on *Rachycentron canadum* juvenile [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2009 (Supplement): 228 – 241. [苏友禄, 郭志勋, 冯娟, 等. 神经坏死病毒 MCP 重组疫苗对军曹鱼稚鱼的免疫保护. 生物技术通报, 2009 (增刊): 228 – 241.]
- [44] Lai Y X, Jin B L, Xu Y. Immune responses of orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, against virus-like particles of betanodavirus produced in *Escherichia coli* [J]. *Veterinary of Immunology and Immunopathology*, 2014, 157 (1 – 2): 87 – 96.
- [45] Huang J N, Guo Z X, Feng J, *et al.* Piscine nodavirus and its pathogenesis [J]. *Journal of Fisheries of*

- China,2006,30(6):831-836. [黄剑南,郭志勋,冯娟,等. 鱼类诺达病毒及其所导致的疾病. 水产学报,2006,30(6):831-836.]
- [46] Huang J N, Lin L, Weng S P, *et al.* High expression of capsid protein of red-spotted grouper nervous necrosis virus in an avian cell line requires viral RNA2 non-coding regions [J]. *Journal of Fish Diseases*, 2007, 30(7):439-444.

Trend and research progress of nervous necrosis virus

CHEN Wenjie^{1,2}, LIU Xiaodan¹, HU Xianqin¹, WANG Wenwen¹, QIN Zhendong¹,
WANG Yao¹, ZHOU Yang¹, LIU Xiaoling¹, LIN Li^{1,2,3*}

(1. Department of Aquatic Animal Medicine, College of Fishery, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430700, China;

2. Freshwater Aquaculture Collaborative Innovation Center of Hubei Province, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

3. Key Lab of Freshwater Animal Breeding, Ministry of Agriculture, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Nervous necrosis virus (NNV) can cause mass mortalities of many marine and freshwater fishes in the world. The genome of NNV consists of two segments, positive sense, single strand RNAs, named RNA1 and RNA2. A sub-genomic RNA3 is synthesized during virus replication. RNA1 encodes RNA-dependent RNA polymerase; RNA2 encodes capsid protein, the only viral structural protein, while RNA3 encodes B1 and B2 proteins, which are non-structural viral proteins. Based on the gene of the capsid protein, NNV are classified into four genotypes, named striped jack nervous necrosis virus (SJNNV), tiger puffer nervous necrosis virus (TPNNV), barfin flounder nervous necrosis virus (BFNNV) as well as red spotted grouper nervous necrosis virus (RGNNV). However, there are only A, B and C three serotypes of the virus, in which SJNNV belongs to A serotype, B belongs to TPNNV, BFNNV and RGNNV belong to C serotype. There are vertical and horizontal transmission pathways of the virus and it is widely distributed in wild-ranged and cultured fish. Blocking the transmission of the virus between wild and cultured fish as well as the development of novel vaccine will be the trend of the virus research in the future.

Key words: nervous necrosis virus; viral genome; viral proteins; genotype; serotype; disease prevention

Corresponding author: LIN Li. E-mail: linli@mail.hzau.edu.cn