

Jowita Samanta Niczyporuk*, Elżbieta Samorel-Salmonowicz, Hanna Czekaj

Zakład Chorób Wirusowych Drobiu, Państwowy Instytut Weterynaryjny
– Państwowy Instytut Badawczy, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Wpłynęło w lipcu 2009 r.

1. Ogólna charakterystyka rodziny *Reoviridae*. 2. Morfologia. 2.1. Wirion. 2.2. Genom. 2.3. Białka wirusowe (białka strukturalne, białka niestrukturalne). 3. Właściwości onkolityczne reowirusów. 4. Występowanie zakażeń u ludzi. 5. Zakażenia u trzody chlewnej. 6. Reowirusy u drobiu. 7. Diagnostyka zakażeń. 8. Immunoprofilaktyka. 9. Podsumowanie

Reoviruses – structure and pathogenicity for human and animals

Abstract: Avian reoviruses have icosahedral symmetry and a capsid with a diameter of 75–80 nm enclosing segmented double-stranded RNA and are non-enveloped. The members of the *Orthoreovirus* genus have been classified into mammalian and avian origin groups. Both groups have a genome consisting of 10–12 segments encoding eight structural proteins and four non-structural proteins separated into three size classes: large (λ), medium (μ), and small (σ). Avian reoviruses have failed to replicate in most of the mammalian cell lines tested.

Four of *Reoviridae* genera – *Orthoreovirus*, *Coltivirus*, *Rotavirus*, and *Orbivirus* are cause of human diseases, in most cases symptomless. Human rotaviruses cause inflammation, mainly of the upper gastrointestinal tract, which affects usually children of 6 to 24 months of age. Reoviruses carried by thick *D. andersoni* are frequently responsible for Colorado tick fever in USA.

Reoviruses of types 1 and 3, rotaviruses, and orbiviruses can infect porcine by respiratory or oral route. Most of the infections are symptomless or manifested by fever and diarrhea.

Avian reoviruses have been isolated from chickens without any clinical signs of disease, but also are associated with poultry disease conditions such as tenosynovitis, gastrointestinal malabsorption syndrome, growth retardation, and sudden death. They infect wild and farm-raised birds. Vaccination is most important to control reoviruses.

1. General characteristic of *Reoviridae* family. 2. Morphology. 2.1. Virion. 2.2. Genome. 2.3. Reovirus proteins (structural and non-structural proteins). 3. Oncolytic proteins. 4. Infections in humans. 5. Porcine infections. 6. *Reoviruses* in poultry. 7. Diagnostics of reovirus infection. 8. Immunoprophylaxis. 9. Summary

Słowa kluczowe: budowa, chorobotwórczość, *Reowirusy*

Key words: pathogenicity, *Reoviruses*, structure

1. Ogólna charakterystyka rodziny *Reoviridae*

Wirusy należące do rodziny *Reoviridae* są szeroko rozpowszechnione w populacjach wielu gatunków zwierząt oraz u człowieka. Nazwa tej rodziny pochodzi od angielskiego określenia wirusów występujących w układzie oddechowym i pokarmowym (Respiratory, Enteric, Orphan) zwanych również wirusami sierocymi, gdyż początkowo nie przypisywano im możliwości wywoływania chorób. Po raz pierwszy izolowano reowirusy w 1951 roku z wymazu odbytniczego pochodzącego od zdrowego dziecka [8, 32, 37]. W roku 1954 reowirusy wyizolowano od kurcząt wykazujących objawy ze strony układu oddechowego [25]. W następnych latach wykryto je u wielu gatunków ptaków. Najczęściej występowały one u kur i indyków, izolowano je również od gęsi, kaczek, perliczek, przepiórek i gołębi, a także od ptaków dzikich i egzotycznych [38].

Wirusy zaliczone do rodziny *Reoviridae*, są wirusami RNA, nie posiadają otoczki lipidowej, charakteryzują się sferycznym kapsydem zawierającym genom w postaci 10–12 segmentów ds. RNA. W skład rodziny

wchodzi 12 rodzajów, które można podzielić na dwie główne grupy: tworzące „wieżyczki” (np. ortoreowirusy, aquareowirusy, cypowirusy) oraz nie tworzące „wieżyczek” (np. rotawirusy, orbivirusy, phytoreowirusy). Wieżyczki są to wypustki kapsydu tworzone wzdłuż dwunastu pięciobocznych osi wirusa. Wieżyczki zbudowane są z pentamerów tworzonych przez wirusowy enzym λ C tworzący „czapeczki” oraz białko σ C odpowiedzialne za wiązanie receptora komórki. Orto-reowirusy można dalej podzielić na pięć podgrup: reowirusy ssaków (MRV), reowirusy ptasie (ARV), reowirusy pawianów (BRV), wirus Nelson Bay (zakażający nietoperze z rodzaju *Pteropus*) oraz grupa izolowana od gadów [14, 36, 37, 41].

2. Morfologia

Wiriony reowirusów zawierają kapsyd, rdzeń i kompleks nukleoproteidowy. Podczas cyklu życiowego w fazie zewnątrzkomórkowej wiriony tracą wewnątrzkomórkową osłonkę pochodzącą z retikulum endoplazmatycznego. Wiriony mogą być oddzielone w kulistych

* Autor korespondencyjny: Adres autora: Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: jowita.niczyporuk@piwet.pulawy.pl

ciałach wtretowych i najczęściej zawierają pojedynczy nukleokapsyd. Wirus inicjujący zakażenie jest otoczony przez krystaliczną macierz białkową o wielościennym kształcie, zawierającą najczęściej po kilka wirionów [3, 32, 41].

2.1. Wirion

Bezotoczkowy wirion ortoreowirusów ma średnicę około 850 Å, posiada podwójny kapsyd zbudowany z dwóch koncentrycznych warstw białkowych osłaniających genom. Na powierzchni wirionu występuje 600 wypustek ułożonych heksametrycznie wokół pięciociennych wierzchołków. W ten sposób pentametryczne wieżyczki rdzenia uczestniczą w tworzeniu zewnętrznej powierzchni. Wirion pozbawiony zewnętrznej osłony tworzy cząsteczki infekcyjne (ISVP – Infections SubViral Particle) o średnicy 800 Å. Po usunięciu zewnętrznego kapsydu zostaje rdzeń o guzkowatej powierzchni wyróżniający się wieżyczkami wystającymi z 12 pięciobocznych wierzchołków. Rdzeń składający się z pięciu białek i 10 fragmentów genomu jest w stanie przeprowadzać transkrypcję i produkować wirusowe mRNA w trakcie replikacji.

Zewnętrzny kapsyd tworzony jest przez białko σB . Jest to białko o masie 41 kDa tworzące wypustki pośredniczące w kontakcie z zakażoną komórką. Poniżej zewnętrznego kapsydu znajduje się 200 trimerów białka μB o masie 76 kDa, oraz 12 trimerów białka σC (49 kDa), odpowiadającego za wiązanie z receptorami komórki gospodarza. W zewnętrznej warstwie wyróżnić można także trzy rodzaje kanałów P1, P2 oraz P3. Kiedy rdzeń jest pozbawiony zewnętrznych osłon białko σC nie blokuje kanałów P1. 60 kanałów P2 jest utworzonych przez 4 jednostki σB , a 6 takich jednostek białka tworzy 60 kanałów P3. Mimo, że białka σB występują w kanałach jako osobne jednostki to przypuszcza się, że jest możliwe tworzenie pomiędzy nimi połączeń. Większość połączeń kapsydu utworzona jest przez trimery białka μB , z którymi łączą się σB tworząc heteroheksameryczne struktury. Kanały P1, P2 oraz P3 służą do transportu substratów oraz wydostawania się nowych nici mRNA [3, 13, 32].

Podwójny białkowy kapsyd zapewnia reowirusom oporność na działanie czynników środowiskowych, rozpuszczalników tłuszczowych, kwaśnego pH i wielu środków odkażających [31].

Rdzeń zbudowany jest z osłony tworzonej przez 120 kopii białka λA o masie 142 kDa, a także z 150 monomerów białka σA (47 kDa) oraz 12 pentamerów λC (144 kDa) białka tworzącego wypustki. Pozostałe białka błonowe, λB – zależna od RNA polimeraza RNA oraz przypuszczalnie μA są umieszczone wewnątrz rdzenia pod wieżyczkami λC . Pentamery białka λC wystają promieniście ponad powierzchnią kapsydu na

odległość około 80 Å wzdłuż jego osi symetrii. Pojedyncze kopie białka λB (142 kDa) mieszczą się pod pentametrami λC , jednak nie są ułożone w osi wieżyczki [3, 30, 36, 48, 44, 41]

2.2. Genom

Reowirusy posiadają segmentowany genom, który składa się z 10–12 odcinków dsRNA, stanowi on 15–20% masy wirionu. Fragmenty te są rozróżniane na podstawie wielkości. Podzielono je na 3 segmenty duże (L1, L2, L3), 3 segmenty średnie (M1, M2, M3) oraz 4 segmenty małe (S1, S2, S3, S4). Każdy genom zawiera po jednej kopii każdego z segmentów, a każdy z nich łączy się z osobną polimerazą RNA zależną od RNA (białko λB). Sekwencjonowanie segmentów dsRNA wykazało, że wszystkie zawierają po jednej otwartej ramce odczytu (ORF) z wyjątkiem segmentu S1, który ma ich trzy. Dodatnia nić jest identyczna z kodowanym mRNA, i zawiera czapkę typu-1 (type-1 cap, 5'-m7GpppAmG-), natomiast nić ujemna ma w analogicznym miejscu grupę pirofosfatową. U wszystkich ptasich reowirusów nić dodatnia RNA zawiera na swym końcu 5' sekwencję GCUUUU natomiast na końcu 3' sekwencję UCAUC oraz brak ogona poli-A. Sekwencje te prawdopodobnie związane są z procesami transkrypcji, replikacji lub kapsydacji genomu. Tak jak w przypadku innych wirusów z rodziny *Reoviridae* w przypadku zakażenia komórki jednocześnie przez dwa odmienne szczepy wirusa może dochodzić do powstania nowego szczepu zawierającego segmenty losowo pochodzące od obu zakażających szczepów [3, 22, 36, 41].

2.3. Białka wirusowe

W trakcie ekspresji genomu reowirusów ptasich powstaje 12 głównych produktów białkowych, z których 8 to białka strukturalne, tworzące w późniejszych etapach wiriony potomne, natomiast pozostałe 4 białka są niestrukturalne. Nazwy białek reowirusów tworzone są przez połączenie greckiej litery oznaczającej z której klasy segmentów genomu pochodzi dany transkrypt (L- λ , M- μ , S- σ) oraz arabskiej litery oznaczającej miejsce w czasie elektroforezy w odwrotnej kolejności do mobilności segmentów (λA , λB itd.), w odróżnieniu do reowirusów ssaków gdzie oznaczenia tworzy się analogicznie przez połączenie litery greckiej z cyfrą. Białka strukturalne tworzące kapsyd (λA , λB , λC , μA , μB , σA , σB , σC) powstają bezpośrednio w czasie translacji. Białko μB może ulegać cięciu potranslacyjnemu i tworzyć dwa kolejne białka: μBN oraz μBC [3, 22, 30, 36]. Reowirusy tworzą także kilka białek niestrukturalnych (μNS , μNSN , μNSC , p10, p17, σNS). Białka μNS oraz σNS kodowane są przez segmenty

odpowiednio M3 oraz S4. Komórki ptaków po zakażeniu reowirusami produkują także białko μ NSC, które jest modyfikowanym białkiem μ NS. Białko to powstaje przez hydrolityczny rozkład μ NS, a nie przez transkrypcję zaczynającą się od wewnętrznego kodonu AUG w segmencie M3. Białka p10 i p17 będące kolejnymi białkami niestrukturalnymi są kodowane przez dwa pierwsze cistrony segmentu S1. Wykazano bliskie powiązania pomiędzy rozmiarami wirusowych genów i rozmiarami kodowanych przez nie protein, za wyjątkiem segmentu S1. Gen ten jest największym genem z klasy S kodującym najmniejszą strukturalną proteinę σ C. Sekwencja tego genu posiada unikalny układ cistronów zawierający trzy przesunięte w fazie ORF, a σ C jest kodowane przez cistron najbliższy końcowi 3'. Zastosowanie specyficznych przeciwciał dla każdej z protein kodowanych przez te cistrony dowiodło, że gen S1 ptasich reowirusów koduje dwie niestrukturalne proteiny p10 i p17 oraz strukturalną proteinę σ C w zakażonych komórkach, a to świadczy, że S1 funkcjonalnie jest genem tricistronowym [12, 22, 36].

Białka strukturalne. Białko λ A, kodowane jest przez gen L1, formuje wewnętrzny rdzeń osłonki zamykającej segmenty wirusowego genomu i wirusową polimerazę RNA oraz jest podstawą do późniejszego budowania rdzenia wirusa. Proteina λ A bardzo szybko łączy się z centrami produkującymi wiriony w zakażonych komórkach. Jest rozproszona w cytoplazmie gdyż tylko ona jest produkowana w komórce. W przypadku wspólnej ekspresji λ A z białkiem μ NS łączy się w postaci globularnych wtretów, co sugeruje aktywność μ NS we wprowadzaniu λ A do centrów produkcji wirionów [30].

Kodowane przez segment L2 białko λ B jest mniej liczny składnikiem wirusowego rdzenia. Jest jedyną reowirusową proteiną, której sekwencja nie jest do dzisiaj poznana. Mimo że nie ma eksperymentalnych dowodów na aktywność polimerazy RNA u któregoś z reowirusowych polipeptydów, wydaje się, że taka sytuacja zachodzi w przypadku λ B, ponieważ jego wielkość i liczba kopii jest podobna do analogicznych polimeraz RNA u reowirusów ssaczy [30].

Gen L3 koduje białko λ C będące wirusowym enzymem modyfikującym mRNA przez dodanie tzw. „czapeczki”. Białko to jest więc jedyną strukturalną proteiną wirusa, która łączy się z GMP przez wiązanie fosfoamidowe i może przenosić je na akceptory GDP lub GTP tworząc czapeczki czyli metyloguanozydowe zakończenia ochronne mRNA na ich końcu 5' [3]. Zdolność tą posiada 42 aminokwasowa domena na końcu N białka. Wydaje się także, że pozostały 100 aminokwasowy fragment jest całkowicie zbędny dla tej aktywności. Jednakże badania porównawcze sekwencji λ C i jego odpowiedników u reowirusów ssaków i ryb

wykazały, że fragment 100-aa białka λ C prawdopodobnie posiada aktywność metylazy tak jak jego odpowiedniki u innych rodzajów reowirusów [29, 30].

Białko μ A kodowane przez fragment M1 jest jednym z białek tworzących wewnętrzny kapsyd. Nie przeprowadzono jednak jak dotąd szczegółowych badań funkcji i aktywności tego polipeptydu. U reowirusów ssaków, białko μ 2 wchodzi w interakcje z mikrotubulami oraz z białkiem μ NS. Aktywności te mają prawdopodobnie związek z łączeniem wirusowych „fabryk” do mikrotubuli, stąd większość reowirusów ssaków tworzy centra produkujące wiriony w układzie liniowym. Reowirusy ptasie natomiast w układzie globularnym nie są związane z mikrotubulami, co sugeruje, że μ A nie wykazuje aktywności wiązania mikrotubuli [6, 30, 49].

Białko μ B (segment M2) jest modyfikowane na końcu N przez dodanie grupy mirystylowej. Większość produkowanych w zakażonej komórce polipeptydów μ B ulega rozpadowi w pobliżu końca N tworząc mały mirystylowany polipeptyd μ BN oraz duży fragment μ BC. Wszystkie trzy białka (prekursor i produkty) są składnikami zewnętrznego kapsydu. W procesie rozpadu μ B na dwa produkty prawdopodobnie uczestniczy dodatkowo inne białko wirusowe na co wskazuje fakt, że białko μ B jest rozkładane w komórce tylko w obecności pozostałych białek wirusa. Mimo, że nie zidentyfikowano jak dotąd, które białko uczestniczy w tym procesie, najprawdopodobniej jest to σ B, tworzące kompleks z μ B i μ BC w cytoplazmie gospodarza. Ponadto μ BC uczestniczy we wprowadzeniu wirionu do wnętrza komórki, ulega ono dwukrotnie hydrolizie blisko końca C tworząc dwa polipeptydy δ i δ' . Modyfikacja ta umożliwia przełamanie przez wirion bariery lizosomu i wniknięcie do cytoplazmy komórki [30, 47, 49].

Wewnętrzna osłona rdzenia jest tworzona przez białko σ A, kodowane przez gen S2. Wykazuje ono aktywność wiązania dsRNA niezależnie od sekwencji, natomiast z dużym powinowactwem. σ A ma zdolność rozkładania trójfosfonukleotydów do mono- i difosfonukleotydów i reszty fosforanowej. Dzięki zdolności do hamowania aktywacji zależnej od dsRNA kinazy białkowej PKR, σ A jest w stanie ograniczać skuteczność interferonu, a więc może grać główną rolę w ochronie reowirusów przed jego działaniem. Ponadto σ A wspomaga morfogenezę reowirusów przez stabilizację osłony rdzenia budowanej przez λ A [1, 17, 20, 50].

Kodowane przez S3 białko σ B jest głównym składnikiem zewnętrznego kapsydu. Bardzo szybko ulega spontanicznej asocjacji z μ B i μ BC w cytozolu zakażonych komórek tworząc heterooligomeryczny kompleks zawierający równe ilości poszczególnych białek, który włączany jest do budowanego kapsydu [30, 50].

Białko σ C, kodowane przez cistron segmentu S1 bliski końcowi 3', jest odpowiedzialne za przyłączenie

do zakażanej komórki. Jest to jedyne białko reowirusów zdolne do wiązania się do błony komórek [16]. W stanie natywnym występuje ono jako homotrimer i w takiej postaci wykazuje zdolność do przyłączania do struktur błony komórkowej. Koniec C białka σC zawiera globularną domenę wiążącą receptor komórkowy. Fragment ten jest bardzo podobny do swego odpowiednika u reowirusów ssaków z dodatkowymi dwoma powtórzeniami potrójnej spirali. Wykazano także, że σC może indukować apoptozę zakażonych komórek jednak mechanizm tego procesu nie został w pełni zbadany [5, 12, 21, 26, 27, 30, 50].

Białka niestrukturalne. Na matrycy reowirusowego genu M3 powstaje 70 kDa niestrukturalne białko μNS . Białko to jest cięte przez komórkową proteazę na dwa potomne polipeptydy μNSN i μNSC , jednak funkcja tej hydrolizy nie została poznana. Spośród wszystkich wirusowych białek tylko μNS jest zdolne do samodzielnego tworzenia ciał inkluzyjnych, co oznacza prawdopodobnie, że jest ono niezbędne we wczesnych etapach morfogenezy wirusa. Białko to wspomaga włączanie do ciał inkluzyjnych białek σNS oraz λA [1, 30, 33, 49].

Pierwszy cistron fragmentu S1 koduje niestrukturalne białko p10, będące białkiem transbłonowym typu 1, którego środkowa domena transmembranowa oddziela zewnętrzną i wewnętrzną domenę. Ekspresja p10 w transfekowanych komórkach wykazała, że białko to wpływa na fuzję komórkową, wywoływaną przez reowirusy ptasie. Domena wewnętrzna jest połączona z transmembranowym motywem dwucysteinowym, który jest palmitylowany, co jest niezbędne do aktywności fuzyjnej. Dla tej zdolności białka p10 istotna też jest hydrofobowa domena końca N oraz motyw trójglicynowy w domenie transmembranowej. Białko p10 ma właściwości permeazy błon bakteryjnych i eukariotycznych [5, 12, 27, 30, 40, 50].

Druga otwarta ramka odczytu segmentu S1 koduje białko p17, które nie wykazuje homologii z żadnym innym białkiem wirusowym lub komórkowym. Białko to gromadzi się w jądrze komórkowym i tam służy jako pośrednik pomiędzy jądrem a cytoplazmą. Wykazano związek pomiędzy obecnością p17 w jądrze a aktywnością transkrypcji w komórce, ponadto białko to posiada zdolność wiązania DNA, ciągle jednak nie wykazano jaką rolę odgrywa w cyklu życiowym reowirusów. Prawdopodobnie p17 wpływa na proliferację komórek przez aktywację białka p53 i p21^{cip1/waf1} [5, 9, 12, 27, 28, 30, 50].

Fragment genomu S4 koduje niestrukturalne białko σNS , które wiąże jednoniciowe RNA niezależnie od sekwencji i występuje w dużych kompleksach rybonukleinowych w zakażonych komórkach. Pozbawione RNA białko σNS tworzy homodimery i homo-

trimery. Minimalna długość wiążanego odcinka RNA mieści się pomiędzy 10 a 20 nukleotydów. Sekwencja aminokwasowa odpowiedzialna za wiązanie RNA jest rozproszona w całej sekwencji białka σNS , co wskazuje na zależność wiązania od konformacyjnego ukształtowania białka. Jako niestrukturalne białko wiążące RNA kumulujące się w wirusowych fabrykach spełnia ono rolę przy pakowaniu RNA oraz replikacji, jednak hipoteza ta wymaga dalszych badań [1, 3, 11, 30, 33, 36, 44–46, 50].

3. Właściwości onkolityczne reowirusów

Badania przeprowadzone z wykorzystaniem reowirusów ludzkich jako czynnika antynowotworowego dały pozytywne rezultaty. Reowirusy bowiem zakażają komórki z nadaktywnym szlakiem sygnalizacyjnym, w którym istotną rolę odgrywa białko c-RAS. Replikacje reowirusów w komórkach fizjologicznie zdrowych hamuje kinaza białkowa [2] aktywowana przez ds RNA. Natomiast aktywność PKR jest osłabiona w komórkach z nadaktywnym szlakiem sygnalizacyjnym c-RAS, dzięki czemu wirus przechodzi pełny cykl lityczny. Istotnym jest fakt, że u ponad 30% ludzkich nowotworów, mutacje zachodzą w genie c-RAS. Te specyficzne i unikalne właściwości reowirusów do tego typu komórek, stały się podstawą dalszych testów nad wirusem jako czynnikiem onkolitycznym. Doświadczalnie wykazano, że reowirusy, oprócz szlaku sygnalizacyjnego c-RAS potrzebują do przeprowadzania replikacji aktywności RalGEF i p38. Wykazano zbieżność aktywności szlaków RalGEF i p38 oraz c-RAS w wielu ludzkich nowotworach. Sądzi się, że właśnie one mogą brać znaczny udział w terapii przeciwnowotworowej. Proponowane jest zastosowanie reowirusów w terapii medulloblastomy (MB), nowotworu trzustki, jelita grubego, jajnika i piersi. Niezbędne są jednak dalsze badania nad mechanizmami właściwości onkolitycznych tych wirusów [4, 15, 24, 35].

4. Występowanie zakażeń u ludzi

Spośród 9 rodzajów rodziny *Reoviridae*, cztery z nich – orthoreowirusy, coltiwirusy, rotawirusy oraz orbivirusy powodują zakażenia u ludzi. Większość z nich może przebiegać bezobjawowo, czego wynikiem jest powszechność występowania przeciwciał przeciwko reowirusom w surowicy u ludzi dorosłych. U dzieci wszystkie serotypy reowirusów stwierdzano w przebiegu infekcji górnych dróg oddechowych, stanach zapalnych jelit, biegunce, stanach gorączkowych, a także u dzieci zdrowych. Nie udało się potwierdzić ścisłej relacji pomiędzy występowaniem objawów choroby a zakażeniem reowirusami [2, 23]

Częstym schorzeniem wywoływanym przez reowirusy jest kleszczowa gorączka Kolorado, najczęściej notowana na terenie USA. Choroba jest przenoszona przez kleszcza drzewnego *D. andersoni*. Replikacja wirusa przebiega w gruczołach limfoidalnych, śledzionie, sercu i wątrobie. Przebieg choroby jest zazwyczaj łagodny, często nawet nie dochodzi do zdiagnozowania jej przez lekarza lub jest mylona z innymi jednostkami chorobowymi. Przypadki o ciężkim przebiegu są niezwykle rzadkie, natomiast do śmierci może dojść jedynie w wyniku powikłań [2, 23].

Ludzkie rotawirusy powodują głównie zapalenia żołądka i jelit u dzieci w wieku od 6 do 24 miesięcy życia. Wirus rozprzestrzenia się drogą doustną prowadząc do infekcji w górnych odcinkach przewodu pokarmowego. Po krótkim okresie inkubacji dochodzi do szeregu zmian w fizjologicznym funkcjonowaniu narządów. Rotawirusy zakażają przede wszystkim komórki kosmków jelita cienkiego prowadząc do silnych biegunek, natomiast nie stwierdza się ich w błonie śluzowej. Namnażając się w enterocytach zaburzają ich funkcje transportowe. Wirus wydalany jest w kale przez okres 2–12 dni. Rekonwalescencja może trwać do 8 tygodni. Śmiertelność w przebiegu zakażeń rotawirusowych wynosi 10–20%. U osób dorosłych zakażenie przebiega bardzo łagodnie lub bezobjawowo. W celu zabezpieczenia przed zachorowaniem stosowane są szczepienia profilaktyczne u dzieci w pierwszych 24 tygodniach życia [2, 23].

5. Zakażenia u trzody chlewnej

U świń zidentyfikowano reowirusy typu 1 oraz typu 3 jak również infekcje wywołane przez rotawirusy oraz orbiwirusy. Wirusy te były izolowane od zdrowych zwierząt jak i z objawami klinicznymi ze strony przewodu pokarmowego. Przeciwciała przeciwko reowirusom przekazywane przez matkę swemu potomstwu chronią je przez około 11 tygodni, po czym zwierzęta stają się wrażliwe na zakażenie. Do zakażenia dochodzi głównie przez przewód pokarmowy i oddechowy, są to główne miejsca replikacji tych wirusów. Próby wywołania choroby w warunkach laboratoryjnych przez zakażenie donosowe lub dootrzewnowe prosiąt szczepami reowirusów pochodzącymi od świń lub człowieka najczęściej powodowały jedynie krótkotrwałą gorączkę bez innych objawów klinicznych. Wirusy wydalone są z kałem i z wydzieliną z jamy nosowej od 24 godziny po zakażeniu. Siewstwo wirusa trwa przez około 2 tygodnie. Zakażenie przebiega najczęściej łagodnie z objawami gorączki oraz zaburzeniami łaknienia powoduje miejscową atrofię kosmków jelita krętego i czczego. Przy zakażeniu dróg oddechowych obserwuje się agregację limfocytów i makrofagów w pęcherzy-

kach płucnych oraz nacieki limfocytów w grudkach okołoskrzelikowych. Zakażenia reowirusami u świń nie stanowią znaczącego problemu ekonomicznego, nie opracowano metod ich leczenia i zapobiegania [42].

6. Reowirusy u drobiu

U ptaków zakażenia wywoływane są przez wirusy należące do rodzaju *Orthoreovirus*. ARV posiadają cechy morfologiczne i fizykochemiczne zbliżone do reowirusów ssaków. Różnice pomiędzy nimi polegają na braku zdolności aglutynowania krwinek przez reowirusy ptasie oraz typie efektu cytopatycznego indukowanego w hodowlach komórkowych. ARV w odróżnieniu od MRV wywołują fuzję komórek [32, 36, 37, 39]. Brak aktywności fuzogenicznej reowirusów ssaków wynika z różnic w segmencie S1. Reowirusy ptasie zawierają w tym segmencie trzy otwarte ramki odczytu kodujące białka p10, p17 oraz σC , natomiast MRV kodują białko $\sigma 1$ pełniące podobną funkcję do σC , nie posiadają jednak genu dla białka p10 wywołującego fuzję komórek gospodarza [39, 40].

Zakażenia reowirusami występują najczęściej u kur. U kurecząt są przyczyną zapalenia stawów, zapalenia osierdzia i mięśnia sercowego, syndromu złego wchłaniania, stanów zapalnych jelit, zapalenia wątroby, atrofii bursy Fabrycjusza i grasicy, ostrych i chronicznych chorób układu oddechowego. Są one immunosupresorami. Obecność reowirusów stwierdzono także w narządach wewnętrznych ptaków klinicznie zdrowych [19, 25, 31].

Zakażenia ARV mogą rozprzestrzeniać się na drodze poziomej i pionowej. Transmisja pozioma odbywa się przez kontakt bezpośredni z zakażonymi ptakami oraz pośredni poprzez zakażoną ściółkę, wodę i paszę [43]. Do przeniesienia zakażeń dochodzi również drogą pionową poprzez jaja wylęgowe jeżeli nioski zostały zakażone przed nieśnością lub już w czasie jej trwania. Odsetek jaj zakażonych wynosi od kilku do kilkunastu procent, ale wylężone pisklęta już w czasie klucia mogą zakażać pisklęta zdrowe drogą poziomą. Jest to istotna droga rozprzestrzeniania wirusa, gdyż najbardziej wrażliwe na zakażenie są pisklęta w pierwszych dniach życia. Wrażliwość na zakażenie zmniejsza się wraz z wiekiem ptaków i rozwojem układu immunologicznego, podobnie jest w przypadku wielu innych wirusów [31]. Przebieg zakażenia reowirusami u ptaków zależy od wielu czynników, do których można zaliczyć: wiek ptaków i ich wrażliwość, patogenność szczepu zakażającego, drogę zakażenia, obecność swoistych przeciwciał, występowanie innych zakażeń oraz warunki utrzymania. Nabłonki jelit cienkich oraz bursy Fabrycjusza odgrywają ważną rolę w patogenezie zakażeń. Są one miejscem pierwotnej replikacji reowirusów, po czym

wirus rozprzestrzenia się w ciągu 24–48 godzin do innych tkanek i narządów, zakażenie ma charakter pantropowy [25, 31, 32].

Wirusowe zapalenie stawów i pochewek ścięgowych u kur dotyczy głównie ptaków ras mięsnych w wieku 4–7 tygodni. Okres wylegania choroby wynosi od kilku do kilkunastu dni, zależy on od drogi zakażenia, wieku zainfekowanych ptaków jak również patogenności wirusa. W trakcie rozwoju choroby dochodzi głównie do zapalenia w obrębie stawu skokowego, zapalenia błon maziowych manifestującego się obecnością płynu wysiękowego z domieszką krwi wewnątrz torebki stawowej oraz zgrubienia ścięgien ze zmianami nekrotycznymi. Mikroskopowo widoczne mogą być zmiany w wątrobie, śledzionie, bursie Fabrycjusza i mięśni sercowym. Głównym objawem jest jedno- lub dwustronna kulawizna. Ponadto widoczny jest obrzęk stawów i ścięgien, także poduszek stóp. Niejednokrotnie dochodzi do rozerwania ścięgna lub mięśnia brzuchatego łydki. U ptaków występuje wyraźny brak apetytu, są karłowate i apatyczne. Zachorowalność ptaków w stadzie może sięgać nawet do 100% przy kilkunastoprocentowej śmiertelności [10]. W diagnostyce różnicowej należy brać pod uwagę zapalenia stawów wywołane przez *Mycoplasma synoviae* i *Staphylococcus aureus*. Mogą to być jednocześnie patogeny wklajające zakażenie stawów na tle wirusowym [10, 25].

Kolejną jednostką chorobową związaną z zakażeniem ARV jest zespół złego wchłaniania (zakażne zahamowanie wzrostu u brojlerów). Choroba dotyczy kurcząt brojlerów w 1–3 tygodniach życia. Infekcja układu pokarmowego prowadzi do zmian nieżytowych, uszkodzenia kosmków jelitowych, wypełnienia jelit niestrawionym pokarmem, a w konsekwencji słabsze wchłanianie i zmniejszenie przyrostów masy ciała. Objawami towarzyszącymi są zapalenie mięśnia sercowego, atrofia bursy Fabrycjusza i trzustki, a także zmiany w główce kości udowej. U zakażonych ptaków widoczne są ubytki w upierzeniu, zahamowanie wzrostu, trudności w poruszaniu się, biegunka. We krwi chorych ptaków stwierdza się wysoki poziom karotenoidów i wzrost aktywności fosfatazy alkalicznej [19, 25, 31].

W Polsce od końca lat 90-tych XX w notowano w stadach kurcząt brojlerów liczne przypadki zakażenia ARV o ostrym przebiegu połączone ze znaczną śmiertelnością ptaków. Reowiroza ma najczęściej przebieg gwałtowny u 6–14 dniowych kurcząt. Okres inkubacji choroby wynosi od kilku do kilkunastu dni i jest on krótszy u kurcząt zakażonych pionowo poprzez jaja wylęgowe. W pierwszym stadium choroby, tzw. fazie ostrej obserwuje się apatię, obniżone łaknienie, kulawiznę. Sekcyjnie stwierdza się zmiany w wątrobie i śledzionie, które są powiększone i przekrwione z ogniskami nekrotycznymi. Widoczne są również wybroczyny w sercu, atrofia bursy Fabrycjusza i grasicy oraz przekrwienie płuc i nerek. Faza chroniczna wy-

stępuje u ptaków, które przeżyły fazę ostrą. Notowane wówczas są objawy przypominające wirusowe zapalenie stawów jak: obrzęki stawów, zaburzenia motoryczne oraz zahamowanie wzrostu. Pogrubieniu ulega torebka wątroby i worek osierdziowy. Notuje się także rozległą martwicę nerek, wątroby i śledziony. W grasicy i bursie Fabrycjusza zanikają komórki limfoidalne. W przebiegu reowirozy śmiertelność może wynosić nawet 80% ptaków w stadzie, przy czym ptaki padają głównie w ostrej fazie choroby [25, 31, 32, 34].

ARV mogą powodować u zakażonych ptaków znacznego stopnia immunosupresję komórkową jak i humoralną. Działanie to jest związane z miejscem ich pierwotnej replikacji odbywającej się w bursie Fabrycjusza. Upośledzeniu ulega produkcja limfocytów B, obniżeniu ulega również odsetek subpopulacji limfocytów T we krwi obwodowej ptaków. Takie działanie może być przyczyną obniżenia skuteczności szczepień profilaktycznych stosowanych u ptaków [10, 38].

7. Diagnostyka zakażeń

Obecność zakażeń reowirusami można wykazać bezpośrednio poprzez stwierdzenie obecności wirusa w narządach wewnętrznych oraz płynach ustrojowych jak też pośrednio poprzez wykrycie swoistych przeciwciał. Izolację wirusa wykonuje się materiałem uzyskanym od padłych lub chorych ptaków w hodowlach komórkowych bądź w zarodkach kurzych. Obecność wirusa w tkankach zmienionych narządów wewnętrznych można stwierdzić także metodą immunofluorescencji (IF). Coraz powszechniej do wykrywania patogenów zarówno wirusowych jak i bakteryjnych są stosowane techniki biologii molekularnej pozwalające na stwierdzenie obecności materiału genetycznego w tkankach pobranych od ptaków. Zastosowanie znalazł test polimerazowej reakcji amplifikacji (RT-PCR) wykrywający najczęściej sekwencje segmentów S1 i S4. Białko σC kodowane jest przez cistron segmentu S1 i jest odpowiedzialne za przyłączanie do zakażonej komórki natomiast białko σNS kodowane przez segment S4 spełnia istotną rolę w pakowaniu RNA oraz procesie replikacji wirusa. Są to najlepiej poznane białka reowirusów pod względem ich sekwencji oraz funkcji [7].

Do wykrywania obecności przeciwciał przeciwko reowirusom w surowicy ptaków powszechnie stosuje się test immunoenzymatyczny ELISA oraz odczyn immunodyszufy w żelu agarowym (AGID) [31].

8. Immunoprofilaktyka

Ze względu na powszechne występowanie, łatwość rozprzestrzeniania zakażeń poprzez transmisję pionową i poziomą reowirusów nie jest możliwa pełna ochrona

stad ptaków przed kontaktem z tym patogenem. Jedyną skuteczną formą ograniczania i zapobiegania skutkom zakażeń reowirusami są szczepienia profilaktyczne. Swoista immunoprofilaktyka stad rodzicielskich oraz kurcząt brojlerów stymuluje produkcję swoistych przeciwciał. Wysoki poziom przeciwciał przeciwko reowirusom w stadzie rodzicielskim przekazywany jest z matki na potomstwo. Na rynku dostępne są szczepionki żywe oparte na szczepach atentowanych jak i inaktywowane jedno lub wiele ważne. Program szczepień profilaktycznych uzależniony jest od sytuacji epidemiologicznej na danym terenie, obejmuje on szczepienie szczepionką żywą a następnie szczepionką inaktywowaną [18, 31].

9. Podsumowanie

Reowirusy po raz pierwszy zostały wyizolowane w 1951 roku. Są one bezotoczkowymi wirusami DNA charakteryzujące się sferycznym kapsydem o średnicy ok. 850 Å. Kapsyd jest zbudowany z dwóch koncentrycznych warstw co zapewnia znaczną odporność wirusa na czynniki fizykochemiczne. Genom występuje w postaci 10–12 segmentów dsRNA. Segmenty podzielono na 3 klasy: S, M oraz L w zależności od ich wielkości. Segmenty te zawierają po jednej otwartej ramce odczytu oprócz segmentu S1, który zawiera ich 3 lub 2 w zależności od rodzaju reowirusów. Genom koduje białka strukturalne tworzące kapsyd (λ A, λ B, λ C, μ A, μ B, σ A, σ B, σ C), które powstają bezpośrednio w czasie translacji oraz białka niestrukturalne: białka μ NS, σ NS, p10 i p17.

Wykazano powinowactwo reowirusów do komórek nowotworowych. Sądzi się, że możliwe jest zastosowanie reowirusów w terapii nowotworowej medulloblastomy (MB), nowotworu trzustki, jelita grubego, jajnika i piersi. Niezbędne są jednak dalsze badania nad mechanizmami właściwościami onkolitycznymi tych wirusów.

Cztery rodzaje reowirusów – *Orthoreovirus*, *Coltivirus*, *Rotavirus* oraz *Orbivirus* powodują zakażenia u ludzi, z których większość przebiega bezobjawowo. Ludzkie rotawirusy powodują najczęściej zapalenia żołądka i jelit u dzieci od 6 do 24 miesięcy przez infekcję górnych odcinków przewodu pokarmowego.

Świnie zakażane są przez reowirusy typu 1 i 3 oraz rotawirusy i orbivirusy. Infekcja przebiega głównie drogą pokarmową i wziewną. Zakażenia przebiegają głównie bezobjawowo lub łagodnie z krótkotrwałą gorączką i biegunką.

Orthoreowirusy powodują zakażenia u ptaków. Najczęściej zakażenia reowirusami występują u kur objawiając się zapaleniem stawów, osierdza, mięśnia sercowego, jelit i wątroby. Powodują atrofię bursy Fabrycjusza i grasicę. Wywołują syndrom złego wchła-

niania, reowirozę kurcząt i wirusowe zapalenie stawów i pochewek ścięgowych.

Diagnostyka zakażeń reowirusami oparta jest zazwyczaj na izolacji wirusa, stwierdzeniu obecności wirusa metodami immunofluorescencji, stwierdzeniu obecności przeciwciał testem immunoenzymatycznym ELISA. Ponadto stosuje się reakcje łańcuchowej amplifikacji (RT-PCR).

Jedynym skutecznym sposobem walki z reowirusami jest immunoprofilaktyka oraz wdrożenie i przestrzeganie zasad bioasekuracji, dezynfekcja sprzętu i pomieszczeń.

Piśmiennictwo

1. Becker M.M., Peters T.R., Dermody T.S.: Reovirus σ NS and μ NS Proteins Form Cytoplasmic Inclusion Structures in the Absence of Viral Infection. *J. Virol.* **77**, 5948–5963 (2003)
2. Becker Y., Hadar J.: Molecular Virology: Molecular and Medical Aspects of Disease-causing Viruses in Man and Animals, Springer-Verlag, Heidelberg, 1983, s. 139–144
3. Benavente J., Martinez-Costas J.: Avian reovirus: Structure and biology. *Virus Res.* **123**, 105–119 (2007)
4. Błażejska P., Goździcka-Józefiak A.: Wirusowa terapia przeciwnowotworowa. *Współ. Onkol.* **9**, 279–283 (2005)
5. Bodelon G., Labrada L., Martinez-Costas J., Benavente J.: The avian reovirus genome segment S1 is a functionally tricistronic gene that expresses one structural and two non-structural proteins in infected cells. *Virol.* **290**, 181–191 (2001)
6. Brentano L., Noah D.L., Brown E. G., Sherry B.: The Reovirus Protein μ 2, Encoded by the M1 Gene, Is an RNA-Binding Protein. *J. Virol.* **72**, 1998 8354–8357 (1998)
7. Bruhn S., Bruckner L., Ottiger H. P. Application of RT-PCR for the detection of avian reovirus contamination in avian viral vaccines. *J. Virol. Methods*, **123**, 179–186 (2005)
8. Chua K.B., Wang L.-F. i wsp.: A previously unknown reovirus of bat origin is associated with an acute respiratory disease in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 11424–11429 (2007)
9. Costas C., Martı́nez-Costas J., Bodelon G., Benavente J.: The second open reading frame of the avian reovirus S1 gene encodes a transcriptiondependent and CRM1-independent nucleocytoplasmic shuttling protein. *J. Virol.* **79**, 2141–2150 (2005)
10. Czekaj H., Samorek-Salamonowicz E., Kozdrun W.: Charakterystyka szczepu reowirusa wyizolowanego z przypadku reowirozy brojlerów. *Med. Wet.* **58**, (2002)
11. Dawe S., Boutilier J., Duncan R.: Identification and Characterization of a Baboon Reovirus-Specific Nonstructural Protein Encoded by the Bicistronic S4 Genome Segment. *Virol.* **304**, 44–52 (2002)
12. Day M.J., Pantin-Jackwood M.J., Spackman E.: Sequence and phylogenetic analysis of the S1 genome segment of turkey-origin reoviruses. *Virus Genes.* **35**, 235–242 (2007)
13. Dryden K.A., Wang G., Yeager M., Nibert M.L., Coombs M.K., Furlong D.B., Fields B.N., Baker T.S.: Early Steps in Reovirus infection are associated with dramatic changes in supramolecular structure and protein conformation: analysis of virions and subviral particles by cryoelectron microscopy and image reconstruction. *J. Cell. Biol.* **122**, 1023–1041 (1993)

14. Duncan R., Corcoran J., Shou J., Stoltz D.: Reptilian reovirus: a new fusogenic *Orthoreovirus* species. *Virology* **319**, 131–140 (2004)
15. Etoh T., Himeno Y., Matsumoto T., Aramaki M., Kawano K., Nishizono A., Kitano S.: Oncolytic viral therapy for human pancreatic cancer cells by reovirus. *Clin. Cancer Res.* **9**, 1218–1223 (2003)
16. Forrest J.C., Dermody T.S.: Reovirus Receptors and Pathogenesis. *J. Virol.* **77**, 9109–9115 (2003)
17. Gonzalez-Lopez C., Martínez-Costas J., Esteban M., Benavente J.: 2003. Evidence that avian reovirus σ A protein is an inhibitor of the double-stranded RNA-dependent protein kinase. *J. Gen. Virol.* **84**, 1629–1639 (2003)
18. Guo Z.Y., Giambone J., Dormitorio A.T.V., Wu H.: Influence of a reovirus-antibody complex vaccine on efficacy of Marek's disease vaccine administered in ovo. *Avian Dis.* **47**, 1362–1367 (2003)
19. Guy J.S.: Virus Infections of the Gastrointestinal Tract of Poultry. *Poultry Sci.* **77**, 1166–1175 (1998)
20. Hermo-Parrado X.L., Guardado-Calvo P., Llamas-Saiz A.L., Fox G., Vazquez-Iglesias C., Martínez-Costas J., Benavente J., Raaij M.J.: Crystallization of the avian reovirus double-stranded RNA-binding and core protein sigmaA. *Acta Cryst.* **F63**, 426–429 (2007)
21. Hsu C.J., Wang C.Y., Lee L.H., Shih W.L., Chang C.I., Cheng H.L., Chulu J.L., Ji W.T., Liu H.J.: Development and characterization of monoclonal antibodies against avian reovirus σ C protein and their application in detection of avian reovirus isolates. *Avian Pathol.* **35**, 320–326 (2006)
22. Hsu H.W., Su H.Y., Huang P.H. Sequence and phylogenetic Analysis of P10- and P17-Encoding Genes of Avian Reovirus. *Avian Dis.* **49**, 36–42 (2005)
23. Kapikian A.Z.: Viral Infections of the Gastrointestinal Tract. *Informa Health Care*, 1994, s. 90–250
24. Kim M., Chung Y.H., Johnston R.N.: Reovirus and tumor oncolysis. *J. Microbiol.* **45**, 187–92 (2007)
25. Kozdrun W., Samorek-Salamonowicz E., Czekaj H.: Rola reowirusów w aviopatologii. *Medycyna Wet.* **62**, 974–976 (2006)
26. Liu H.J., Chen J.H., Liao M.H., Lin M.Y., Chang G.N.: Identification of the σ C encoded gene of avian reovirus by nested PCR and restriction endonuclease analysis. *J. Virol. Meth.* **81**, 83–90 (1999)
27. Liu H.J., Lee L.H., Hsu H.W., Kuo L.C., Liao M.H.: Molecular evolution of avian reovirus: evidence for genetic diversity and reassortment of the S-class genome segments and multiple cocirculating lineages. *Virology* **314**, 336–349 (2003)
28. Liu H.-J., Lin P.-Y., Lee J.-W., Hsu H.-Y., Shih W.-L.: Retardation of cell growth by avian reovirus p17 through the activation of p53 pathway. *Bioch. Biophys. Res. Comm.* **336**, 709–715 (2005)
29. Maginnis M.S., Forrest C., Kopecky-Bromberg S.A., Dickerson K., Santoro S.A., Zutter M.M., Nemerow G.R., Bergelson J.M., Dermody T.S.: Beta1 Integrin Mediates Internalization of Mammalian Reovirus. *J. Virol.* **80**, 2760–2770 (2006)
30. Martínez-Costas J., Grande A., Varela R., García-Martínez C., J. Benavente.: Protein architecture of avian reovirus S1133 and identification of the cell attachment protein. *J. Virol.* **71**, 59–64 (1997)
31. Mazurkiewicz M.: Choroby drobiu. Wrocław, 2005, s. 402–407
32. McNulty M.S.: Reovirus. Virus infections of birds. Ed. McFerreran, McNulty. Elsevier Sci. Publ. B.V. 1993 s. 181–195
33. Miller C.L., Broering T.J., Parker J.S.L., Arnold M.M., Nibert M.L.: Reovirus σ NS Protein Localizes to Inclusions through an Association Requiring the σ NS Amino Terminus. *J. Virol.* **77**, 4566–4576 (2003)
34. Minta Z., Bugajak P., Daniel A., Mazurkiewicz M., Wieliczko A., Gaweł A., Bartczak R., Kozaczyński W., Wierciński J.: Przypadki reowirusy u kurcząt brojlerów w Polsce. *Mat. Konf. Nauk. „Rola reowirusów w patologii ptaków”*, Wrocław, 1998, s. 35–36
35. Norman K.L., Hirasawa K., An-Dao Yang, Shields M.A., Lee. Reovirus P.W.K.: The Ras_RalGEF_p38 pathway dictates host cell permissiveness to reovirus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **27**; 101(30): 11099–11104 (2004)
36. Patton J.T. Segmented Double-stranded RNA Viruses: Structure and Molecular Biology. Caister Academic Press, Norfolk, 2008, s. 3–25
37. Robertson M.D., Wilcox G.E.: Avian reovirus. *Vet. Bull.* **56**, 155–174 (1986)
38. Samorek-Salamonowicz E., Czekaj H., Kozdrun W.: Reowirusy jako czynniki wklajające inne zakażenia wirusowe u ptaków. *Konf. Nauk. „Rola reowirusów w patologii ptaków”*, Wrocław, 1998, s. 17–22
39. Shmulevitz M., Salsman J., Duncan R.: Palmytoylation, membrane-proximal basic residues, and transmembrane glycine residues in the reovirus p10 protein are essential for syncytium formation. *J. Virol.* **77**, 9769–9779 (2003)
40. Shmulevitz M., Yameen Z., Dawe S., Shou J., O'Hara D., Holmes I., Duncan R.: Sequential Partially Overlapping Gene Arrangement in the Tricistronic S1 Genome Segments of Avian Reovirus and Nelson Bay Reovirus: Implications for Translation Initiation *J. Virol.* **76**, 609–618 (2002)
41. Spandidos D.A., Graham A.F.: Physical and chemical characterization of an avian reovirus. *J. Virol.* **19**, 968–976 (1976)
42. Straw B.E., Zimmerman J.J., D'Allaire S., Taylor D.J.: Diseases of Swine. Blackwell Publishing, 2006, s. 447–448
43. Tamehiro C.Y., Fernandez-Alfieri A., Medici K.C., Alfieri A.A.: Segmented Double-stranded genomic RNA viruses in fecal samples from broiler chicken. *Braz. J. Microbiol.* **34**, 349–353 (2003)
44. Touris-Otero F., Martínez-Costas J., Vakharia V.N., Benavente J.: Characterization of the nucleic acid-binding activity of the avian reovirus non-structural protein σ NS. *J. Gen. Virol.* **86**, 1159–1169 (2005)
45. Wen L.S., Hsiao W.H., Ming H.L., Long H.L., Hung J.L.: Avian reovirus σ C protein induces apoptosis in cultured cells. *Virology* **321**, 65–74 (2004)
46. Yin H.S., Lee L.H.: Identification and characterization of RNA-binding activities of avian reovirus non-structural protein σ NS. *J. Gen. Virol.* **79**, 1411–1413 (1998)
47. Zhang L., Chandran K., Nibert M.L., Harrison S.C.: Reovirus μ 1 Structural Rearrangements That Mediate Membrane Penetration. *J. Virol.* **80**, 12367–12376 (2006)
48. Zhang X., Tang J., Walker S.B.: Structure of Avian Orthoreovirus Virion by Electron Cryomicroscopy and Image Reconstruction. *Virology* **343**, 25–35 (2005)
49. Zhang Y., Guo D., Geng H., Liu M., Hu Q., Wang J., Tong G., Kong X., Liu N., Liu C.: Characterization of M-class genome segments of muscovy duck reovirus S14. *Virus Res.* **125**, 42–53 (2007)
50. Zhang Y., Liu M., Qu L., Xiang W., Guo D., Yuan X., Ge M., Zhang C.: Sequence and phylogenetic analysis of the S-class genome segments of a duck orthoreovirus. *Acta Virol.* **51**, 239–247 (2007)