

# 马铃薯 A 病毒(PVA)运动相关蛋白质的研究进展

吴兴泉, 陈士华 (河南工业大学, 河南郑州 450052)

**摘要** 综述了马铃薯 A 病毒(PVA)运动相关蛋白的结构、功能方面的研究进展。

**关键词** 马铃薯 A 病毒(PVA); 运动相关蛋白; 结构与功能

**中图分类号** Q945 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)08-02244-02

Research Progress of PVA Motion Related Proteins

WU Xing-quan et al (College of Bioengineering, Henan University of Technology, Zhengzhou, Henan 450052)

**Abstract** Potato virus A(PVA) could be spread by aphid and the juice of diseased potato. This virus could infect the potato systematically. The coat protein, helper component-proteinase, cylindrical inclusion protein and viral genome-linked protein all took part in the motion of the virus. Structures and functions of these motion related proteins were reviewed in this paper.

**Key words** Potato virus A; Motion related proteins; Structure and function

马铃薯 A 病毒(potato virus A, PVA)是马铃薯 Y 病毒组成员,在世界各马铃薯种植区均有广泛分布,严重危害马铃薯生产。马铃薯 Y 病毒组成员没有专门的运动蛋白,而是使用几种多功能的蛋白质来执行病毒的运动功能。这些蛋白又称运动相关蛋白(MRPs),包括 CP(coat protein), HC-Pro(helper component-proteinase), CI-P(cylindrical inclusion protein)和 VPg(viral genome-linked protein)。目前,国外关于 PVA 运动相关蛋白的研究较多,而我国关于 PVA 运动相关蛋白的研究报道极少。为此,笔者对 PVA 运动相关蛋白质进行了综述,旨在为开展相关研究工作提供理论基础。

## 1 外壳蛋白(CP)

**1.1 结构特征** PVA CP 含有 269 个氨基酸,其氨基酸序列与其他马铃薯 Y 病毒组成员的 CP 氨基酸序列同源性为 73%~78%,蛋白中心区在 PVA 不同分离物间高度保守,同源性在 96.6%~99.6%,主要变异区出现在 N-末端。依据 CP N 端变异区(32 个氨基酸残基)可将 PVA 不同分离物分成两个亚组,研究表明该区域中的一个三肽 DAG/DAS 与病毒的蚜虫传播相关。

PVA CP 的二级结构主要由  $\alpha$  螺旋和  $\beta$  结构组成。Ludmila A 研究发现 PVA CP 的 N 端 15 个氨基酸和 1 个由 27~50 个氨基酸组成的区域易接收氘原子,预测其 4 级空间结构为:N 端由 8 个氨基酸组成的无结构区暴露于表面,C 端区包括 2 个  $\alpha$  螺旋和 3 个  $\beta$ -链,形成两层结构,中心区包括由 4 个  $\alpha$  螺旋组成的束状结构,与 TMV CP 相似。

**1.2 功能** PVA CP 是个多功能蛋白,在植物病毒的整个生活史的各个阶段均可发挥作用,包括病毒粒体的组装,病毒的复制,运动,载体转化和调节寄主抗病性等。Rakitina DV 研究表明,重组 PVA CP 依赖于  $Mg^{2+}$  的 ATPase 和 UTPase 活性,当删除 C 端后,CP 失去这一活性,因此推测该酶的活性中心位于 C 端。

大量研究表明,运动蛋白的磷酸化可调节运动蛋白的功能。Konstantin I 等证明在 PVA 侵染的烟草叶片中 PVA CP 可在体内被磷酸化。体外试验表明催化该反应的是

CK2  $\alpha$  蛋白激酶,其  $\alpha$  催化亚基已从烟草中得到纯化,蛋白基因也已被克隆并在大肠杆菌中得到表达。目前,CK2  $\alpha$  对 PVA CP 的磷酸化位点已被确定,定点诱变该位点,可使诱变病毒失去在烟草中的运动功能,说明 PVA CP 被 CK2  $\alpha$  的磷酸化在病毒侵染中起重要调节作用。

Andrejeva 研究表明,同时诱变 CP 和 HC-Pro 可延缓病毒在烟草中的系统传播,限制了病毒在马铃薯中的细胞间运动。2 个基因同时变异后引起的表型变化与这两个基因分别变异后引起的表型变化之和不同,说明 HC-Pro 和 CP 在病毒的积累和运动中具有同等的作用。另外,PVA 可与 PVX 共同侵染,两者在运动功能方面表现出互惠关系。将 PVX CP 运动功能缺失突变株接种转化到 PVA CP 基因的马铃薯上时,PVX 的细胞间运动可得到恢复,表明 PVA CP 介导了 PVX CP 突变株的胞间运动,由此可见,PVA CP 在病毒细胞间运动中发挥功能不是一种简单的被动的作用。

## 2 HC-Pro 蛋白

蚜虫传播 PVA 依赖于一个辅助蛋白 HC-Pro,HC-Pro 是多功能蛋白,其作用包括:促进病毒粒体与蚜虫上额刺针结合,参与病毒的蚜虫传播,催化自身 C 端与多聚蛋白裂解, RNA 结合,基因复制及症状表现,病毒在植物体内运动等。

前人曾推测 HC-Pro 与 CP 的互作在蚜虫传播中起作用,Guo 等采用酵母双杂交系统未发现 HC-Pro 与 CP 之间存在互作关系,却发现 HC-Pro 可自身发生互作,形成同型二聚体,并证明其 N 端 24 个氨基酸和 C 端蛋白酶部分在 HC-Pro 自身互作中起了重要作用。说明 HC-Pro 和 CP 在病毒的积累和运动中的作用是彼此单独进行的。

有研究表明,PLRV 与 PVA 共同侵染或 PLRV 侵染转 PVA HC-Pro 基因的白肋烟时,其侵染力可被明显增强,证明 PVA HC-Pro 参与了病毒的维管束运动,并可抑制植物对病毒的抗性。这种抑制作用可能与 RNAi 有关, RNAi 是双链 RNA 介导的基因干扰现象,在植物体内, RNAi 主要指转录后的基因沉默。病毒可以编码一种基因沉默抑制剂来抵御寄主的这种防御机制,近来研究发现 PVA 病毒的 HC-P 就是这样一种基因沉默抑制剂。

## 3 病毒基因组结合蛋白(VPg)

VPg 是由 NiaPro 蛋白酶从 Nia 的 N 端水解下来的,VPg 功能较多,可以通过与 RNA 聚合酶互作而作为病毒 RNA

**基金项目** 河南省教育厅自然科学基金研究项目(2006210003);河南工业大学校基金项目。

**作者简介** 吴兴泉(1970-),男,黑龙江克山人,博士,副教授,从事植物病理学与分子生物学研究。

**收稿日期** 2006-12-06

复制酶的引物参与病毒复制,也可参与病毒的细胞间运动和长距离系统侵染,因此在病毒侵染循环中发挥着重要作用。

**3.1 VPg 在病毒运动中的功能** 作为运动蛋白的一种,VPg 可以被烟草细胞内的蛋白激酶磷酸化,具有扩大叶肉细胞间胞间连丝的作用。VPg 也参与了病毒的系统侵染,利用免疫组织化学方法和 RNA 杂交法研究了病毒的 5 种蛋白和病毒 RNA 在侵染位点叶脉中的分布,发现病毒 CP、CI、HC-Pro 和病毒 RNA 均分布在薄壁组织和叶肉细胞中,在伴胞(CC)中没有分布。但在病毒卸载的早期阶段,伴胞中可检测到 VPg 的存在,而且,在侵染点外的一些叶脉中也可检测到 VPg,却没有其他病毒蛋白及 RNA。说明在病毒系统侵染的早期,VPg 便可在 CC 中积累并发挥作用,它可能是“韧皮部蛋白”,参与病毒的卸载。

VPg 蛋白在不同植物中还表现出一种抗病基因的毒力因子作用。Rajamaki M L 发现 *Nicotiana glauca* 对 PVA-M 具有抗病性,PVA-M 只能产生局部侵染,当定点诱变 Val116Met 时可完全克服寄主的抗性而恢复系统侵染能力。这一结果说明 VPg 是 *N. glauca* 对 PVA-M 的抗病性的决定因子,同时也表明它们对病毒在维管束中的传播起调控作用。VPg 暴露在病毒粒体的末端,可以参与蛋白-蛋白间的互作,Dunoyer P 在寄主体内鉴定到马铃薯 Y 病毒组病毒 VPg 互作蛋白(PVIP),该蛋白可与 VPg 发生互作,互作位点为 VPg 的 N 端前 16 个氨基酸,尤其是第 12 个氨基酸,诱变该氨基酸后会影响到病毒的系统侵染,而不会影响病毒的复制。采用 RNAi 技术降低 PVIP 基因表达可降低寄主对病毒的感病性,说明该蛋白是天然的利于病毒系统传播的蛋白。

**3.2 VPg 在病毒复制中的作用** PVA 基因组 RNA 没有帽子结构,因此翻译的起始例如 eIF4E 的结合等不能按常规的方式进行,而是采用与 VPg 互作而结合在病毒 RNA 上的方式,病毒在侵染中与植物竞争这些翻译因子是抑制寄主基因表达的一种机制。VPg 可被病毒 RNA 聚合酶(Nib)核苷酸化,这种作用不需要 RNA 模板,并对 UTP 有一定倾向性,说明 VPg 可作引物起始病毒 RNA 的复制。除了与病毒 RNA 共价结合外,VPg 或它的前体蛋白 Nia 均表现出细胞

内定位于核上的现象,这种现象与 VPg 功能的关系尚不清楚。

#### 4 圆柱状内含体蛋白(CI)

CI 是 RNA 解螺旋酶和 NTP 酶。CI 和 6K2 蛋白参与了病毒通过胞间连丝在细胞间的运动或病毒 RNA 在细胞内的重新分布。在植物病组织的前沿,CI 蛋白与胞间连丝出现短暂的联合。在两个 PVA 突变株中,CI 与 6K2 间水解位点被修饰后可以在原生质中复制,也可在被侵染的植物中被削弱,这表明 CI 在 PVA 的胞内及胞间运动中具有重要的生物作用。

#### 5 讨论

近年的研究结果证实病毒与寄主的互作确实存在,相关的一些蛋白也被鉴定出来。例如 PVA CP 蛋白和 VPg 蛋白均可被寄主细胞内的蛋白激酶磷酸化,而且这种作用对病毒的运动具有重要意义。HC-Pro 可作为一种基因沉默抑制剂抵抗寄主抗病基因,在寄主细胞中存在 PVIP 蛋白,它可与 VPg 发生互作而利于病毒系统传播的蛋白。这些互作关系对病毒的运动和传播具有重要意义,可以预见,通过对病毒-寄主互作相关基因的遗传改造有可能会选育出高抗病性的马铃薯品种,但目前关于病毒与寄主互作中互作蛋白的研究还处在起步阶段。

#### 参考文献

- [1] 丁铭,方琦,张丽珍. 马铃薯 A 病毒云南分离物外壳蛋白基因的克隆与序列分析[J]. 云南农业科技, 2003(S):106-109.
- [2] 程晔,陈炯,陈剑平. 杭州郊区马铃薯 A 病毒分离物的基因组 3'-末端序列测定及系统进化分析[J]. 浙江农业学报, 2002(2): 11-15.
- [3] 吴兴泉,陈士华,吴祖建,等. 马铃薯 A 病毒 CP 基因的克隆与序列分析[J]. 植物保护, 2003(5):391-393.
- [4] 于凤丽. 马铃薯 A 病毒外壳蛋白(PVA CP)基因的遗传转化研究[D]. 沈阳:东北农业大学, 2005.
- [5] 吴兴泉,谭晓荣,陈士华. 马铃薯 A 病毒复制相关蛋白研究进展[J]. 中国马铃薯, 2006(4): 231-234.
- [6] 侯喜林,史公军. “十五”期间我国蔬菜分子育种研究进展[J]. 中国蔬菜, 2005(9): 34-40.
- [7] 雷建军,陈国菊,曹必好,等. 蔬菜基因工程研究进展[C]. 蔬菜分子育种研讨会论文集, 2004.
- [8] 崔连民,张福进,朱常香,等. 黄瓜花叶病毒山东分离物外壳蛋白基因的克隆及序列分析[J]. 山东农业科学, 2005(4): 3-6.
- [9] 黄剑南,林鑫,翁少萍,何建国. 赤点石斑鱼神经坏死病毒外壳蛋白全基因克隆与序列分析[J]. 水产学报, 2005(3): 429-432.