RNA 病毒基因组和转录复制多样性的分子基础

刘青珍 李凌云 齐义鹏* 杨复华

(武汉大学病毒研究所, 武汉 430072)

摘要 :自然界中 RNA 病毒的种类和数量比 DNA 病毒多得多。根据基因组类型, RNA 病毒可分为多种类型。许多研究者认为:存在于古细菌 *Myxobacteria* 中、仅仅有一个逆转录酶基因的反转座子(Retron)可能是所有病毒的祖先。进化的模式如下:反转座子→反座子→反转录转座子→反转录病毒→副反转录病毒→DNA 病毒。RNA 病毒转录/复制在很多特征上与 DNA 病毒迥然不同。依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶是 RNA 病毒转录/复制的主要催化剂。RNA 病毒基因组转录和复制都从 3'端 poly(A)或类 tRNA 结构或其他结构起始, 内部终止是转录, 通读到 5'末端终止是复制。RNA 病毒的模板有正链病毒 RNA 模板、负链病毒 RNA 模板和全长正负链反基因组 RNA 模板。RNA 模板的选择调控机制非常复杂, 目前知之甚少。选择模板、RNA 聚合酶与转录因子结合形成复制体是两种主要的调控方法。另外, 5'UTR 和 3'UTR 也可以调控 RNA 病毒的转录。

关键词 :RNA 病毒, 复制, 转录, 多样性

中图分类号: Q939.4, Q753, Q522+.4

文献标识码: B

文章编号: 1005-0094(2001)03-0294-07

Molecular mechanism for transcription and replication of RNA virus

LIU Qing-Zhen, LI Ling-Yun, QI Yi-Peng*, YANG Fu-Hua

Institute of Virology, Wuhan University, Wuhan 430072

Abstract : RNA viruses are much more than DNA viruses in quantity and species in nature. It can be divided into many types of viruses according to genomic type. Recently, many researchers indicate that the retron existing in *Myxobacteria*, which carries only one reverse transcriptase gene, is the possible ancestor for all kinds of viruses, with the following evolution model: Retron→Retroposon→Retransposon→Retrovirus→Pararetrovirus→DNA viruses.

It is very different between transcription/replication of RNA virus and DNA virus genomes in many aspects. RNA-dependent RNA polymerase is the major catalyst for transcription/replication. Initiation sites for RNA virus transcription/replication are specific structures [poly(A) or tRNA] at 3' terminal region. Internal stop results in transcription but reading through to 5' end resulting in replication. RNA viruses use the following four kinds of templates in transcription/replication: (+) ssRNA template, (-) ssRNA template, (+) aRNA template, (-) aRNA template.

The mechanism of selective regulation on RNA templates is very complex and the acknowledgements of the regulation mechanism are quite few up to now. Selecting template and the binding of transcription factors with RNA pol to form replicon are two major regulatory means. Besides promoter and transcription factors, 5'UTR and 3'UTR also regulate the transcription of RNA viruses.

Key words : RNA virus, replication, transcription, diversity

混沌初开,地球上是一片 RNA 世界, Walter Kelle(1999)在 *Science* 上介绍“ The RNA World ”一书(第二版)时,以“ In the Beginning, There Was

RNA ”为题阐明了这一观点:原始生命形态是从 RNA 开始的。在 RNA 作为生命起源的进化历程中, RNA 病毒起了不可替代的作用。类病毒(vir-

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39970032)
收稿日期:2000-09-11;修改稿收到日期:2001-01-15
作者简介:刘青珍,女,1965年出生。博士生,从事分子病毒学研究。
* 通讯作者 Author for correspondence: 齐义鹏. E-mail 地址: mvlwu@whu.edu.cn

oid)是一个不含蛋白质和 DNA 的裸露的 RNA 分子,作为一种原始生命形态,它是大自然保留至今的 RNA 是生命起源的证据之一。自然界中 RNA 病毒的种类和数量堪称病毒之冠,其基因组及转录复制的多样性可谓病毒之首,人类、动物和植物的许多严重疾病是由 RNA 病毒引起的,如人的流感、甲肝、丙肝、爱滋病、麻疹、出血热、脑炎、脊灰、某些肿瘤;动物的口蹄疫、猪瘟、鸡瘟,大多植物病毒性病害等等。RNA 病毒不仅严重威胁人类健康,也给工农业生产带来巨大损失,因此加强 RNA 病毒研究不仅是开启生命起源神秘大门的钥匙,也是保护人类健康,促进农业生产和生物多样性研究与保护的重要途径。然而,在病毒学研究领域人们过多地聚焦在 DNA 病毒上,而忽视了一大群有几亿年历史的与人类密切相关的 RNA 病毒(Liu et al., 2000)。

RNA 病毒研究目前主要集中在病毒生物学、临床病理、预防治疗、基因组的结构和基础分子生物学方面,对基因组转录复制的多样性和分子机制研究显得十分薄弱,本文仅就目前这方面的有限进展作一些简单的评介。

1 RNA 病毒基因组的多样性和起源

根据基因组类型,病毒可分为 DNA 病毒和 RNA 病毒两大类,DNA 病毒基因组多数为 dsDNA,有线状和环状两种,而 RNA 病毒基因组则比较复杂(Bercoff, 1987; 杨复华, 1992),它包括:

1) 单股正链 RNA 病毒[(+)ssRNA]:这是 RNA 病毒的主要类群,其基因组具有编码蛋白质的能力,能作为 mRNA 翻译,也能作为模板进行复制。它包括某些噬菌体、杯状病毒(Calicivirus)、细小 RNA 病毒(Picornavirus)、披盖病毒(Togavirus)、黄病毒(Flavivirus)、冠状病毒(Coronavirus)、诺达病毒(Nodavirus)以及许多植物病毒。

2) 单股负链 RNA 病毒[(-)ssRNA]:这是 RNA 病毒的另一大类群,其基因组不具编码蛋白质的能力,不能直接作为 mRNA 进行翻译,仅能作为复制的模板,产生 mRNA 和反基因组 RNA。它包括:副粘病毒(Paramyxovirus)、正粘病毒(Orthomyxovirus)、弹状病毒(Rhabdovirus)、布尼亚病毒(Bunyavirus)和沙粒病毒(Arenavirus)。这类病毒以感染动物为主,只有少数能引起植物病害。

3) 双链 RNA 病毒(dsRNA) 这类病毒不多,有

呼肠孤病毒(Reovirus)、双 RNA 病毒(Cystovirus)以及 Hypovirus、Totivirus、Birnavirus 和 Partitivirus 等,其基因组由(+) / (-)链 RNA 组成,包括 10 ~ 12 个 dsRNA 片段。(+)链有编码能力,(-)链都有复制产生互补链的功能。

4) 逆转录 RNA 病毒[(+)ssRNA]:这是一类仅感染人和动物的十分重要的 RNA 病毒,其基因组由(+)ssRNA 组成,并以 dimer 形式包被在病毒颗粒中。其基因组的重要特点是有一逆转录酶基因(pol),在感染早期(+)ssRNA 翻译出少量 POL,并将基因组 RNA 逆转录成 dsDNA。这种 dsDNA 可以整合到宿主染色体 DNA 中作为前病毒,随着宿主 DNA 的复制而复制,也可被激活转录成为 mRNA 而表达。它包括逆转录病毒(Retrovirus)、肿瘤病毒(Oncovirus)、人免疫缺陷病毒(HIV)和泡沫病毒(Spumavirus)。

5) 多分体 RNA 病毒[(+)ssRNA]:RNA 病毒基因组有单一片段 RNA 分子和多个片段 RNA 分子两类,人和动物的 RNA 病毒以单片段居多,而植物的 RNA 病毒基因组除单片段 RNA(如 TMV)外还有多个片段 RNA 分子组成。如具有二分体的烟草环斑病毒(TRSV)、烟草脆裂病毒(TRV);具有三分体的黄瓜花叶病毒(CMV)、雀麦花叶病毒(BMV)等。

6) 类病毒(Viroid, 环状 ssRNA):这类病毒非常特殊,它不具包膜和衣壳,仅为裸露的小的环状 ssRNA 分子,大小为 300 nt 左右,仅能感染植物引起病害。

7) 卫星 RNA(Satellite RNA):这是一类不能独立复制的小分子 ssRNA 片段,它被包埋在宿主病毒的壳体中,利用宿主病毒的复制系统完成自己的复制,相当于宿主病毒的寄生物。它影响宿主病毒的侵染,但不能独立引起植物病害。拟病毒(Virosoid)的结构与类病毒相似,但其生物学特性基本上与卫星 RNA 相同,因此归入植物病毒的卫星 RNA 一类。

以上介绍清楚地说明 RNA 病毒基因组的多样性是十分丰富多彩的,远非 DNA 病毒基因组可比。多种类型的 RNA 病毒是如何发展起来的呢?上溯到 10 亿年前人们找到了 RNA 病毒起源的蛛丝马迹。据报道(Lanpson et al., 1991; Yechiel, 1996),古细菌 myxobacteria 中存在一种原始的反转子(Retron),通过转录和逆转录合成了既有 RNA 又有 DNA 的过渡型复合物 msDNA,这些 Retron 只有一个逆转

录酶基因。当它从古细菌基因库中捕获 *gag* 和 *int* 基因后成为反座子(Retroposon)。有了 *int* 基因就具有了基本的整合功能。反座子进一步捕获 LTR 而成为反转录转座子(Retrotransposon)。最后的进化步骤是捕获 *env* 基因而诞生了有包膜的反转录病毒(齐义鹏等 ,1997)。再后来 ,原始病毒采取了不同的复制自己的策略 ,于是才有今天各种各样的 RNA 病毒 ,呈现出复杂的多样性。副反转录病毒(Pararetrovirus)是唯一具有逆转录酶基因的 DNA 病毒 ,它为 RNA 病毒作为 DNA 病毒的祖先提供了证据。根据病毒 RNA 聚合酶的序列和功能保守性(Baron & Barrett ,1995 ;Stec et al. ,1991) ,估计病毒的起源是沿着 Retron→反转录病毒→其他 RNA 病毒/或 DNA 病毒的路线进化的(齐义鹏等 ,1997 ; Stec et al. ,1991 ;Poch et al. ,1990)。

2 RNA 病毒转录/复制的多样性

RNA 病毒转录/复制的类型千姿百态 ,遗传内涵丰富多彩 ,它对生命起源的探索 ,对生命本质的揭示 ,对生命规律的认识 ,对生命多样性的保护意义重大 ,是以其他生物(包括 DNA 病毒)为对象所不能

代替的。

分子水平上病毒复制的严格定义是基因组 DNA 或 RNA 拷贝数的扩增。RNA 病毒的转录/复制是自然界中一种独特的生物学现象 ,其最大特点是没有解旋酶(个别 RNA 病毒 POL 中含有解旋酶的 motif) ,而解旋酶对 DNA 病毒复制则是不可缺少的。Poch et al. (1990)指出 ,依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶(POL)是 RNA 病毒转录/复制的主要催化剂。RNA 病毒基因组没有专一的复制起始点 ori ,其转录和复制都从 3'端 poly(A)或类 tRNA 结构或其他结构起始 ,内部终止是转录 ,通读到 5'末端终止是复制 ,因此 RNA 病毒的转录和复制基本上是一个生化反应或两个偶联的分子事件(Howley et al. ,1999 ;Chandrika et al. ,1995)。模板的多样性和选择性是 RNA 病毒转录/复制最重要的特点 ,它不像 DNA 病毒那样只用一种 dsDNA 模板 ,它有正链病毒 RNA 模板、负链病毒 RNA 模板和全长正负链反基因组 RNA 模板。RNA 病毒和大多数 DNA 病毒转录/复制的区别见表 1 (Liu et al. 2000)。

在众多 RNA 病毒的复制模式中 ,卫星 RNA 和类病毒的循环复制模式及其复制后的自我催化切割

表 1 RNA 病毒和 DNA 病毒转录/复制的特点
Table 1 Transcriptional and replicating characters of RNA virus and DNA virus

	RNA 病毒 RNA viruses	DNA 病毒 DNA viruses
转录/复制的关系 Relationship between tran- scription and replication	两个不可分割或偶联的分子事件 ,内部终止是转录 ,通读到末端是复制 Transcription is coupled with replication. Transcription is ter- minated in inside sites , and replication is stopped at the end	两个独立的分子事件 Transcription and replication are independent
聚合酶 Polymerase	转录和复制都用一种 RNA 依赖的 RNA 聚合酶 Only one kind of RNA dependent RNA polymerase is used in transcription and replication	DNA 为模板 ,转录用 RNA POL ;复制用 DNA POL DNA is template. RNA polymerase is used for tran- scription , DNA polymerase for replication
产物 Products	转录 :mRNA 复制 :+ / - aRNA ; + / - vRNA Transcription :mRNA Replication :+ / - aRNA ; + / - vRNA	转录 :mRNA * 复制 :dsDNA Transcription :mRNA * Replication :dsDNA
模板 Templates	4 种 :+ / - vRNA ; + / - aRNA + / - vRNA ; + / - aRNA	1 种 :dsDNA dsDNA
复制起始 Replication origins	从 3'端 Poly(A)和 tRNA 结构或其他结构起始 Initiate from 3' Poly(A) and tRNA structure or other structures	一般有多多个 ori ,仅选一个 ori 起始复制 Only one is selected for replication from many origins
其他酶 Other enzymes	无解旋酶和连接酶 Don 't need helicase and ligase	需要解旋酶、拓扑酶、连接酶 Need helicase , topoisomerase and ligase
复制形式 Replicating forms	一般线型复制 ,无岗崎片段 Linear replication , no Okazaki fragments	部分滚环复制 ,有岗崎片段 Partial rolling-circle replication , have Okazaki frag- ments
复制调控 Replicating regulation	主要是模板选择性调控和抗终止调控 The major is template selective regulation and anti-termination regulation	复制驱动单位的正负调控 Positive and negative regulation of replication units

* 有些 DNA 病毒不产生 m RNA 如 Geminivirus. Some kinds of DNA virus don 't transcribe into mRNA , such as Geminivirus.

功能,是目前 RNA 病毒研究的热点之一。卫星 RNA 如 HDV(Hepatitis Delta Virus)多为 ss(+) RNA ,通过循环复制模式产生环状基因组 RNA ,然后一种具有 RNA 酶活性的 RNA 分子(即 Ribozyme)顺式作用切割相邻的上游序列产生具有 5′ - OH 和 2′,3′ - 环磷酸末端的线状 RNA 作为复制中间体。Ribozyme(Rz)有很多种类,如锤头 Rz ,发夹 Rz ,HDVRz , VSRz 等,它们均以特异的序列和结构与底物结合并发挥作用。

3 RNA 病毒转录/复制在起始和延伸阶段的多样性

RNA 转录/复制除需要 RNA 聚合酶外,一般都需要与一种或几种蛋白因子装配成复制体(Replicon)这些因子可能是病毒编码的,如 Chandrika et al. (1995)发现仙台病毒 P 蛋白结合到 RNA POL 分子的 N 端 348 ~ 379aa 区成为 L-P 复制体,促进转录和复制。另一方面,也可能有宿主细胞因子参与复制体装配,Howley et al. (1999)报道,宿主细胞因子参与了雀麦花叶病毒(BMV)复制体组装;细胞维管素(tubulin)参与了麻疹病毒复制体的组装(Moyer et al. ,1990); Q β 噬菌体(+ ssRNA)的复制体由聚合酶、30s Ribosome S1 蛋白、延伸因子 EF-Tu/EF-Ts 和单链结合蛋白组成(Bercoff ,1987),而流感病毒(- ssRNA)的复制体含有 PB1 , PB2 和 AP 蛋白,其中 PB1 和 PB2 可能具有 RNA 聚合酶活性。

RNA 病毒基因组的 3′端结构的多样性保证了转录/复制的准确起始。如 Q β 噬菌体基因组 3′端有一个 RNA 样结构(3′-CCA-OH)。Litvak et al. (1994)报道, tRNA^{Lys3} 的 3′端与 HIV 的 3′端的引物结合区(PBS)结合并作为引物而起始基因组复制。Kohlstaedt et al. (1992)提出了一个引物 tRNA - 模板和 HIV-I 逆转录酶(RT)相互结合的模式。RT 是使 RNA 反转录到 dsDNA 的关键酶, HIV 的 RT 有 2 个亚基(p66 , p51)分别结合在 HIV - 1 RNA 的两个功能区,它的核糖核酸酶 H(RNaseH)活性部位结合在另一功能区; tRNA 的反密码环,二氢尿嘧啶环与 HIV 的 PBS 结合并与 RT 组成复合物,以 tRNA 为引物,从 3′端起始复制; HIV 基因组 p66 是 RNA POL 的结合区(图 1)。

Banejee 和 Barik(1992)进一步指出,几乎所有逆转录病毒都能利用不同的 tRNA 作为复制的引物

(表 2)。

图 1 HIV-1 的复制体和 tRNA 引物(引自 Litvak et al. , 1994)
Fig. 1 HIV-1 replisome and tRNA primers (Adopted from Litvak et al. ,1994)

表 2 各种逆转录病毒使用的 tRNA 引物
Table 2 tRNA primers used by various Retrovirus

反转录病毒 Retrovirus	tRNA 引物 tRNA primer
鸟肉瘤和白血病病毒(ASLV) Avian sarcoma leukosis virus(ASLV)	tRNA ^{Trp}
鸟成髓细胞性病毒(AMV) Avian myeloblastosis virus(AMV)	tRNA ^{Trp}
鼠白血病病毒(MLV) Murine leukemia virus(MLV)	tRNA ^{Pro}
脾坏死病毒(SNV) Spleen necrosis virus(SNV)	tRNA ^{Pro}
人 T-细胞白血病毒(I , II X HTLV) Human T-cell leukemia virus(I , II X HTLV)	tRNA ^{Pro}
牛白血病病毒(BLV) Bovine leukemia virus(BLV)	tRNA ^{Pro}
Mason-Pfizer 猴病毒(MPMV) Mason-Pfizer monkey virus(MPMV)	tRNA ^{Pro}
维斯纳病毒 Visna	tRNA ^{Lys1/2}
牛泡沫反转录病毒(HSRV) Spumose retrovirus(HSRV)	tRNA ^{Lys1/2}
人免疫缺陷病毒(HIV) Human immunodeficiency virus(HIV)	tRNA ^{Lys1/2}
鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV) Murine mammary tumor virus(MMTV)	tRNA ^{Lys1/2}
马传染性贫血病毒(EIAV) Equine infectious anaemia virus(EIAV)	tRNA ^{Lys3}
猫免疫缺陷病毒(FIV) Feline immunodeficiency virus(FIV)	tRNA ^{Lys3}
猴免疫缺陷病毒(SIV) Simian immunodeficiency virus(SIV)	tRNA ^{Lys3}

综上所述,宿主 tRNA 或病毒基因组 3′端的类 tRNA 结构是 RNA 病毒转录/复制的重要起始信号,它既有 DNA 病毒起始点 ori 的作用,也有引物的功

能,可见 tRNA 对 RNA 病毒的复制意义有一定的普遍性。

图2 流感病毒(-)vRNA 模板的转录/复制策略(引自 Bercoff , 1987)
Fig. 2 Transcriptional and replicating strategies of influenza virus vRNA template. (Adopted from Bercoff , 1987)

此外,基于 RNA 病毒基因组 3'端的多样性,也呈现出其他复制起始结构。细小 RNA 病毒(+ ssRNA)基因组 3'端具有 poly(A),宿主末端尿苷酶将 OligoU 加到 poly(A)上作为引物起始复制(Bercoff , 1987)。流感病毒的(-)vRNA 模板转录时产生有 5'帽子和比模板短的 3'poly(A) mRNA ,mRNA 翻译成病毒的特异性蛋白。另一方面 ,vRNA 模板也可复制出全长的反基因组(+)aRNA ,由于(+)aRNA 没有 5'帽子和 3'poly(A) ,因此不能用于翻译但可作为模板合成(-)vRNA(图2)。在 vRNA 模板 3'端有一 HO-UCG 序列 ,某种核酸酶从宿主 mRNA 切下 12 ~ 14 bp 的 5'帽子并终止在 A 残基 ,这个被“ 抢劫 ”来的帽子(帽子抢劫 Cap Snaatching)以其 A 残基与模板 3'端的 U 配对而作为优势引物。流感病毒复制体(PB1 , PB2 , PA 蛋白)中的 PB2 识别帽子 ,然后 RNA 聚合酶(可能包括 PA 和 PB1 蛋白)催化第一个 G 残基沿帽子引物 3'端的 A(与模板 C 配对)起始转录 ,沿模板延伸合成 mRNA ,在距模板 5'末端 17 ~ 22 nt 处终止并多聚腺苷化成为 3'poly(A)尾(Bercoff , 1987)(图3)。

RNA 病毒的转录本 mRNA 也有复杂的多样性 ,流感病毒转录产生单一的 mRNA ,有些 RNA 病毒转录时在基因组的多处终止 ,因而产生一组 mRNA ,如冠状病毒科的 MHV 有 6 个 mRNA ,IBV 产生 5 个 mRNA。

4 RNA 病毒模板选择和调控的多样性

虽然 RNA 病毒基因组转录/复制的研究取得了较大进展 ,但关于其转录/复制多样性的分子机制仍然知之甚少。以下就这方面的有关报道作一些简单介绍。在每一种 RNA 病毒的生命循环中都有两种不同的模板 ,即病毒基因组 RNA(vRNA)模板和全长的反基因组互补 RNA(aRNA)模板。这两种模板 ,各有 + / - 链之分 ,因此 RNA 病毒基因组的转录/复制共有 4 种模板。+ vRNA 模板可作为 mRNA 翻译 ,也可用于复制产生(-)aRNA (-)aRNA 再作为模板既可转录 mRNA 也可复制出子代(+)vRNA。负链 RNA 病毒的情形稍有不同 (-)vRNA 模板只能用于转录和复制 ,产生帽子化的 mRNA 和(+)aRNA (+)aRNA 作模板则只能用于转录产生子代(-)vRNA ,因为它没有 5'帽子 ,不能作为 mRNA 翻译。在这里 ,生物的多样性已经展现得淋漓尽致 ,并且是够复杂的了。更有甚者 ,同一模板既可转录也可复制 ,在转录和复制之间必定有准确的调控。遗憾的是这方面的知识还十分有限。

图3 流感病毒的复制体和转录复制模型(引自 Bercoff , 1987)
Fig. 3 Replisome of influenza virus and transcription/replication model (Bercoff , 1987)

1) 模板选择的时序调控(Gamanik & Andino , 1998) :甲病毒和冠状病毒对(+)/(-)模板的选择有时间依赖性 ,感染早期用(+)vRNA 为模板 ,主要进行复制产生(-)aRNA ,翻译是次要的。到感染晚期 ,(-)aRNA 已有足够的积累 ,因为从(+)vRNA 到(-)aRNA 的复制被关闭 ,此时病毒以

(-) aRNA 为模板同时进行转录和复制,但优先使用模板进行复制,合成子代(+)vRNA 并包装成为子代病毒粒子,它不能再作为(-)aRNA 的模板。负链 RNA 病毒也有同样的机制,因此 Bercoff (1987)指出, RNA 病毒一般优先使用全长的 aRNA 模板复制 vRNA,意味着 RNA 病毒在转录/复制的平衡中倾向于复制,目的是产生子代病毒颗粒,完成生命循环。

2) 模板选择的蛋白因子调控:RNA 病毒感染早期必须转录并翻译或直接翻译出 RNA 聚合酶和几种调控蛋白。这些蛋白的积累促进了以后的复制事件。Banejee & Barik (1992)指出,水泡性口膜炎病毒(VSV)感染早期合成的 N 蛋白(核衣壳蛋白)和麻疹病毒的 N 蛋白(Chandrika et al., 1995)在转录/复制的平衡中具有中心调控作用,它打开了转录到复制的开关而有利复制。N 蛋白主要作为抗终止子使 RNA POL 在复制到 Leader/N 基因的连接部位和顺反子的终止序列时不被终止,而继续延伸到模板 5' 末端完成复制。Chandrika et al. (1995a, 1995b)证明副粘病毒的(-)vRNA 模板复制出(+)aRNA 后,立即同 N 蛋白形成衣壳复合物 RNP (其中包括 L 和 P 蛋白),这种 RNP 作为优势模板主要用于复制。Kohlstaedt et al. (1992)报道, VSV 的转录/复制开关受细胞内游离的 N-P 蛋白(P 是 VSV 的磷蛋白)浓度控制。感染早期,没有 N-P 蛋白合成(-)vRNA 模板既可转录也可复制,转录本 mRNA 导致 N-P 浓度升高。当 N-P 蛋白结合到新生的(+)RNA5'端时,复制便能顺利完成,产生(+)aRNA,这种被 N-P 蛋白衣壳化的(+)aRNA 使 N-P 浓度再次降低,因此 N-P 蛋白浓度的高低是 VSV 的一种自我调控机制。N 蛋白和 P 蛋白具有同样的调控功能,麻疹病毒 N 蛋白(Horikami et al., 1995)和仙台病毒 P 蛋白可以互相取代(Chandrika et al., 1995b),而 Horikami et al. (1994)证明 MV 也编码了具有调控功能的 P 蛋白,它结合在 RNA POL 的 C 端 domain I 区,促进了转录和复制。

VSV 的 N 蛋白或 P 蛋白同模板或新生 RNA5'端结合的机制现在还不清楚。但最近的研究表明,人脊髓灰质炎病毒(HPV, + ssRNA) RNA5'端有一段调控转录和复制的 cis 结构,当它与病毒蛋白因子 3CD 结合后便开启了转录到复制的开关。Laughrea et al. (1999)指出 HIV 的复制受 RNA 基因组中

茎环结构的调控。这些结果提供了基因组顺式调控的机制,是阐明病毒 RNA 转录/复制分子机制的重要内容。

总之, RNA 病毒转录/复制的多样性,特别是这种多样性的分子机制的研究目前相当不成熟,它向病毒学家提出了严峻的挑战,愈来愈受到学术界的广泛关注,在新的世纪里,我们相信 RNA 病毒转录/复制多样性的机制研究会取得重大突破。Price (1996)甚至在酵母和细菌细胞中以发酵方式复制完整的 RNA 病毒颗粒,这一研究成果使病毒学界受到极大鼓舞。

参考文献

- 齐义鹏,肖庚富,杨复华,1997. 病毒在分子水平上的起源与进化. 病毒学报, **13**(3): 283 ~ 289
- 杨复华,1992. 病毒学. 长沙:湖南科学出版社
- Banejee A K and Barik S, 1992. Gene expression of vesicular stomatitis virus genome RNA. *Virology*, **118**: 417 ~ 428
- Baron M D and Barrett T, 1995. Sequencing and analysis of the nucleocapsid (N) and polymerase (L) genes and the terminal. *Journal of General Virology*, **76**: 593 ~ 602
- Bercoff R P, 1987. The Molecular Basis of Viral Replication. New York and London: Plenum Press
- Chandrika R, Hoikami S M, Smallwood S and Moyer S A, 1995a. Mutations in conserved domain I of the Sendai virus L polymerase protein uncouple transcription and replication. *Viorlogy*, **213**(2): 252 ~ 263
- Chandrika R, Myers T and Moyer S A, 1995b. Measles virus nucleocapsid protein can function in Sendai virus defective interfering particle genome synthesis in vitro. *Virology*, **206**(1): 777 ~ 782
- Gamanik A V and Andino R, 1998. Switch from translation to RNA replication in a positive-stranded RNA virus. *Genes and Development*, **12**(15): 2293 ~ 2304
- Horikami S M and Moyer S A, 1995. Structure, transcription and replication of measles virus. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, **191**: 35 ~ 50
- Horikami S M, Smallwood S, Bankamp B and Moyer S A, 1994. An amion-poxoimal domain of the L protein binds to the P protein in the measles virus RNA polymerase complex. *Virology*, **205**(2): 540 ~ 545
- Howley P M, Lafont B, Sphner D, Kaelin K, Billerter M A and Drillien R, 1999. A functional measles virus replication and transcription machinery encoded by the vaccinia virus genome. *Journal of Virological Methods*, **79**(1): 65 ~ 74
- Keller W, 1999. In the beginning, there was RNA. *Science*, **285**: 668 ~ 671
- Kohlstaedt L A, Wang J, Friedman F M, Rice P A and Steitz T A, 1992. Crystal structure at 3.5 angström resolution of HIV-1 reverse transcriptase complex with an inhibitor. *Sci-*

ence, **256**: 1783 ~ 1790

- Lanpson B C, Inouye M and Inouye S, 1991. Survey of multi-copy single-stranded DNA and reverse transcriptase gene among natural isolates of *Myxococcus xanthus*. *Journal of Bacteriology*, **173**: 5363 ~ 5370
- Laughrea M, Shen Ni, Jette L and Wainberg M A, 1999. Vari-an effect of non-naive kissing-loop hairpin palindromes on HIV replication and HIV RNA dimeization. *Biochemisry*, **38**: 226 ~ 239
- Litvak S, Saih-Cottin L, Fournier M, Andreola M and Tarrago-Litvak L, 1994. Priming of HIV replication by tRNA^{lys3}. *Trends in Biochemical Sciences*, **19**: 114 ~ 118
- Moyer S A, Baker S L and Horikami S M, 1990. Host cell proteins required for measles virus replication. *Journal of General Virology*, **71**: 775 ~ 783
- Poch O, Blumberg B M, Bouueleet L and Tordo N, 1990. Sequence comparison of five polymerases (L) of unsegmented

negative-stand RNA viruses: theoretical assignment of functional domains. *Journal of General Virology*, **71**(5): 1153 ~ 1162

- Price B D, 1996. Complete replication of an animal virus and maintenance of expression vectors derived from it in *Saccharomyces cerevisial*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **93**: 9470
- Liu Q Z, Hu J H and Qi Y P, 2000. Molecular mechanism for transcription and replication of RNA virus. In: *The Second International Cao Tianqin Memorial Symposium on Protein Research*. Shanghai, China, June.
- Stec D S, Hill M G and Collins P L, 1991. Sequence analysis of the polymerase L gene of human respiratory syncytical virus and phydicted phylogeny of nonsegmented negative strand virus. *Virology*, **183**(1): 273 ~ 287
- Yechiel B, 1996. A short introduction to the origin and molecular evolution of viruses. *Virus Genes*, **11**: 73 ~ 77

(责任编辑 : 时意专)