

RNA病毒基因操作的新突破

吴世宣

(中国科学院微生物研究所, 北京)

美国威斯康辛大学生物物理实验室的 P. Ahquist 教授最近在日本仙台召开的国际病毒学会议上报道了他们已首次在上成功地病毒 RNA 的基因克隆转录成具侵染能力的 RNA。在同行中引起了轰动。

他们首先用反转录酶将雀麦花叶病毒 (BMV) 的 RNA 基因组反转录成互补的 DNA (cDNA), 然后将此 cDNA 插入到质粒中, 转化到细菌。筛选出包含完整的 cDNA 克隆。经在细菌中扩增后, 将此 DNA 再组建到另一转录载体 pDM1 上, 这个转录载体所用的为 λ 噬菌体的 P_R 促进子。在四种核苷酸和含有 5' 末端帽子结构的末端双核苷酸前体存在下, 用大肠杆菌的 RNA 聚合酶转录生成含有 5' 端帽子结构的完整的病毒 RNA 基因组。将此体外转录的 RNA 接种到植物上, 与直接从病毒粒子中提取的 RNA 一样具侵染性。进一步的实验表明, 由此转录物侵染生成的病毒核酸与 BMV-RNA 的 cDNA 探针可以杂交, 且分子量一样; 通过序列分析发现, 原来在 cDNA 克隆中非密码区缺失的一个碱基在新的由其转录物侵染生成的病毒核酸中也同样缺失。有力地说明了新的病毒系由 cDNA 克隆转录物侵染生成的, 并且基本性质和 BMV 一样。

由于迄今为止, 在 RNA 水平直接进行遗传操作还很困难。因此一般都先转录成 cDNA, 再将其克隆, 从而可以在 DNA 水平上进行分析, 加工和改造。但经 cDNA

中间体以后如何再返回生成有完全功能的 RNA 这个过程中却没能很好地解决。尽管报道有些噬菌体, 小儿麻痹病毒, 类病毒的克隆 cDNA 本身具侵染性, 但成功的例子不多。特别是对 5' 端有帽子结构的病毒迄今未有成功的报道。所以此实验的成功, 将使这类分布广、种类多的 RNA 病毒也可以在 DNA 水平上进行遗传分析加工改造。这必将大大促进 RNA 病毒的结构与功能的研究, 同时也为改造这类病毒, 从而达到防其害, 扬其利, 开辟了广阔的前景。

特别值得指出的是, 对于植物病毒来说, 由于其绝大多数为 RNA 病毒, 意义尤显突出。植物病毒一直作为一个潜在的植物遗传工程载体而受到重视。但由于 RNA 难以进行遗传操作而进展缓慢。现在关键的一环已经突破, 植物 RNA 病毒的遗传操作必将迅速发展。由于其种类多, 寄主范围广, 病毒的产量高, 同时易于进入植物组织。因此一旦成功的话, 那么将对植物遗传工程的发展作出很大的贡献。

参 考 文 献

- [1] Paul Ahlquist, Roy French, Michael Janda and L. Sue loesch-Fries. Multicomponent RNA plant virus infection derived from cloned viral cDNA. Proc. Natl. Acad. Sci. (in press)
- [2] Paul Ahlquist and Michael Janda. cDNA Cloning and in vitro transcription of the complete Bromo Mosaic Virus Genome. (in press)