

植物病毒卫星研究进展

周雪平 李德葆

(浙江农业大学生物技术研究所, 杭州 310029)

自60年代Kassanis发现有些烟草坏死病毒(TNV)分离物中含有17nm的病毒颗粒,并将其称谓卫星烟草坏死病毒(STNV)以来,已发现多种植物RNA病毒含有卫星(Satellite)。植物病毒的卫星(Virus satellite)是指依赖于与其共同侵染寄主细胞的辅助病毒进行繁殖的核酸分子,其核酸序列与辅助病毒基因组没有明显的同源性^[1]。卫星的核酸分子如含有编码外壳蛋白的遗传信息,并能包裹成形态学和血清学与辅助病毒不同的颗粒,称卫星病毒(Satellite virus);如本身没有编码外壳蛋白的遗传信息,而是包装于辅助病毒编码的外壳蛋白中,则称谓卫星RNA(Satellite RNA)。

1 已发现的卫星种类

已发现31种植物病毒中含有卫星或类似卫星的分子(表1),这些病毒分属于11个病毒组,其中,有些病毒含有多种卫星,如TNV、菲律宾稷子花叶病毒(PMV)、南芥菜花叶病毒(ArMV)和菊苣黄色斑驳病毒(CYMV)等。根据卫星的RNA分子大小及信使特性,可将其归为四类,A:RNA大于0.7kb,能编码形成自己特有的颗粒蛋白;B:RNA大于0.7kb,能编码非结构蛋白;C:RNA小于0.7kb,没有明显的mRNA活性,不能形成环状RNA分子;D:RNA小于0.7kb,没有mRNA活性,复制时可产生环状分子^[2]。

2 卫星对病毒病症状的调节作用

卫星、辅助病毒和寄主之间通常有着专化关系,这种专化性表现在对病毒病症状的高度特异性调节上。卫星对病毒病症状有以下一些调节作用:

2.1 加重病状:已发现有近10种病毒的卫星能加重其辅助病毒在寄主上引起的症状。葡萄扇叶病毒(GFLV)卫星RNA能加重GFLV在昆诺藜上的症状,芜菁皱缩病毒(TCV)卫星RNAC能加重TCV在芜菁上的症状^[3],菲律宾稷子花叶病毒(PMV)的卫星病毒能加重PMV在玉米和稷子上的症状^[4],花生丛簇病毒(GRV)卫星RNA则是引起花生丛簇的主要原因^[5]。此外,绒毛烟斑驳病毒(VTMOV)和紫花苜蓿暂时性条斑病毒(LTSV)的环状卫星RNA分别能加重VTMOV和LTSV在克氏烟和苜蓿上的症状^[6,7]。

2.2 减轻病状:烟草环斑病毒(TobRV)的卫星RNA能减轻TobRV在黑眼豇豆上引起的严重症状,使症状几乎消失^[8]。TobRV和卫星RNA共同侵染的大豆产量比TobRV单独侵染时高得多,该卫星RNA还可减轻樱桃叶卷病毒(CLRV)在豇豆上的症状^[9]。含卫星RNA的CYMV-T分离物在心叶烟上不产生症状,而不含卫星RNA的CYMV-RS则产生斑驳症^[10]。番茄丛矮病毒(TBSV)的卫星RNA能减轻TBSV在克氏烟上的症状^[4]。

2.3 无调节作用:有些病毒的卫星如TNV和TMV的卫星病毒、番茄黑环病毒(TBRV)和豌豆耳突花叶病毒(PEMV)的卫星RNA对各自辅助病毒引起的症状均无调节作用。

同一种病毒的不同卫星分子可产生不同的调节作用,如ArMV中300核苷酸(nt)长的卫星RNA可加重ArMV在昆诺藜上的症

表1 植物病毒卫星种类

辅助病毒	病毒所属组	卫星 RNA 大小 (kb)	类型
烟草坏死病毒	Necrovirus	1.2	A
烟草坏死病毒	Necrovirus	0.62	C
烟草花叶病毒	Tobamovirus	1.1	A
菲律宾椰子花叶病毒	未分类	0.8	A
菲律宾椰子花叶病毒	未分类	0.4	C
玉米白线花叶片病毒	未分类	1.3	A
番茄黑环病毒	Nepovirus	1.4	B
草莓潜隐环斑病毒	Nepovirus	1.2	B
南芥菜花叶病毒	Nepovirus	1.1	B
南芥菜花叶病毒	Nepovirus	0.3	D
櫻桃李潜隐环斑病毒	Nepovirus	1.2	B
菊苣黄色斑驳病毒	Nepovirus	1.1	B
菊苣黄色斑驳病毒	Nepovirus	0.46	D
葡萄扇叶病毒	Nepovirus	1.1	B
保加利亚葡萄潜隐病毒	Nepovirus	1.7	B
烟草环斑病毒	Nepovirus	0.3	D
花生丛簇病毒	未分类	0.9	/*
豌豆耳突病毒	Penetration mosaic	0.75	/
黄瓜花叶病毒	Cucumovirus	0.3	C
花生矮化病毒	Cucumovirus	0.39	C
芜菁皱缩病毒	Carmovirus	0.1—0.3	C
建兰环斑病毒	Tombusvirus	0.7	D
番茄丛矮病毒	Tombusvirus	0.7	C
菊苣斑驳皱缩病毒	Tombusvirus	0.7	/
意大利石竹斑驳病毒	Tombusvirus	0.7	/
矮牵牛星状花叶病毒	Tombusvirus	0.7	/
天竺葵曲叶病毒	Tombusvirus	0.7	/
茄子斑驳皱缩病毒	Tombusvirus	0.4	/
紫花苜蓿暂时性条斑病毒	Sobemovirus	0.32	D
绒毛烟斑驳病毒	Sobemovirus	0.37	D
莴苣斑驳病毒	Sobemovirus	0.38	D
地三叶草斑驳病毒	Sobemovirus	0.3	D
大麦黄矮病毒	Luteovirus	0.32	D
甜菜西方黄化病毒	Luteovirus	3.1	B
甜菜坏死黄脉病毒	Furovirus	1.4—1.8	B

* : 不详

状,并在酒花上引起特征性的荨麻病(Nettlehead)^[11],而1104nt长的卫星RNA却能减轻ArMV在大花烟草和昆诺藜上的症状^[12]。不同花生矮化病毒(PSV)分离物中的卫星RNA,有的不影响PSV症状表现,有些则能减轻PSV在烟草上症状^[13]。CMV不同分离物的卫星RNA有的能减轻CMV在大多数寄主植物上的症状,有些则能引起特征性的烟草鲜黄症、番茄坏死和番茄白叶病^[4]。同一种卫星RNA分子在不同的植物上可产生相反的效果,如CMV-S中分离的CARNAS5能引起番茄坏死,但可减轻CMV-S在烟草和辣椒上的症状^[14]。

有些病毒的卫星至今尚不清楚其对辅助病毒的症状有何调节作用,如櫻桃李潜隐环斑病毒(MLRV)卫星RNA、大麦黄矮病毒(BYDV)卫星RNA和玉米白线花叶病毒(MWLMV)的卫星病毒等。

3 卫星对症状调节的分子机理

卫星对病毒病症的调节作用与卫星、辅助病毒及寄主种类或品种有关,其调节机理也很复杂。

尚没有发现卫星编码的多肽与症状改变有直接关系。如线传多面体病毒组中的TBRV、MLRV和SLRV的卫星RNA在活体中能编码38—48KD的多肽,但这些病毒的卫星RNA对症状的调节作用很小^[15]。TMV和PMV的卫星病毒,前者对症状无调节作用,后者可加重在玉米和稷子上的症状,这两种卫星病毒除编码自己的外壳蛋白外都能编码一种或几种多肽,但尚没有证据表明这些多肽与症状调节有关。

对减轻症状的CMV卫星RNA的研究发现,症状减轻的同时,伴有病毒量的减少和侵染性降低,病毒RNA的合成量随卫星RNA增加而降低,根据这些现象,Kaper提出了卫星RNA与辅助病毒竞争复制的假设,即卫星RNA与辅助病毒竞争由辅助病毒诱导的复制酶和由其编码的外壳蛋白,而卫星RNA复制效率高,因而干扰并减少了病毒基因组的复制

和包壳^[16],这一假设尚需进一步证实。

CMV卫星RNA根据其是否在番茄上产生坏死,可分为坏死型及非坏死型两类。序列分析表明,坏死型卫星RNA与非坏死型相比,有几个保守区均发生了改变,这些碱基改变引起的卫星RNA结构变化可能与番茄坏死有关^[4]。坏死型卫星RNA的第11—13位上均有起始密码子AUG,且编码的氨基酸序列是保守的,但点突变破坏该起始密码子后,仍能使番茄产生坏死,因而否定了该区编码的蛋白与番茄坏死有关^[17]。Devio等发现CMV-Y中分离的卫星RNA(Y-satRNA)上第1—219位碱基序列与形成烟草鲜黄症有关,219位后的序列与番茄坏死有关^[18]。Y-satRNA至少在318位的G、323位的U和333位的C中存在一处才能引起番茄坏死^[19]。由于坏死型satRNA在这3位点上的碱基相同,推测其它坏死型satRNA也是通过Y-satRNA相同的机理使番茄发生坏死的。将Y-satRNA 5'端序列与S19-satRNA(能减轻CMV在烟草上的病状)进行嵌合重组试验发现,Y-satRNA 191—193位的AUU变为S19-satRNA的GC时不产生烟草鲜黄症,而S19-satRNA 192与192位的GC换成AUU时,也能使烟草产生鲜黄症^[20]。此外Y-satRNA的185和186改变也可影响鲜黄症的产生^[21]。研究表明,碱基改变引起的致死是通过核苷酸本身而不是两级结构改变起作用的^[22]。尚需进一步研究才能弄清这些区是单独还是与RNA分子上的其它区共同起作用的。

4 卫星RNA的自身催化切割

有一类长度约为500nt的卫星RNA,如TobRV、BYDV和南方菜豆花叶病毒组中四种病毒的环状卫星RNA分子,能从多拷贝长度的前体特异性地自身切割产生单拷贝长度的RNA分子,切割后5'端为羟基,另一端形成2'、3'-环磷酸二酯键^[23]。对LTSV卫星RNA正负链分子的序列比较表明,正负链分子在切割位点附近的55nt非常相似(图1)^[24]。Hoseloff等提出起切割作用的RNA分

子在切割时能形成锤头状二级结构,切割的靶 RNA 上只需 GUC 序列 (G、C 可有变化),切割作用就发生在 C 位后^[25]。但对 TobRV 卫星 RNA 负链的研究发现,其分子切割时并不形成锤头状结构,而是另一类二级结构,且切割

的靶 RNA 上为 ACA 序列^[26]。这些研究结果为人工合成 Ribozyme 切割 RNA 奠定了基础。针对 TMV RNA 设计的 Ribozyme 序列已转化烟草,转化植株对 TMV 表现出一定的抗性^[27]。

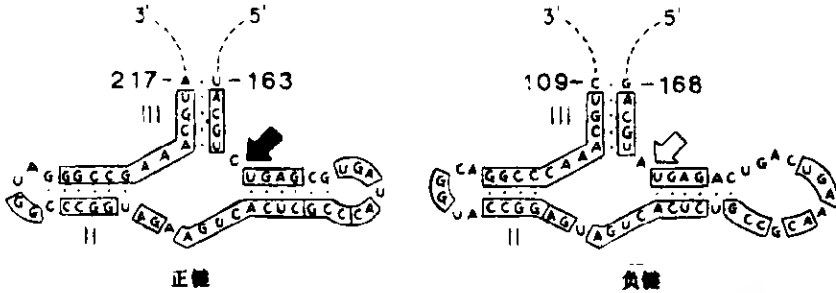


图 1 LTSV 卫星 RNA 切割区锤头状二级结构

5 卫星的复制

不同卫星分子的结构不同,因而复制方式也不尽相同。Piazzolla 等提出 5'端及 3'类似于辅助病毒的卫星 RNA,如 CMV、TBRV 卫星 RNA,其复制依赖于辅助病毒的复制酶。复制时,卫星 RNA 首先合成单一长度的负链 RNA,然后以负链为模板合成正链 RNA^[28]。这一模式已通过许多试验加以证实。

对于一些长度约为 500nt 的卫星 RNA,如 TobRV、BYDV 和 VToMV 等病毒的卫星 RNA,它们具有一些共同的特点,如离体无 mRNA 活性,受感染组织中有环状和多拷贝 RNA 分子, RNA 的 5'端往往为羟基,另一端为 2'、3'-环磷酸二酯键,且这些卫星 RNA 能特异地自身催化切割产生单拷贝长度的 RNA 分子,因而推测它们的复制可能是相同的,并提出了这些 RNA 是以滚环复制模式 (Rolling circle transcription) 进行复制的^[23]。滚环复制模式又可分为对称模式和非对称模式,这两类模式的前几步相同,即单拷贝线形正链 RNA 环化后为模板合成一条高分子量的多拷贝负链 RNA。在对称模式中,这些高分子量负链 RNA 经自身催化切割,产生单拷贝负链 RNA,负链 RNA 环化并作模板,合成高分子

量的多拷贝正链 RNA,并经自身切割产生单拷贝线形正链 RNA。在非对称模式中,高分子量的多拷贝负链 RNA 直接作模板合成高分子量的多拷贝正链 RNA,再自身切割产生单拷贝正链 RNA (图 2)。对称模式适用于 TobRV、ArMV、CYMV、BYMV 和 LTSV 卫星 RNA 的复制。而 VToMV、SNMV 和 SCoMV 卫星 RNA 是以非对称模式进行复制的^[23]。

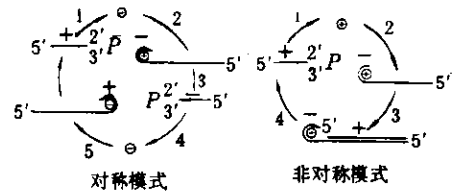


图 2 一些小分子量卫星 RNA 的滚环复制模式

6 卫星的起源与进化

卫星的种类很多,它们的起源方式是不同的。卫星的复制较快,且突变频率高,因此进化也较快,其进化与辅助病毒、寄主及环境有关。

卫星病毒除不能单独复制外,其它特点

与一般植物病毒类似,它们很可能是由病毒基因组缺失某些功能产生的。一些末端结构类似于辅助病毒基因组的卫星 RNA (如 CMV 卫星 RNA),可能起源于辅助病毒或与辅助病毒相近的病毒。南方菜豆花叶病毒组病毒的卫星 RNA 和 TobRV 等病毒的卫星 RNA 与类病毒有类似性状,这些卫星 RNA 很可能起源于寄主基因组。而 TCV 卫星 RNAC 很可能是由卫星 RNA 与辅助病毒基因组重组产生的^[28]。

Fisher 等提出了动物缺陷干扰型 DNA (DIDNA) 的进化模式:一个细胞内起源于寄主或病毒 DNA 的非功能区 (JunK) 由于分子间或分子内的重组及这些 DNA 分子的高速突变,使这些分子与侵染细胞的病毒意外地起作用,从而使病毒与这些 DNA 同时复制并干扰病毒的复制^[29]。植物病毒卫星结构和功能上的一些特点与该进化模式相吻合,因而也可能是以类似的方式进化的。

7 展望

目前已发现 31 种植物病毒中含有卫星,其中大多是在近几年发现的,随着研究的深入,肯定会发现更多的病毒含有卫星。有些卫星能减轻辅助病毒的病状,因而可看作分子寄生物用于病毒病的生物防治,如 CMV 卫星 RNA 已用于田间防治 CMV 危害^[30],并取得了显著的增产效果。利用卫星 RNA 作为目的基因,用基因工程技术转化重要作物也已获得成功^[31],这为农作物抗病育种开辟了新的途径。卫星的分子一般较小,且对症状有不同的调控作用,因而可以克隆卫星分子的 cRNA,并通过重组、点突变等手段弄清卫星分子对病毒基因表达及症状调控的分子机理,这对了解生物大分子结构与功能的关系有着重要意义。卫星 RNA 的自身特异性切割,为抑制病毒基因表达开辟了新的方法。可以肯定,植物病毒卫星将是今后植物病毒研究中的一个较为活跃的领域。

参 考 文 献

[1] Francki R I B. *Virology*, 1979, **86**: 562.
 [2] Francki R I B, Fauquet C M, Knudson D L, *et al.*

classification and nonnomenclature of viruses. *Arch virol. (suppl. 2)*. New York: Springer-Verlag, 1991. 400.
 [3] Xiao Huali, Simon A E. *Phytopathology*, 1990, **80**: 238.
 [4] Domingo E, Holland J J, Ahlquist P. *RNA genetics*, Vol. III. Boca Raton: CRC press, 1988. 171.
 [5] Murrant A F, Rajeshwari R, Robinson D J, *et al.* *J Gen Virol*, 1988, **69**: 1479.
 [6] Francki R I B, Grivell C J, Gibbs K S. *Virology*, 1986, **148**: 381.
 [7] Jones A T, Mayo M A. *J Gen Virol*, 1983, **64**: 1171.
 [8] Gerlach W L, Buzayan J M, Schneider I R, *et al.* *Virology*, 1986, **151**: 172.
 [9] Ponz F, Rowhani A, Mircetich S, *et al.* *Virology*, 1987, **160**: 183.
 [10] Piazzlla A, Rubino L, Tousignant M E, *et al.* *J Gen Virol*, 1989, **70**: 949.
 [11] Davis D L, Clark M F. *Ann Appl Biol*, 1983, **103**: 439.
 [12] Liu Y Y, Cooper J I, Edwards M, *et al.* *J Gen Virol*, 1990, **71**: 1259.
 [13] Naidu R A, Collins G B, Ghabrial S A. *Mol Plant-Microbe Interact*, 1991, **4**: 268.
 [14] Waterworth H E, Kaper J M, Tousignant M E. *Science*, 1979, **204**: 845.
 [15] Francki R I B. *Ann Rev Microbio*, 1985, **39**: 151.
 [16] Kaper J M. *Biochem. Biophys Res Commun*, 1982, **105**: 1014.
 [17] Collmer C W, Kaper J M. *Virology*, 1988, **163**: 293.
 [18] Devic M, Jaegle M, Baulcombe. *J Gen Virol*, 1989, **70**: 2765.
 [19] Devic M, Jaegle M, Baulcombe, *et al.* *J Gen Virol*, 1990, **71**: 1443.
 [20] Kuwata s, Masuta C, Takanami Y. *J Gen Virol*, 1991, **72**: 2385.
 [21] Jaegle M, Devic M, Longstaff M, *et al.* *J Gen Virol*, 1990, **71**: 1905.
 [22] Sieat D E, Palukaitis D. *Pro Natl Acad Sci USA*, 1990, **87**: 2946.
 [23] Bruening G, Passmore B K, Hans van Tol, *et al.* *Mol Plant Microbe Interact*, 1991, **4**: 219.
 [24] Forster A C, Symons R H. *Cell*, 1987, **50**: 9.
 [25] Hoseloff J, Gerlach W L. *Nature*, 1988, **334**: 585.
 [26] Maramoros K. *Viroids and satrllite; Molecular Parssites at the Frontier of Life*. Boca Raton: CRC Press, 1991. 142.

- [27] Pirone P T, Shaw J G. *Viral Genes and Plant Pathogenesis*, New Yorks: Springer-verlag, 1990. 177.
- [28] Matthews R E F. *Plant Virology*, 3rd edit. San Diegos; Academic Press, 1991. 321.
- [29] Fisher R E, Mayger H D. *J Thero Biol*, 1986, **118**: 395.
- [30] Po Tien, Xiuhua Zhang, Bingsheng Qui, *et al.* *Ann Appl Biol*, 1987, **111**: 143.
- [31] Baulcombe D C, Saunders G R, Bevan M W, *et al.* *Nature*, 1986, **321**: 446.