

植物病毒胞间运动分子生物学研究进展

郑文光^{1*} 王晓武¹ 高必达²

(1 中国农科院蔬菜花卉研究所 北京 100081 2 湖南农业大学植物保护系 长沙 410128)

摘要 综述了运动蛋白的分类、病毒运动的两种形态、运动蛋白介导植物病毒细胞间运动的机制及其磷酸化调节,同时简要介绍了互补试验与删除试验在研究运动蛋白功能上的应用。

关键词 运动蛋白 胞间连丝 果胶甲酯酶 植物病毒 细胞到细胞运动

许多植物病毒在最初侵染植物之后,从最初侵染的细胞移动到相邻的健康细胞,到达维管束系统之后,能随着光同化作用被动地进行系统的长距离运输,引起系统侵染。动物病毒通过受体介导的吞噬作用和细胞融合的运动机制不适合于植物病毒,因为每个植物细胞都有细胞壁包被着^[1]。植物病毒细胞到细胞的短距离运动是一个主动过程,其运动由病毒所编码的非结构蛋白——运动蛋白所介导。运动蛋白与病毒核酸和胞间连丝相互作用,改变胞间连丝允许通过的最大孔径(size exclusion limit, SEL),增加其渗透性,使得病毒核酸以病毒粒子或核糖核蛋白(RNP)的形式通过胞间连丝到达相邻的健康细胞。运动蛋白介导植物病毒细胞到细胞运动的确切机制尚在探讨之中。

1 运动蛋白的分类

通常将一植物病毒编码的蛋白认定为运动蛋白须具备两个条件:(1)该蛋白不是外壳蛋白;(2)破坏该蛋白的编码序列能破坏病毒对全株的侵染,但对病毒在原生质体内的复制没有影响^[2]。依据病毒在细胞中运动的特点、运动蛋白基因的组成及氨基酸序列,运动蛋白可分为三大类。

1.1 30K 超级家族

以烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV)的运动蛋白(movement protein, MP) P30 为典型代表,该组的特点是运动蛋白由单一基因编码,能与病毒核酸(ssRNA 和 DNA)及微管蛋白结合,并以后两者为桥梁通过胞间连丝。Koonin 等^[2]运用 Blast 软件分

析了属于 17 个组的病毒 MP,它们均含有一段由大约 30 个氨基酸残基构成的保守序列。这 17 个病毒组为:

具有单链 DNA 基因组病毒: geminiviruses (group II, 联体病毒属 II);

具有双链 DNA 基因组病毒: caulimoviruses (花椰菜花叶病毒属), badnaviruses (杆状病毒属);

具有双义基因组片段的负链 RNA 病毒组: tospoviruses (番茄斑萎病毒属);

按系统发育划分的其它三部分:

rubr-like 病毒: bamoviruses (烟草花叶病毒属), tobnaviruses (烟草脆裂病毒属), cucumoviruses (黄瓜花叶病毒属), bromoviruses (雀麦病毒花叶属), ilarviruses (等轴不稳环斑病毒属); capilloviruses (线形病毒属), furoviruses (真菌传杆状病毒属), raspberry bushy dwarf virus (悬钩子丛矮病毒);

picorna-like 病毒: comoviruses (豇豆花叶病毒属), parsnip yellow fleck virus (欧防风黄点病毒), pea enation mosaic virus (豇豆耳突花叶病毒)

flavr-like 病毒: dianthoviruses (香石竹环斑病毒属), tombusviruses (番茄丛矮病毒属)

1.2 三基因连锁 (triple gene block, TGB) 编码的蛋白

该组的特点为由 3 个部分重叠的病毒基因的产物联合发挥运动蛋白功能。一些正链 RNA 病毒组如 potexviruses (马铃薯 X 病毒属)、caclaviruses (香石竹潜隐病毒属)、hordeiviruses (大麦病毒属) 以及 beet necrotic yellow vein virus (甜菜坏死黄脉病毒)、

修回日期: 2002-07-29

* 电子信箱: Wgzheng 2002@yahoo.com.cn

Nicotiana velutina mosaic virus、peanut clump virus(花生丛簇病毒)含有 triple gene block(TGB):2个为小的膜蛋白,1个为假定的 RNA 解旋酶。破坏 TGB 中的任何一个将导致 hordeiviruses、potexviruses 和 BNYVV 的细胞到细胞运动功能的丧失。

1.3 管状结构运动蛋白

包括豇豆花叶病毒(cowpea mosaic virus, CPMV)和双生病毒组的部分成员,往往在植物细胞中形成有病毒粒子聚集的管状结构。CaMV 侵染卷心菜原生质体后也形成类似的结构。在有些情况下,植物病毒细胞到细胞的运动还需要其它病毒蛋白参与,如外壳蛋白等。介导植物病毒在寄主植物体内细胞到细胞运动相关的蛋白见表1。

2 病毒运动的两种类型

E. V. Koonin 等通过对 TMV 与 CPMV 运动蛋白的观察提出了两种不同病毒运动类型^[2]:“*tobamovirus* type”和“*comovirus* type”。“*tobamovirus* type”的特征为运动蛋白定位于细胞壁的胞间连丝区域,病毒侵染粒子细胞到细胞运动无需 CP 的存在;“*comovirus* type”的特征为细胞到细胞运动需要 MP 与 CP 的同时存在,MP 介导管状结构的形成。

然而情况并不是如此简单。RCMV 为 *comovirus*, 与 CPMV 关系密切,其运动应属于 *comovirus* type,但实际上 RCMV 的运动蛋白只在侵染植株的胞间连丝内发现,即被认为是 *tobamovirus* type。CaMV 运动蛋白发现位于细胞壁部分,更确切地说位于胞间连丝内,依此可将其运动归为 *tobamovirus* type。然而也在 CaMV 侵染的细胞内发现了位于细胞质的管状结构,并研究表明为 P1 介导形成,依此似乎更适合于归为 *comovirus* type。因此该划分尚不能作出明确的界定,但值得注意的是,我们常常在一些容易观察的位点看到运动蛋白,但有时该位点并不是其运动所必需的。

3 运动蛋白介导病毒运动的机制

研究最清楚的是 TMV 的运动蛋白,关于病毒运动蛋白的生物活性的研究大多归于对 TMV MP 的研究:MP 与胞间连丝相互作用增加其渗透性;与单链 RNA 结合;由与细胞壁相联的蛋白激酶磷酸化;与细胞质骨架成分以及植物细胞 PME 相互作用。基于这些研究,认为 MP 与病毒 RNA 形成复合体,运用细胞骨架网络在细胞内转运运动蛋白-病

毒复合体,与细胞壁 PME_s 相联系,增加胞间连丝的渗透性,恢复扩大了胞间连丝通道。

3.1 运动蛋白与病毒核酸的相互作用

TMV P30 为病毒核酸的分子伴侣,为单链核酸结合蛋白(SSB),该结合具有协同效应,且为非序列特异性。P30 结合所要求的最短核酸序列长度为每蛋白单体 3~7 个核苷酸。自由单链核酸分子以无规则折叠结构形式存在,SSB 与之结合后,将核酸分子的折叠打开,形成一个可运输的具有规则形状的蛋白-核酸复合体。电镜下观察表明,TMV P30 与单链核酸结合后形成一个长的、无折叠的、细的蛋白-核酸复合体。由于外壳蛋白(CP)与运动蛋白(MP)竞争与病毒 RNA 结合,因此, P30 在侵染初期首先瞬时表达从而形成蛋白-核酸复合体可运输形式。将 CP 启动子序列插入到 P30 编码序列上游,使 P30 基因延迟表达,从而造成了缺乏细胞到细胞运动功能的病毒突变体。同时, P30 与 CP 之间的竞争也可以解释转病毒 CP 基因的植物具有对病毒抗性的现象。P30 与病毒 RNA 结合后留下的没有结合的部分为 CP 组装位点和 3'-端 t-RNA 类似结构。P30 的 N-端 65~86 氨基酸残基为与单链核酸结合所必需的区域,最近研究表明 C-端 187~265 氨基酸残基也与结合有关^[21]。

如果单链核酸-蛋白复合体的形成是病毒细胞到细胞运动的关键特征,那么与单链核酸相结合的活性将是植物病毒运动蛋白的一个共同特征。像 P30 一样, CaMV 的 gene I 所编码的 P1 运动蛋白也是 RNA 结合蛋白。该结合是协同性的,且与 RNA 的亲合性为单链 DNA 的 10 倍。P1 是惟一的较 ssDNA 而言倾向于与 ssRNA 结合的单链核酸结合蛋白。实际上,在 CaMV 侵染植物体内,主要的病毒 RNA 为 35S RNA,这与以前观察到整个病毒粒子存在于胞间连丝内的结果相反。因此, CaMV 可能存在两种运动机制:在侵染初期为 P1 蛋白-RNA 复合体形式;在侵染后期,当胞间连丝充分扩大,能容纳较大的 CaMV 粒子时,以整个病毒粒子形式运动。

除此之外,其它具有与单链核酸结合特性的运动蛋白也有报道,如 red clover necrotic mosaic dianthovirus(RCNMV)、alfalfa mosaic virus(AMV)的运动蛋白。运动蛋白与核酸结合无序列特异性也为不同的相关或不相关的植物病毒之间细胞到细胞运动的互补试验提供了理论依据。

表 1 介导病毒在植物体内细胞到细胞运动相关的蛋白

病毒名称	运动蛋白	文献源
1. Alfalfa mosaic virus(ALMV)	P3	Miglino R et al. (2001) ^[3]
	cp	Bol JF et al. (2000) ^[4]
2. tomato mosaic virus(ToMV)	MP	Meshi T et al. (2001) ^[5]
3. potato virus X(PVX)	25K, 12K, 8k&CP	Ding B et al. (2000) ^[6]
4. maize streak virus(MSV)	MP	Boulton MI et al. (2000) ^[7]
	CP	Boulton MI et al. (1997)
5. tobacco mosaic virus(TMV)	30K	Ferralli J et al. (2000) ^[8]
6. potexvirus	TGB&CP	Ntziel NE et al. (2000) ^[9]
7. beet yellow virus(BYV)	P6, P64, HSP70h, CP	Hagiwara Y et al. (2000) ^[10]
8. turnip crinkle virus(TCV)	P8&P9	Qu F et al. (2000) ^[11]
9. apple chlorotic leaf spot virus(ACLSV)	50K	Matsuda H et al. (2000) ^[12]
10. beet necrotic yellow vein virus(BNYSV)	P42, P13, P15(TGB)	Morant M et al. (2000) ^[13]
11. tomato bushy stunt virus(TBSV)	P22	Desvoyess B et al. (2000) ^[14]
12. cucumber mosaic virus(CMV)	3aMP & CP	Mise K et al. (1999) ^[15]
13. brome mosaic virus(BMV)	MP & CP	Mise K et al. (1999) ^[15]
14. cowpea chlorotic mottle bromovirus(CCMV)	3a protein	Mise K et al. (1999) ^[16]
15. squash leaf curl virus(SLCV)	BR1&BL1	Lazarowitz SG et al. (1999) ^[17]
16. potato A potyvirus(PVA)	Hc Pro& CP	Puurand U et al. (1999) ^[18]
17. olive latent virus 2(OLV- 2)	36. 5kDa(36K)	Castellano MA (1999) ^[19]
18. barley stripe mosaic virus(BSMV)	TGB	Savenkov EI et al. (1999) ^[20]
19. southern bean mosaic virus(SBMV)	ORF1, ORF3 Protein & CP	Fowler BC et al. (1998)
20. bean dwarf mosaic geminivirus(BDMV)	BV1&BC1	Noueiry Ao et al. (1998)
21. tobacco etch virus(TEV)	CI protein	Jensen PE et al. (1998)
	CP	Haldemar Cahill R et al. (1995)
22. bean common mosaic necrosis potyvirus(BCMNV)	CP&HG Pro	Zerbini FM et al. (1997)
23. Lettuce mosaic potyvirus(LMV)	CP&HG Pro	Zerbini FM et al. (1997)
24. tobacco necrosis virus strain D(Hungarian isolate, TNV- DH)	P7(1) , P7a, P7b	Havelda Z et al. (1997)
25. tomato golden mosaic geminivirus(TGMV)	BL1&BR1	Pooma W et al. (1996)
26. tomato spotted wilt virus(TSMV)	33. 6kDa	Komelink R et al. (1995)
27. citrus tatter leaf capillovirus(CTLV- lily strain)	36kDa	Namba S et al. (1995)
28. tomato ringspot nepovirus(ToRSV)	45kDa	Wieczorek A et al. (1995)
29. white clover mosaic virus strain O(WCIMV O)	26kDa, 13kDa, 7kDa	Beck DL et al. (1994)
30. artichoke mottle crinkle virus(AMCV)	22K	Lucioli A et al. (1994)
31. cowpea mosaic virus(CPMV)	58K/ 48K&CP	Wellink J et al. (1993)
32. cauliflower mosaic virus(CaMV)	40kDa	Wurch T et al. (1991)
33. tobacco rattle virus(TRV)	29K	Guilford PJ(1991)

注: 1999 年以前的参考文献未列出, 需要者请与作者联系。

3.2 运动蛋白与寄主细胞 PME 的相互作用

果胶甲酯酶(PME) 多基因家族与植物生长和发育有关, PME 的活性认为是调节 pH 值和离子平衡, 影响细胞壁渗透性, 另外 PME 在植物对病原菌入侵的反应过程中也起一定的作用。现在发现 PME 能介导 TMV 以及其它病毒细胞到细胞运动。已报道 TMV、TVCV (turnip vein clearing virus) 和 CaMV (cauliflower mosaic virus) 的 MP 与 PME 结合^[22]。

3.2.1 位于细胞壁上的 MP 受体 PME Dorokhov 等首次报道 TMV MP 与寄主植物细胞壁上的 PME 相互作用, PME 为 MP 的受体。Chen Minhuei 等^[23]

用 renatured blot overlay assay 再次证实了位于植物细胞壁上的 MP 受体蛋白 38kDa 的 PME。PME 最初翻译产物大于 50kDa, 经翻译后加工其成熟蛋白的分子大小为 32~ 42kDa, 其加工过程可能包括一个翻译后切除, 即将 PME 的保守的 C 末端与可变的 N 末端分开。实际上番茄 PME 成熟蛋白的 N 末端序列与预期的克隆的 PME 基因翻译产物的 N 末端序列不一致, 而是与保守的 C 末端序列一致。TMV MP 既能与成熟的 PME 结合, 也能识别全长的、含有导向内质网的 N 末端信号肽的未加工的 PME。因为成熟 PME 与未加工的 PME 都含有保守的 C 末端序列, 因此 TMV MP 的识别位点可能位于

PME 的 C-末端区。TMV MP 能与番茄(PmeU1)和柑桔(CsPme3)的 PME 结合,而且运用酵母双杂交体系还表明来自于 TVCV 和 CaMV 的 MP 均能与来自番茄和柑桔的 PME 相结合。

3.2.2 与 PME 结合的 MP 功能区 运用寡核苷酸定点诱变产生多个 MP 衍生物,然后测试其与 PME 的结合能力。结果表明删除 TMV MP130-185 氨基酸残基段的 *de14* 不能与 PME 结合,且阻碍了 MP 扩大胞间连丝通道的能力,但它并不影响与单链 RNA 的结合;在缺少 MP 其它氨基酸序列的情况下, TMV 的 MP130-185 氨基酸残基段单独也能与 PME 结合,表明 MP 上的该 50 个氨基酸残基段为识别 PME 并为之结合所必需的而且是足够的。运用 *de14* 的 cDNA 克隆的体外转录物接种植物后所进行的体内试验也表明 *de14* 不能介导 TMV 病毒在植物体内运动。

3.2.3 MP 与 PME 结合协调病毒运动的机制 MP 与 PME 结合可通过几种机制来协调病毒在植物体内细胞到细胞运动: (1) MP 与未加工的 PME 结合。未加工的 PME 含有导向内质网的信号肽, TMV 为高度疏水的蛋白。在此模型中, PME 横跨内质网膜,其 C-末端与 MP 相互作用,使 MP 附着在内质网面向细胞质的一面,由内质网将 MP 从病毒合成的地方随 PME 一起运输到胞间连丝,到达细胞壁后, PME 转为分泌途径, MP 停留在细胞壁内。(2) PME 仅仅只作为 MP 位于细胞壁上的受体。PME 存在于整个细胞壁部分, MP 与之结合无明确方向性,与不存在于胞间连丝的 PME 结合后, MP 将会被降解掉或被重新导入到细胞质中。与靠近胞间连丝的 PME 结合后开始了细胞到细胞运动的过程。(3) MP 与 PME 结合后引起一系列生理变化。MP 与 PME 结合后,改变 PME 的生理活性,改变细胞壁离子平衡,从而最终诱导胞间连丝渗透性的改变。

3.3 运动蛋白与胞间连丝的相互作用

胞间连丝为联系植物细胞与细胞之间的桥梁,它由内质网衍生而来。在正常植物组织内,允许水、无机离子、小的代谢物、生长因子等通过。在大多数情况下,其允许通过的分子最大质量为 1kDa,大小为 0.7~1.0nm,其运输受到 Ca^{2+} 和磷酸肌醇的抑制。

运动蛋白与寄主植物细胞的相互作用曾提出两种模式^[21]: (1) 压迫植物细胞防御系统; (2) 扩大胞间连丝通道。大量研究结果与第二种模式一致。

Katherine Esau 首先提出猜想病毒运动通过植物胞间连丝而在植物细胞间转移,研究表明转 TMV P30 基因的植株的胞间连丝的 SEL 为正常植株 (0.73nm) 的 3~4 倍 (2.4~3.1nm), 允许通过的分子质量大小由 1kDa 变为 10kDa 甚至 20kDa。用 10kDa 的荧光标记的葡聚糖与纯化的 TMV MP 一起通过微注射法接种 *Nicotiana* 叶子的叶肉细胞,利用荧光显微术检测葡聚糖在细胞间的运动,结果表明, 10kDa 的葡聚糖由接种的细胞传播到未接种的细胞;而单独微注射 10kDa 的葡聚糖依然停留在原来的细胞内,不能运动到相邻的未注射的细胞中去,表明 MP 改变了植物细胞间胞间连丝通道的大小。

4 运动蛋白的磷酸化调节

运动蛋白介导病毒通过胞间连丝转移到相邻的健康细胞之后,通过磷酸化负调节其生物活性,并以寄主依赖方式作用。

4.1 MP 的磷酸化位点

体外实验表明 TMV MP 其磷酸化位点为 MP 上的 Ser258、Thr261、Ser265。Elisabeth Wagnam 将转野生型 MP 基因或突变的 MP 基因的烟草栽培在含放射性磷的培养基中培养,然后提纯含 MP 的烟草细胞壁,运用免疫沉降法获得 MP,并通过放射自显影来分析 MP,结果表明在转基因烟草中 MP 确实被磷酸化了。将 Ser258、T261、S265 中的两个用不能被磷酸化的丙氨酸代替,获得 MP 突变体 *slr10*、*slr11*、*slr12* (分别保留 Ser258、Thr261、Ser265),以及三者全被代替的 *slr13* 突变体,证实了 MP 在体内的磷酸化位点为 Ser258、Thr261、Ser265。*slr10*、*slr11*、*slr12* 在体内均被磷酸化,但其强度较野生型 MP 弱;而 *slr13* 则完全毁坏了 MP 的磷酸化。

MP 的磷酸化由与细胞壁相联的蛋白激酶所催化。用 *Nicotiana tabacum* 的细胞壁片段中的 MP 作底物体外测试蛋白激酶的生物活性,结果表明该酶的最适 pH 为略偏碱性,并需要 Mg^{2+} 的存在,其最适 mg^{2+} 浓度为 5m mol/L,然而在 0.01~20.6m mol/L Ca^{2+} 存在情况下,其生物活性却是微乎其微的,表明 MP 磷酸激酶的生物活性与普通的植物细胞壁蛋白激酶不一致。另外 Mn^{2+} 和 Zn^{2+} 对其生物活性也是无效的。

4.2 MP 磷酸化的衰退调控作用

为了评价缺失磷酸化位点的MP的生物活性, Elisabeth Waigmann^[23]将TMV MP的225~268氨基酸残基序列去掉得到缺失整个C末端磷酸化位点的MP衍生物 del 7, del 7在*N. tabacum*和*N. benthamiana*中均能加速10kDa dextran(葡聚糖)在细胞间的转运,表明del 7能增加胞间连丝的渗透性。另外将MP磷酸化位点的Ser258、Thr261、Ser265用带负电荷的Asp残基代替得到slr9突变体,slr9在*N. tabacum*中不能介导葡聚糖分子的细胞到细胞运动,表明slr9与胞间连丝之间的相互作用已严重受损。综合考虑,在*N. tabacum*中MP的磷酸化对MP的生物活性起衰退调控作用。然而与*N. tabacum*相反,slr9在*N. benthamiana*中能介导荧光标记的10kDa的葡聚糖从最初注入的细胞运动到未注入的细胞中去,与野生型MP和无磷酸化位点的del 7几乎相当。该结果表明在*N. benthamiana*中MP介导的胞间连丝运输不受MP磷酸化的调节,MP磷酸化调节为寄主依赖方式。

体外试验表明,TMV MP模拟磷酸化slr9并不影响其与MP的细胞壁上的38kDa受体PME的相互作用,slr9-PME相互结合程度与野生型MP或del 7相似,而且slr9与RNA之间的结合也与野生型MP或del 7相当。

除TMV MP外,对于MP的磷酸化的研究还很少,然而最近报道potato leaf roll virus(马铃薯卷叶病毒)的17kDa MP的磷酸化也对MP的功能起衰退调控作用。因此可猜想,通过磷酸化或其它机制来调节MP的生物活性可以解释不同烟草品种对病毒侵染敏感性的差异。

5 互补试验与缺失突变

5.1 互补试验

植物病毒运动蛋白之间有时能互补介导病毒在一定寄主植物上运动,互补试验通常使用的方法有以下四种^[24]:

(1)利用运动缺陷型病毒与辅助病毒混合侵染植株

植物对某些病毒具有抗性而对另一些病毒具有感病性可能是由于病毒MP与寄主植物相互作用的结果。植物对其易感的病毒能增强植物对其具有抗性的病毒在植物体内的侵染。Altanbekov

等^[24]研究了sun hemp mosaic virus(SHMV)作为辅助病毒与PVX野生型及其CP或TGB的突变体在豇豆*Vigna unguiculata*上的运动互补性。*V. unguiculata*不是PVX的寄主,但当SHMV与PVX及其突变体混合侵染时,PVX在其中的运动却大大提高,单位叶片中PVX病毒累积量也显著增加。

(2)用携带有外源运动蛋白基因的病毒重组基因组侵染植株

Nagano H等^[25]用CMV的3a运动蛋白与CP取代BMV自身的MP与CP构成MP/CP嵌合体,该嵌合体在侵染*Chenopodium quinoa*后能观察到其细胞间运动。Ryabov等^[26]用groundnut rosette virus(GRV)的MP取代CMV的MP后组建的杂交病毒能在*Nicotiana tabacum*中产生细胞到细胞运动。

(3)用运动缺陷型病毒侵染表达辅助病毒运动蛋白的转基因植物

Cooper B等^[27]用CMV-Fny株系运动缺陷型突变体侵染表达CMV-S株系的MP的转基因寄主植物后,表明该运动缺陷型突变体能在其转基因寄主植物中产生细胞到细胞运动,而且转TMV MP基因的寄主植物也支持CMV运动缺陷型突变体的胞间运动。

(4)用运动缺陷型病毒的cDNA与辅助病毒的运动蛋白基因共同轰击接种植物组织。

Morozov Syu等^[28]用含有35S启动子趋动表达野生型PVX、ToMV、crucifer tobamovirus或red clover necrotic mosaic dianthovirus(RCNMV)的25kD运动蛋白的构建体与携带有GUS报告基因的PVX运动缺陷型全长cDNA克隆采用微粒轰击法共同接种寄主植物后,运用原位杂交技术研究表明,这三种病毒的MP cDNA能互补介导PVX运动缺陷型突变体的细胞到细胞运动。Agranovsky AA等也运用类似的方法研究了BYV编码的P65蛋白与potexvirus运动缺陷型突变体之间的运动互补介导关系。

5.2 缺失突变

通过删除MP上的一个或几个氨基酸来分析运动蛋白的功能区,在这一方面也进行了大量的研究。Sanchez-Navarro JA等通过删除AMV的CP上的氨基酸来研究删除对植物病毒胞间运动及对MP功能的影响。Nagano H等^[29]对CMV突变体进行了研究,认为删除CMV MP的C端33个氨基酸后能不依赖于CP而介导病毒运动。通过一系列的删除分析后结果还表明,删除CMV MP上的31~36个

氨基酸能使MP不依赖于CP而能够单独介导CMV的胞间运动,而删除少于31个氨基酸的MP则没有这个能力。Kahn TW等^[30]通过在TMV MP上每隔10个氨基酸删除3个氨基酸对TMV MP功能区进行了分析,认为在第1~160个氨基酸段删除后产生的突变体失去了介导TMV胞间运动的能力,进一步分析还表明,TMV MP上第9~11个氨基酸与将其定位到皮层区和胞间连丝有关,第49~51个氨基酸与MP与微管相联有关,第88~101个氨基酸与将MP定位于皮层区和微管有关。

6 小结

由于植物病毒与其寄主植物的长期协同进化,植物病毒在寄主体内的运动存在许多和病毒基因组相关的特异性。植物在漫长的进化过程中形成了许多限制植物病毒在细胞间运动的障碍,而病毒也相应产生了各种不同的机制来克服这些障碍。植物病毒在寄主植物体内的细胞间短距离运动引起了植物病理学家的极大兴趣,希望通过对植物病毒的研究,特别是在植物与病毒相互作用的研究中不断强化植物对病毒侵染的限制,从而克服病毒的危害。

参考文献

- [1] Donna Giesmar Cookmeyer, Steven AP. Alanine scanning mutagenesis of a plant virus movement protein identifies three functional domains. *The Plant Cell*, 1993, 5: 973~982
- [2] Mushegian AR, Koonin EV. Cell to cell movement of plant virus. *Arch Virol*, 1993, 133: 239~257
- [3] Sanchez Navarro J, Miglino R, Ragozzino A, et al. Engineering of alfalfa mosaic virus RNA 3 into an expression vector. *Arch Virol*, 2001, 146(5): 923~939
- [4] Tenllado F, Bol JF. Genetic dissection of the multiple functions of alfalfa mosaic virus coat protein in viral RNA replication, encapsidation and movement. *Virology*, 2000, 268(1): 29~40
- [5] Tamai A, Meshi T. Tobamoviral movement protein transiently expressed in a single epidermal cell functions beyond multiple plasmodesmata and spreads multicellularly in an infection coupled manner. *Mol Plant Microbe Interact*, 2001, 14(2): 126~134
- [6] Yang Y, Ding B, Baulcombe D C, et al. Cell to cell movement of the 25K protein of potato virus X is regulated by three other viral proteins. *Mol Plant Microbe Interact*, 2000, 13(6): 599~605
- [7] Kotlizky G, Boulton M I, Pitalsothepong C, et al. Intracellular and intercellular movement of maize streak geminivirus V1 and V2 proteins transiently expressed as green fluorescent protein fusions. *Virology*, 2000, 274(1): 32~38
- [8] Boyko V, Fernalli J, Ashby J, et al. Function of microtubules in intercellular transport of plant virus RNA. *Nat Cell Biol*, 2000, 2(11): 826~832
- [9] Lough T J, Netzler N E, Emerson S J, et al. Cell to cell movement of potexvirus: evidence for a ribonucleoprotein complex involving the coat protein and first triple gene block protein. *Mol Plant Microbe Interact*, 2000, 13(9): 962~974
- [10] Akzhanova D V, Hagiwara Y, Peremyslov V V, et al. Genetic analysis of the cell to cell movement of beet yellows closterovirus. *Virology*, 2000, 268(1): 192~200
- [11] Cohen Y, Qu F, Gisel A, et al. Nuclear localization of turnip crinkle virus movement protein p8. *Virology*, 2000, 273(2): 276~285
- [12] Satoh H, Matsuda H, Kawamura T, et al. Intracellular distribution, cell to cell trafficking and tubule inducing activity of the 50kDa movement protein of apple chlorotic leaf spot virus fused to green fluorescent protein. *J Gen Virol*, 2000, 81(pt8): 2085~2093
- [13] Erhardt M, Morant M, Ritzenthaler C, et al. P42 movement protein of Beet necrotic yellow vein virus is targeted by the movement proteins P13 and P15 to punctate bodies associated with plasmodesmata. *Mol Plant Microbe Interact*, 2000, 13(5): 520~528
- [14] Chu M, Desvoyess B D, Turina M, et al. Genetic dissecting of tomato bushy stunt virus p19 protein mediated host dependent symptom induction and systemic invasion. *Virology*, 2000, 266(1): 79~87
- [15] Nagano H, Mise K, Okuno T, et al. The cognate coat protein is required for cell to cell movement of a dimeric brome mosaic virus mediated by the cucumber mosaic virus movement protein. *Virology*, 1999, 265(2): 226~234
- [16] Fujita M, Mise K, Furusawa I. Expression and characterization of the 3a movement protein of cowpea chlorotic mottle bromovirus. *Arch Virol*, 1999, 144(12): 2449~2456
- [17] Ward B M, Lazaowitz S G. Nuclear export in plants. Use of geminivirus movement proteins for a cell based export assay. *Plant Cell*, 1999, 11(7): 1267~1276
- [18] Andrejeva J, Puurand U, Merits A, et al. Potyvirus helper component proteinase and coat protein (CP) have coordinated functions in virus host interactions and the same CP motif affects virus transmission and accumulation. *J Gen Virol*, 1999, 80(5): 1133~1139
- [19] Grieco F, Castellano M A, Di Sarsebastiano G P, et al. Subcellular localization and in vivo identification of the putative movement protein of olive latent virus 2. *J Gen Virol*, 1999, 80(5): 1103~1109
- [20] Soloviyev A G, Savenkov E I, Gardzelishvi V Z, et al. Movement of hordelevirus hybrids with exchanges in the triple gene block. *Virology*, 1999, 253(2): 278~287
- [21] Vitaly Citovsky, Patricia Zambryski. How do plant virus nucleic acid move through intercellular connections? *BioEssays*, 1991, 13

- (8): 373~ 379
- [22] MirHuei Chen, Jinsong Sheng, Geoffrey Hind, et al. Interaction between the tobacco mosaic virus movement protein and host cell pectin methylsterases is required for viral cell to cell movement. The EMBO Journal, 2000, 19(5): 913~ 920
- [23] Elisabeth Wajmann, Chen Minhuei, Radostina Bachmaier, et al. Regulation of plasmodesmal transport by phosphorylation of tobacco mosaic virus cell to cell movement protein. The EMBO Journal, 2000, 19(18): 4875~ 4884
- [24] Akabekov J G, Malysenko S I, Morozov Yus, et al. Identification and study of tobacco mosaic virus movement function by complementation tests. Philos Trans R Soc Lond B Bio Sci, 1999, 354(1383): 629~ 635
- [25] Nagano H, Mise K, Okuno T, et al. The cognate coat protein is required for cell to cell movement of a chimeric bromo mosaic virus mediated by the cucumber mosaic virus movement protein. Virology, 1999, 265(2): 226~ 234
- [26] Ryabov E V, Roberts I M, Palukaitis P, et al. Host specific cell to cell and long distance movements of cucumber mosaic virus are facilitated by the movement protein of groundnut rosette virus. Virology, 1999, 260(1): 98~ 108
- [27] Cooper B, Schmitz I, Rao A L, et al. Cell to cell transport of movement defective cucumber mosaic viruses in transgenic plants expressing heterologous movement protein genes. Virology, 1996, 216(1): 208~ 213
- [28] Morozov Syu, Fedorkin O N, Juttner G, et al. Complementation of a potato virus X mutant mediated by bombardment of plant tissues with cloned viral movement protein genes. J Gen Virol, 1997, 78 (Pt8): 2077~ 2083
- [29] Nagano H, Mise K, Furusawa I, et al. Conversion in the requirement of coat protein in cell to cell movement mediated by the cucumber mosaic virus movement protein. J Virol, 2001, 75 (17): 8045~ 8053
- [30] Kahn TW, Lapidot M, Heinlein M, et al. Domains of the TMV movement protein involved in subcellular localization. Plant J, 1998, 15(1): 15~ 25

The Progress in Research on Plant Virus Cell-to-cell Movement

Zheng Wenguang¹ Wang Xiaowu¹ Gao Bida²

(1 Institute of Vegetable & Flower CAAS Beijing 100081)

(2 Department of Plant Protection Hunan Agricultural University Changsha 410128)

Abstract This article concludes the classification of movement protein(MP), the two forms of virus during cell-to-cell movement, the mechanism of MP mediating plant virus cell-to-cell movement in its host and its downr regulation by phosphorylation; and the way of complementary assay and deletion mutation to analyse the functional section of MP is discussed.

Key words Movement protein Plasmodesmal Pectin methylsterases (PME) Plant virus Cell-to-cell movement