

某些植物病毒基因组内 tRNA-样结构

蒋秉坤 沈 蓉 夏 俊 赵学海

(蚌埠医学院生化教研室)

提 要

某些植物病毒基因组的 3' 末端含有能接受缬氨酸的 tRNA-样结构。已经测定了它们相应区域核苷酸残基顺序, 根据碱基配对原则可以折叠成不同于 tRNA 的二级结构, 与标准 tRNA^{val} 比较时发现了某些共同的结构特点。tRNA-样结构的可能功能尚属推测。

核酸分子的核苷酸顺序的研究在最近的 10 年里取得了很大进展^[1-6], 这对于了解它们的生物学性质迈出了重要的一步。已经研究过的细胞 mRNA 和病毒 RNA 的结构发现它们的分子内均含有不翻译的核苷酸顺序。真核 mRNA 和病毒 RNA 5' 末端除“帽”结构外, 还有一个长度不等的不均一的不翻译核苷酸顺序; 3' 末端有 50—200 个多聚腺苷酸残基, 紧靠它的左侧也有长度不等的不翻译核苷酸顺序。大部分植物病毒基因组 RNA 的 3' 末端都没有多聚腺苷酸残基串, 只有 200 个核苷酸左右不翻译的顺序^[7]。

Pinck 和 Yot(1970)^[8,9] 首先报道一种含有 RNA 的植物病毒, 芜菁黄花叶病毒(turnip yellow mosaic virus, TYMV), 它具有和 tRNA 相似的氨酰化作用, 能特异性地与缬氨酸结合。其它 RNA 病毒基因组的氨酰化作用也已经陆续被证实, 但这不是普遍的现象, 许多病毒 RNA 并不被酯化。对某些病毒 RNA 接受氨基酸区域核苷酸顺序的测定和比较之后, 惊奇地发现除 3' 末端 C-C-(A) 外, 在相应的位置上并不含有一般 tRNA 所“恒有”的核苷酸顺序。根据这些顺序资料所建造的二级结构也不和典型 tRNA 的三叶草模型相似。因此 Pinck 和 Yot 创用“tRNA-样结构”(tRNA-

like structure) 这一新的术语来表达 TYMV-RNA 3' 末端区域的结构和功能特点。

本文就病毒 RNA 的氨酰化作用、芜菁黄花叶病毒组病毒 3' 末端 tRNA-样结构以及 tRNA-样结构的可能作用等问题的研究进展综述如下。

一、病毒 RNA 的氨酰化作用

Pinck 和 Yot (1970) 从中国白菜叶中分离 TYMV-RNA, 其分子量为 2×10^6 daltons。当把 RNA 与 ¹⁴C-Val, ATP 和细菌无细胞提取物(无内源性 RNA 和游离氨基酸)共育后, 其结果发现只有缬氨酸通过酯键结合到 TYMV-RNA 3' 末端。应用其它三磷酸核苷不能取代 ATP, 这些结果表明在此反应中的酶是缬氨酰-tRNA 合成酶(Val-tRNA synthetase)。已经确定病毒 RNA 3' 末端腺苷酸的 2' 或 3' 羟基通过酯键与缬氨酸结合。酵母、植物和动物的缬氨酰-tRNA 合成酶同样能催化 TYMV-RNA 的氨酰化作用。CYVV 和 KYMV-RNA 只能酯化缬氨酸, TYMV、OYMV 和 APLV-RNA 还可以酯化其它氨基酸, 这可能是因为污染了宿主细胞 tRNA 的缘故^[7,10,11]。其它病毒基因组 RNA 体外试验也能酯化某些氨基酸(表 1)。

表 1 病毒基因组 RNA 接受氨基酸的活性

病 毒	氨基酸
植物病毒	
芜菁黄花叶病毒组 (tymovirus)	
芜菁黄花叶病毒 (TYMV)	缬氨酸
可可黄花叶病毒 (CYMV)	缬氨酸
茄子花叶病毒 (EMV)	缬氨酸
秋葵花叶病毒 (OMV)	缬氨酸
野黄瓜花叶病毒 (WCMV)	缬氨酸
安第斯马铃薯隐潜病毒 (APLV)	缬氨酸
蝶豆黄脉病毒 (CYVV)	缬氨酸
肯尼迪黄花叶病毒 (KYMV)	缬氨酸
芒柄花黄花叶病毒 (OYMV)	缬氨酸
烟草花叶病毒组 (tobamovirus)	
烟草花叶病毒 (TMV)	组氨酸
烟草花叶病毒豇豆株 (CcTMV)	缬氨酸
雀麦花叶病毒组 (bromovirus)	
雀麦花叶病毒 (BMV)	酪氨酸
蚕豆斑驳病毒 (BBMV)	酪氨酸
豇豆褪绿斑驳病毒 (CCMV)	酪氨酸
黄瓜花叶病毒组 (cucumovirus)	
黄瓜花叶病毒 (CMV)	酪氨酸
动物病毒	
微核糖核酸病毒组 (picornavirus)	
门哥病毒 (mengovirus)	组氨酸
脑心肌炎病毒 (EMCV)	丝氨酸

在蛋白质生物合成体系中除氨酰 tRNA 合成酶之外,还有其它一些特异性酶能与 tRNA 反应以修饰某些核苷酸,或完成 3' 末端 C-C-A 顺序等。例如, tRNA-核苷酰转移酶 (tRNA-nucleotidyl transferase), 能在 tRNA 前体 3' 末端或由于外切酶作用后失去 C-C-A 末端的 tRNA 分子上加 2 个胞苷酸和 1 个腺苷酸残基。 tRNA-甲基转移酶 (tRNA-methyl transferase), 植物病毒 RNA 除 5' 末端“帽”结构外不含有甲基或修饰核苷酸,用 tRNA-甲基转移酶可以在 TYMV-RNA 分子上加 1 个或 2 个甲基,但甲基的位置尚未确定。RNase P, 来自大肠杆菌核糖体的酶制剂中含有 RNase P, 它与 tRNA 前体的加工有关,同时也能使病毒 RNA 的 3' 末端裂解释放一个 4.5S 的片段和肽链延长因子 (eEF-1 和 EF-Tu) 等。综上所述,病毒 RNA 不仅能被特异性氨酰化作用,而且其它 tRNA-特异酶或因子也可以和

它相互作用,这提示病毒基因组 RNA 必然具有与 tRNA 相似的结构。如果这样的类似碱基顺序并不存在,人们期待它能有三叶草样构型或者至少在三度空间上具有 tRNA 所取的 L 型特征。Haenni 等 (1982) 和 Joshi 等 (1983) 对各种病毒 RNA 的 tRNA-样结构曾作过广泛地评述,下面拟着重讨论植物病毒中芜菁黄花叶病毒组 RNA 的 tRNA-样结构的某些研究进展。

二、芜菁黄花叶病毒组病毒 RNA 3' 末端 tRNA-样结构

芜菁黄花叶病毒组的病毒含有分子量约为 2×10^6 daltons 的基因组 RNA。目前已知有 16 种病毒属于这组的成员。两组科学家 (Briand, 1977^[12]; Silberklang, 1977)^[13] 几乎同时分别发表了 TYMV-RNA 3' 末端的 159 个和 112 个核苷酸的排列顺序,并且提出稍有不同的可能二级结构。其后 Rietveld (1982)^[14] 进一步根据化学修饰和酶消化方法研究的结果提出 TYMV-RNA 3' 末端 tRNA-样结构模型 (图 1)。另外几个成员,肯尼迪黄花叶病毒 (Ke-

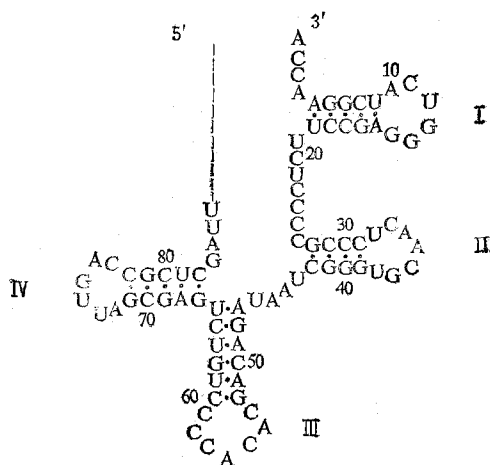


图 1 TYMV-RNA 3' 末端 tRNA-样结构。发夹样结构编号为 I、II、III 和 IV。数字代表核苷酸残基位置

nedy yellow mosaic virus, KYMV)、蝶豆黄脉病毒 (Clitoria yellow vein virus, CYVV)、芒柄花黄花叶病毒 (Ononis yellow mosaic

表 2 某些病毒 RNA 3' 末端核苷酸顺序

	90	80	70	60	50	40	30	20	10
(1) 5'	AUCGUUAGCU	CGOCAGUUAG	CGAGGUCUGU	CCCCACACGA	CAGAUAAUCG	GGUGCAACUC	CCGCCCCUUU	UCCGAGGGUC	AUCGGAACCA
(2) 5'	UUUA	GUUGCCAGUG	CGACACCCGU	UCCCACACAA	CGGGCAUGGG	UGCAACUCC	CCGUCCACU	CUGGACGGUC	ACCAGGACCA
(3) 5'	UCU	CUCG??	AGUG	CGAGGCCAU	UCACACACAA	UGGGUAUUGG	GUGCAACCC	CCGUCCACU	UCCGAGGGUC
(4) 5'	UAAA	UAUGACCCGU	GUCAUAGCCU	CUAGCACACA	GAGGUCGCGU	GGGUUCAAUC	CCCCCCUUU	UCCGAGGGUA	UCCGAAACCA
(5) 5'	AAU	GAAGGCAGUC	CUUCUCCUUC	UAGCACACAA	AGGUCAAAUG	GGUGCGACUC	CCCCCCUUU	UCCGAGGGUA	UCCGAAACCA
(6) 5'	GGAACUACAG	UUCGCUCCU	CUAGCACACA	GAGGUCAAU	GGUGCGACC	CCCCCCUUC	CCGUGGGUA	ACGGAAACCA	

(1) TYMV (芜菁黄花叶病毒) RNA (2) KYMV (肯尼迪黄花叶病毒) RNA (3) CYVV (蝶虫黄脉病毒) RNA (4) OYMV (芒果花黄花叶病毒) RNA (5) APLV (安第斯马铃薯隐潜病毒) RNA (6) EMV (茄子花叶病毒) RNA

virus, OYMV)、安第斯马铃薯隐潜病毒 (Andean potato latent virus, APLV) 和茄子花叶病毒 (Eggplant mosaic virus, EMV) RNA 的 3' 末端片段的核苷酸顺序也已先后被测定^[11,15-17]。六种病毒 RNA 3' 末端核苷酸顺序资料汇集于表 2。

参照 Rietveld (1982) 关于 TYMV-RNA 3' 末端 tRNA-样结构模型, 根据 A·U、C·G 碱基配对的原则均可以折叠成十分相似的 tRNA-样结构。

六种芜菁黄花叶病毒 RNA 3' 末端的 tRNA-样结构 (以下简称 tRNA-样结构) 有如下特点: (1) tRNA-样结构和典型 tRNA (例如 tRNA^{val}) 的共同特征是它们无一例外地有 C-C-(A)_{OH} 3' 末端碱基顺序, 缬氨酰化作用发生在其末端的腺苷上。一般说来同一组病毒能够酯化相同氨基酸, 但也有例外, 烟草花叶病毒

组的豇豆株 (Cowpea strain of TMV) 结合赖氨酸而不是缬氨酸。(2) 病毒 RNA 3' 末端区域的碱基顺序差别很大, 有许多碱基的取代或脱失 (参见表 1)。(3) tRNA-样结构的发夹 II、III 和 IV 区域与 tRNA 的 T ϕ C、反密码子环和双氢尿嘧啶环相应区域相似, 和典型 tRNA “三叶草” 结构不同的是具有发夹 I 结构区域。5' 末端不参与 tRNA-样结构的组成是另一不同之处。(4) tRNA-样结构中的反密码子 CAC 处于相当反密码子环的 CACAC 顺序中, 与 tRNA^{val} 的反密码子 (CAC) 相同。(5) 发夹 I 单链区域碱基 (GGG 或 GGCA) 与发夹 II 的 3' 侧单链区域碱基 (CCC 或 UGCC) 高度保守和可以配对, 通过 3 个双螺旋片段的共轴堆积构成 tRNA-样结构的氨基酸接受臂 (图 2-b)。(6) 在 tRNA-样结构的三度空间相互关系中, 螺旋 I 和 II 的连续堆积, 与上面 (5) 项的碱基配对构成由 12 个碱基对组成的氨基酸接受臂; 另一方面, 螺旋 III 和 IV 碱基对的堆积组成含有反密码子的第二个区域。两者分别指向对侧, 与标准 tRNA 的 L 形排列相似 (图 2)^[11,18]。(7) tRNA-样结构是怎样被缬氨酰-tRNA 合成酶所认识的呢? 从结构研究的资料发现, 芜菁黄花叶病毒组 RNA 的 3' 末端 tRNA-样结构的反密码子环的 3' 侧 ACA 碱基序列高度保守性, 这个部位正好与反密码子 CAC 有部分重叠, 因而推测这个区域在缬氨酰-tRNA 合成酶的特异性识别上具有重要作用。

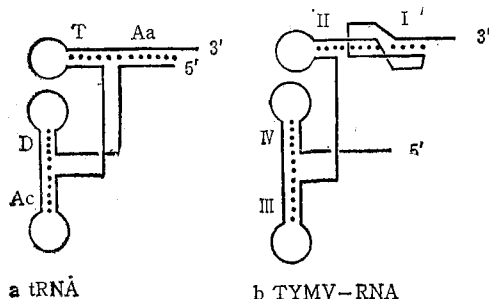


图 2 tRNA 和 TYMV-RNA 的 tRNA-样结构的 “L” 形排列示意图。Aa 为氨基酸接受臂; T = T ϕ C 干和环; Ac = 反密码子干和环; D = 双氢尿嘧啶干和环; I~IV 与图 1 相同。

三、病毒 tRNA-样结构的可能作用

病毒基因组 RNA 3' 末端的 tRNA-样结构和典型的 tRNA 相比,无论是一级结构或二级结构均十分不同,但却能被同一个酶系统(tRNA-特异酶)所认识,说明它们在遗传信息的传递上具有重要意义。尽管近年来对 tRNA-样分子构象的理解方面取得一些重要进展,然而对于这种结构在病毒生命周期中的功能仍是推测。

tRNA-样结构能为蛋白质生物合成运送氨基酸。病毒感染和体外实验均证明 tRNA-样结构有氨酰化作用;TYMV 和 EMV-RNA 的 3' 末端存在分子量为 0.24×10^6 dalton 的亚基因组,它同样可以结合缬氨酸。在依赖于核糖体和蛋白质生物合成体系中运送氨基酸,或者与蛋白质生物合成机器的某些因子结合成复合物,像 tRNA 那样充当转运氨基酸的作用。但是由于 tRNA-样结构的大小不一,缺乏 tRNA 的双氢尿嘧啶环和 T ϕ C 环的结构特点,以及与 GTP 结合成复合物的力量很弱等,不允许它有效地占据在核糖体上的适当的位置,因此人们很难相信病毒基因组 RNA 3' 末端的 tRNA-样结构在酯化同源氨基酸上有任何重大的生物学意义。

Florentz 等(1984)^[19]认为 TYMV-RNA 3' 末端的 tRNA-样结构在基因表达上是一种调节信号。他们提出某些植物病毒 RNA 的 3' 和 5' 末端之间可能的碱基配对模型。在此模型中 tRNA-样结构存在于病毒 RNA 的 3' 末端,通过细胞的缬氨酰-tRNA 合成酶与它的相互作用而成为病毒 RNA 翻译的增强子(enhancer)。在感染的细胞内,TYMV 基因组 RNA 可能有两种存在形式,开环型和闭环型。受细胞内局部条件改变的影响可处于平衡状态。缬氨酰-tRNA 合成酶与开环或闭环 RNA 相互作用,使 RNA 趋于开环型。开环线形 RNA 分子的起始密码子 AUG 得以游离,病毒 RNA 的翻译即可进行。

tRNA-样结构在病毒的复制上可能也有某

种意义,这种推测是基于 Rous 肉瘤病毒(RSV)基因组 RNA 上结合着小分子 tRNA 充当逆转录过程中的引物这一众所周知的事实。可能还有其它一些调节作用,例如已经知道 tRNA 具有多形性(pliotropic),能在多肽链 N-末端上加 1 个氨基酸,起始 RNA 肿瘤病毒的逆转录作用,调节鼠伤寒沙门氏菌(*S. typhimurium*)组氨酸操纵子和参与细菌细胞壁肽的合成等。因而人们同样期望在病毒感染细胞内,tRNA-样结构可能会具有上述的某种或某几种作用。对病毒感染细胞的不同代谢途径的研究将可能深入了解 tRNA-样结构的意义。

致谢 顾钧秀老师审阅并提出宝贵意见特致谢意。

参 考 文 献

- [1] Maxam, A. M. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1977, **74**, 560.
- [2] Sanger, F.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1977, **74**, 5467.
- [3] Brownlee, G. G. et al.: *J. Mol. Biol.*, 1977, **144**, 93.
- [4] Simorecatis, A. et al.: *Nature*, 1977, **269**, 833.
- [5] Donis-Keller, H.: *Nucleic Acids Res.*, 1979, **7**, 179.
- [6] Peattie, D. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1979, **76**, 1760.
- [7] Haenni, A. -L. et al.: *Progress in Nucleic Acids Research and Molecular Biology*, 1982, **27**, 85.
- [8] Pinck, M. et al.: *Nature*, 1970, **226**, 954.
- [9] Yot, P. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1970, **67**, 1345.
- [10] Joshi, S. et al.: *TIBS*, 1983, 402.
- [11] van Belkum, A. et al.: *Biochemistry*, 1987, **26**, 1144.
- [12] Briand, J. P. et al.: *Eur. J. Biochem.*, 1977, **72**, 453.
- [13] Silberklang, M. et al.: *Eur. J. Biochem.*, 1977, **72**, 465.
- [14] Rietveld, K. et al.: *Nucleic Acids Res.*, 1982, **10**, 1929.
- [15] 蒋秉坤:《蚌埠医学院学报》,1986,**11**,8.
- [16] 蒋秉坤:《蚌埠医学院学报》,1987,**12**,248.
- [17] Briand, J. P. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1976, **73**, 737.
- [18] Joshi, R. L. et al.: *The EMBO Journal*, 1983, **2**, 1123.
- [19] Florentz, C. et al.: *FEBS*, 1984, **176**, 295.

[本文于 1988 年 2 月 2 日收到]