

## 卫星病毒和卫星 RNA 研究近况

康良仪

(中国科学院微生物研究所, 北京)

### RECENT DEVELOPMENT IN RESEARCH OF SATELLITE VIRUS AND SATELLITE RNA

Kang Liang-yi

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing)

在 RNA 植物病毒中, 有些病毒包含两种相关的, 但在抗原上又完全不同的病毒颗粒, 一种是它本身的较大的颗粒, 另一种是较小的病毒颗粒; 有些病毒的病毒粒子中, 除包含它的基因组 RNA 外, 还含有一种与病毒基因组一起包壳的小分子 RNA。这些小病毒颗粒的 RNA 或与病毒基因组一起包壳的小分子 RNA 与各自有关的病毒基因组或寄主基因组核苷酸序列没有同源性, 也不能单独侵染和复制, 必须依赖它们有关的病毒复制。前者称谓卫星病毒, 后者称谓卫星 RNA, 统称为病毒卫星, 而与其相应的有关病毒则称谓辅助病毒。因为病毒卫星依赖其辅助病毒复制、又干扰辅助病毒复制, 多数还能改变由其辅助病毒引起的寄主植物病状, 又把病毒卫星看作是分子寄主物<sup>[1, 2, 3]</sup>。

由于病毒卫星的 RNA 分子量小 (约  $0.8-5 \times 10^5$  道尔顿), 便于研究, 以及病毒卫星、辅助病毒和寄主三者存在的特殊关系, 近年来又利用卫星 RNA 防治病毒病取得了显著的防病增产效果, 因而引起了病毒学和分子生物学工作者的极大兴趣<sup>[4, 5, 6]</sup>。

### 病毒卫星的鉴别及其性质

40年代初, 英国 Bawden 等<sup>[7]</sup>在研究一些烟草坏死病毒 (TNV) 的分离物时, 发现其中有的病毒含有大小不同和沉降速率有别的两种核蛋白颗粒, 他们设想较小的病毒颗粒是由较大的病毒颗粒产生的。60年代初, 英国 Kassanis 等<sup>[8]</sup>证实, TNV 中较大的病毒颗粒 (直径约 30nm) 能自身复制, 而较小的病毒颗粒 (直径约 17nm), 不能单独侵染和复制, 只有较大的颗粒存在时才能复制, 而且两种病毒颗粒在抗原上完全不同。因此把较小一种病毒颗粒称谓卫星病毒 (STNV), 把较大的病毒颗粒称谓辅助病毒。进一步实验证明, 这种卫星病毒的 RNA 由 1239 个核苷酸组成, 只能为其本身编码一种 195 个

氨基酸的外壳蛋白。它的 RNA 在体内外很稳定, 具有高度的碱基配对, 3'-端有两个象三叶草的结构。

用 RNA 竞争杂交证明, 它们之间只有 2% 核苷酸序列同源, 说明它们之间的共同序列不到 30 个核苷酸。除烟草坏死病毒 (TNV) 外, 已证实稷子花叶病毒 (PMV) 和玉米白条花叶病毒 (MWLMV) 也含有卫星病毒。

1972 年, 法国番茄上发生一种致死性坏死病害。研究结果证明是由黄瓜花叶病毒 (CMV) 引起的, 奇怪的是由这种 CMV 引起的植物病状与普通的 CMV 引起的病状不一样。在温室接种实验证明, 这种 CMV 在番茄上引起各种病状, 有致死性坏死, 有蕨叶病状, 也有完全无病状的。由它引起的番茄坏死程度以保存它的寄主不同而有异, 当将其保存在烟草和番茄上时, 一般是加重坏死反应, 而保持在黄瓜上时则病状减轻。此后在其中的一个株系 CMV-S 中发现提纯的 CMV 制备物中, 除含有基因组 RNA<sub>1</sub>, RNA<sub>2</sub>, RNA<sub>3</sub> 和一种为其外壳蛋白编码的亚基因组 RNA<sub>4</sub> 外, 还含有一种较小的第五种 RNA 组份 (RNA<sub>5</sub>)。当将 CMV-S 在三生烟上繁殖时, RNA<sub>5</sub> 占的比例增加, 在南瓜上繁殖时则大大减少。1976 年, 美国 Kaper 等<sup>[9]</sup>指出, RNA<sub>5</sub> 是一种缺损的, 与 CMV-S 有关的象卫星 RNA, 称谓 CARNA<sub>5</sub>, 且观察到 CMV 引起的番茄坏死程度与 CMV-S 中 CARNA<sub>5</sub> 占的比例高低有关, 而且坏死程度和 CARNA<sub>5</sub> 占的比例高低又与病毒在寄主上转接的历史有关, 并确定 CMV-S 中的 CARNA<sub>5</sub> 就是引起番茄致死性坏死的因子。然而, 将它接种在三生烟和青椒上时, 所引起的植物病状比不含卫星 RNA 的 CMV 引起的病状轻得多。此后又找到了能减轻辅助病毒引起的植物病状的卫星 RNA。目前在黄瓜花叶病毒组中至少发现了 10 种不同的卫星 RNA 分离物, 多数已确定了核苷酸序列, 约由 334-386 个核苷酸组成, 且证明不同卫星 RNA 分离物的核苷酸之间有高度的序列同源性。其中只有 CMV-S 株卫星 RNA 在体外能合成两个小的多肽, 但不知其功能, 多数卫星 RNA 不具备编码蛋白质的能力, 必须借助其辅助病毒, 与其辅助病毒一起包壳在相同的病毒颗粒中, 因此在抗原上是不能区分的。卫星 RNA 的核苷酸序列与其辅助病毒基因组没有同源性。

除黄瓜花叶病毒组中的卫星 RNA 外, 在蠕传病毒组中发现了烟草环斑病毒卫星 RNA (TobrV 卫星 RNA)、番茄黑环病毒卫星 RNA (TBRV 卫星 RNA) 等 8 种病毒的卫星 RNA; 在番茄丛顶病毒组中, 发现了番茄丛顶矮化病毒卫星 RNA (TBSV 卫星 RNA) 和芜菁绉缩病毒卫星 RNA (TCV 卫星 RNA)。此外, 还发现四种带有大豆花叶病毒组 (Sobemoviruses) 许多性质的病毒, 即绒毛烟斑驳病毒 (VTMoV)、莴苣斑驳病毒 (SNMV)、苜蓿暂时性条斑病毒 (LTSV) 和地下三叶草斑驳病毒 (SCMoV), 这四种病毒均有一线状、单链, 约由 4500 核苷酸组成的基因组 RNA (RNA<sub>1</sub>) 和两种小 RNA, 其中一种是共价闭合环状分子 (RNA<sub>2</sub>), 另一种是大小和碱基序列均与 RNA<sub>2</sub> 相同的线状 RNA (RNA<sub>3</sub>), 这两种小 RNA 约 324-386 核苷酸长, 与 RNA<sub>1</sub> 均无碱基序列同源性。四种病毒的 RNA<sub>2</sub> 和 RNA<sub>3</sub> 某些性质象类病毒, 曾被称为拟病毒或壳内类病毒 (Virusoid)。说它们象类病毒是指这些 RNA 分子的大小, 具备环状结构, 有高度的碱基配对和体外无信使功能等象类病毒, 但它们的 RNA<sub>2</sub> 不能单独侵染和复制, 必须依赖 RNA<sub>1</sub> 进行复制和包壳, 说明 RNA<sub>2</sub> 是一种卫星 RNA, 故称谓象类病毒的卫星 RNA。RNA<sub>3</sub> 则

是 RNA<sub>2</sub> 的线状形式。

总之,从目前植物病毒中发现的病毒卫星看,卫星病毒和卫星 RNA 的共同特性是它们都不能单独侵染和复制,必须依赖辅助病毒,卫星病毒的 RNA 和卫星 RNA 与它们各自的辅助病毒基因组核苷酸序列都没有同源性。但卫星病毒具备为自身外壳蛋白编码的能力,和其辅助病毒在抗原上属两种完全不同的病毒颗粒,而卫星 RNA 不具备为其编码外壳蛋白的能力,必须借助辅助病毒和与辅助病毒基因组包壳在相同的病毒颗粒内,在抗原上与辅助病毒不能区分;卫星病毒和卫星 RNA 都能干扰其辅助病毒的复制,多数能改变辅助病毒引起的寄主病状表现,或者减少病斑数,使病斑变小,或者完全无病状。已发现的病毒卫星多数是在球状多面体,二分段或多分段基因组病毒中,值得注意的是最近在棒状病毒 TMV 组中也发现有卫星病毒,它是一种分子量约  $0.3 \times 10^6$  单链 RNA,包壳在它自己编码的外壳蛋白中(分子量约 22KD)形成一种直径约 17nm 的球状颗粒。它的天然辅助病毒是 TMV-U<sub>6</sub>, TMV-U<sub>1</sub> 也能辅助其复制,但没有改变辅助病毒引起的病状的作用。

## 利用卫星 RNA 防治病毒病

如上所述,卫星 RNA 依赖辅助病毒复制,又干扰辅助病毒复制,改变辅助病毒引起的寄主病状表现,被看作是一种分子寄生物,近年来利用黄瓜花叶病毒(CMV)卫星 RNA 防治由 CMV 引起的青椒和番茄上的病毒病取得了显著的增产效果<sup>[5, 6]</sup>。利用卫星 RNA 防治病毒病特异性强。无公害,无环境污染,可保护天敌和改善生态平衡,具有明显的生防制剂的优越性。用作生防制剂的卫星 RNA,可从天然选择,也可人工构建。

然而,利用卫星 RNA 防治病毒病也必须注意:第一,在卫星 RNA 生防制剂生产过程中,由于在寄主植物上经过多次转接或经多种寄主植物上转接复制,卫星 RNA 有可能产生某种不利于人类的突变;第二,已经和病毒结合在一起的、能引起坏死的微量卫星 RNA 在某些寄主植物上转接复制时会很快占优势,因此生产卫星 RNA 生防制剂时必须严格把关、检查、测试,以及时防止这种危险性出现。防止这种危险性出现的有效方法是将有防病效果的卫星 RNA 做成 cDNA 克隆,用克隆后的卫星 RNA 转录物构建卫星 RNA 生防制剂,无疑也可用卫星 RNA 的 cDNA 直接转化植物。最近<sup>[10]</sup>已将一种黄瓜花叶病毒卫星 RNA 的 cDNA 组建到 Ti 质粒,并成功地转化到烟草植物,再生的转化植物能产生含卫星 RNA 的转录产物,这些转录产物能被 CMV 诱导的复制体系识别、复制和加工,而且转化植物还具有抵抗不含卫星 RNA 的 CMV 侵染的能力。已知 CMV 能侵染 774 种植物之多,其中很多是重要的农作物、果林类,可望利用基因工程技术将卫星 RNA 转化到更多的植物中,既可获得抗病增产的效果,又可保持卫星 RNA 的纯正性。

## 卫星 RNA 防病作用的分子机理

用卫星 RNA 防治病毒病的主要依据是卫星 RNA 能干扰辅助病毒复制,能减轻辅助

病毒引起的寄主病状, 改变其病状表达过程, 这显然是卫星 RNA、病毒和寄主三者直接或间接相互作用的结果。病毒如何能使寄主致病, 卫星 RNA 又如何干扰病毒的致病过程, 其分子机理是什么, 这无疑是在病毒学和分子生物学工作者感兴趣的问题。

Kaper<sup>[4]</sup> 根据 CMV 卫星 RNA 在减轻某些寄主植物上病状表现的同时, 伴随有病毒量减少, 侵染性降低, 病毒 RNA (尤其 RNA<sub>1</sub> 和 RNA<sub>2</sub>) 的合成量随卫星 RNA 合成增加而降低, 以及感病组织中积累大量的卫星双链 RNA 等现象, 提出卫星 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 (系) 和由其编码的外壳蛋白, 而卫星 RNA 复制效率高, 合成速率快, 因而干扰了病毒基因组的复制和包壳, 而未包壳的卫星正链 RNA 又与合成的负链形成稳定的卫星双链 RNA 在组织中积累起来。

至于卫星 RNA 与病毒基因组 RNA 之间直接相互作用的分子机理, 目前认为有两种可能; 第一, 根据 CMV-Q RNA<sub>1</sub> 和 RNA<sub>2</sub> 的 5'-端与其卫星 RNA 5'-端的 18 个核苷酸区有部分互补<sup>[11]</sup> 的分析, 认为它们之间有可能形成分子间的碱基配对, 这样卫星 RNA 的 5'-端与 CMV RNA<sub>1</sub> 和 RNA<sub>2</sub> 的负链 3'-端同源, 二者有可能竞争与复制酶结合, 从而干扰了 CMV RNA<sub>1</sub> 和 RNA<sub>2</sub> 子代正链 RNA 的合成, 这就可以解释, 为什么在卫星 RNA 存在时, 病毒颗粒中基因组 RNA<sub>1</sub> 和 RNA<sub>2</sub> 占的比例小的原因; 第二, CMV-Q 卫星 RNA 有一反意区与病毒外壳蛋白基因形成一稳定的复合物<sup>[12]</sup>, 这样就抑制了外壳蛋白合成, 因而也干扰了病毒复制, 使病毒积累量减少。自然, 这些可能性都需进一步从多方面实验证实。另外感病组织中卫星双链 RNA 的生物学功能也是值得深究的。

## 结 束 语

目前在植物病毒中已发现的卫星病毒有 3 种, 卫星 RNA 有 10 多种, 还将不断有更多的病毒卫星被发现。已有的病毒卫星, 根据其分子大小, 结构及与辅助病毒的关系可分成几种不同的类型。因为病毒卫星能减轻和改变病毒引起的病状表达, 而且已成功地利用卫星 RNA 防治病毒病取得显著的增产效果, 故广泛地寻找更多的病毒卫星 (包括动物和人的病毒), 精心选择, 用于生防制剂防治病毒病, 是项对农牧业, 也许对医用都是项很有价值的工作; 卫星 RNA 又可用作目的基因, 用基因工程技术转化重要的农作物, 有目的地培育抗病毒品种, 为农作物抗病育种开辟新途径; 病毒卫星也是研究寄主细胞内大分子的相互作用的一个简单而理想的模式。再则, 研究病毒卫星的起源问题也是饶有兴味的。因此研究病毒卫星无论在实践上或理论上都是有意义的, 这无疑将有助于人们解决一些生物学上的实践和理论问题。

### 参 考 文 献

- [1] A.F.Murant and M.A.Mayo, 1982, *Ann.Rev.phytopathol.*, 20:49-70.
- [2] R.I.B.Francki, 1985, *Ann.Rev.Microbiol.*, 39:151-174.
- [3] J.M.Kaper, 1983, *Plant Molecular Biology Reports*, 1:2,49-54.
- [4] J.M.Kaper, 1983, in "Control of Virus Disease" Ed. E.Kuratak et al, Marcel Dekker, inc.
- [5] Tien Po and Chang, X.H.1983, *Seed Sci.and Technol.*, 11:969.
- [6] 田波等, 1986, *科学通报* 第31卷第5期, 479.
- [7] Bawden, F.C., Pirie, N.W., 1945, *Br.J.Exp.Pathol.*, 26:277-287.
- [8] Kassanis E., Nixon H.L., 1961, *J.Gen.Microbiol.*, 25:459-471.
- [9] Kaper J.M. et al., 1976, *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, 72:1237-1243.
- [10] Baulcombe D.C. et al., 1986, *Nature* 321:446.
- [11] Rezaian M.A. et al., 1985, *Eur.J.Biochem.*, 150:331.
- [12] Rezaian M.A., and Symons R.H., 1986, *Nucleic Acids Res.*, 14:3229.

## 为噬菌体 $\phi$ X174 正音

$\phi$ X174是Microviridae (小病毒科) Microvirus (小病毒属) 的代表种<sup>[1]</sup>。由Sertic和Boulgakov从巴黎的下水道污物中分离的。至今已有半个多世纪了。半个世纪来对 $\phi$ X174的研究十分活跃。特别在分子遗传学研究中常用它作材料。所以病毒学、分子遗传学等课程的教学中也常提到 $\phi$ X174。然而遗憾的是人们不知它名字的含意和读音。本人调查了一番,发现国内8个省十几所高等院校的老师在讲授中均把 $\phi$ X174读成 $\phi$ x174。而其实X是罗马数字,而不是英文字母。

当年Sertic和Boulgakov一共分离了75株噬菌体。按分离顺序从110开始编号。这些噬菌体株可分成14个抗原型。阿拉伯数字前用罗马数表示抗原型。所以X是第十类抗原型。 $\phi$  (phi)表示这类噬菌体对几种细菌具有毒性。如果只在Salmonella thphi中繁殖,那么用t (tau)开头<sup>[2]</sup>。

### 参 考 文 献

- [1] R.E.F. Matthews, "A Critical Appraisal of Viral Taxonomy".
- [2] H.L.K, Whittehouse "Genetic Recombination" by John wiley & Sons

浙江工学院轻工系裘娟萍