维普资讯 http://www.cqvip.com

77-80

159 (13)

第11卷第1期 中国病毒学 Vol.11 No.1
1996年3月 VIROLOGICA SINICA Mar 1996

一些抗植物病毒剂对烟草花叶病毒衣壳蛋白体外聚合过程的影响*

江 山 郭雪柳 韩熹莱
(北京农业大学基础科技学院,北京 100094)

S432.41

关键词 抗植物病毒剂,烟草花叶病毒,病毒衣壳蛋白,体外聚合

研究表明,有些植物病毒的核酸对寄主植物的侵染活性只有装配完整的病毒颗粒的0.1-1%[1,2]。即使是部分被病毒衣壳蛋白包装的病毒粒子也比相应的完整病毒颗粒对寄主的侵染活性低许多[3]。未被装配的病毒核酸还不能有效地在寄主体内进行长距离的传播[4,5]。作为病毒装配过程的第一步,病毒的衣壳蛋白必须先形成一定程度的多聚体,而后再与病毒核酸进行进一步的装配,使之形成完整的病毒颗粒。因此,对药剂是否干扰病毒衣壳蛋白的聚合过程的研究,成为了解抗植物病毒剂是否作用于病毒颗粒组装过程的重要内容之一。

材料与方法

1 实验材料

1.1 病毒:烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV, sh type),由中国科学院武汉病毒研究所植物病毒研究室提供。用Gooding和Hebert的方法提纯备用[6]。

1.2 实验药物: 1.2.1 NS-83,采用北京农业大学实验药厂的产品。1.2.2 病毒唑(Virazole, 1-β-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide),由湖北天门制药厂提供。纯度>99.9%。1.2.3 DHT (2,4-dioxohexahydro-1,3,5-triazine),纯度>97.5%。1.2.4 DA-DHT (1,5-diacetyl-2,4-dioxohexahydro-1,3,5-triazine),纯度>99.0%。1.2.5 E-30(alkane monosulfonate),烷烃链为C_9~C_{18}的混合物,纯度>95.0%。1.2.6 大豆卵磷脂(soybean lecithin, PC),采用"Serva"的产品。DHT,DA-DHT和E-30均由德国莱比锡大学G.Schuster教授提供。所有的药剂均用0.033 mol/L, pH7.0的磷酸钾缓冲液制备成0.1%的溶液,4℃下保存备用。

2 实验方法

2.1 TMV衣壳蛋白的制备: 采用Fraenkel-Conrat的醋酸法进行TMV衣壳蛋白的制备[7]。经67%醋酸抽提后的病毒衣壳蛋白溶液,在4℃,pH4.6的条件下,用蒸馏水透析96小时后,10 000 g离心30分钟即得提纯的TMV衣壳蛋白。将离心所得的烟草花叶病毒衣壳蛋白沉淀溶于4℃,0.033 mol/L, pH7.0的磷酸钾缓冲液中备用[8]。测得$A_{280}/A_{250}=2.25$。

2.2 抗植物病毒剂对病毒衣壳蛋白体外(*in vitro*)聚合过程的影响: 分别将不同的抗病毒物质及4℃、0.033mol/L, pH7.0的磷酸钾缓冲液加到1.0 ml的衣壳蛋白溶液中,使药剂的最终浓度为0.01%(m V^{-1}),衣壳蛋白的浓度为0.65 mg/ml。参照Shalaby和Lauffer (1967)的方法[8],以等浓度的TMV衣壳蛋白溶液为

本文于1994年12月2日收到,1995年7月20日修回
* 本研究承国家自然基金的支持(项目编号:39470488)

维普资讯 http://www.cqvip.com

参照样本，用岛津 UV-2100 在 320 nm 处进行不同温度下的光谱分析。

结果与讨论

抗植物病毒剂对 TMV 衣壳蛋白体外聚合过程的影响实验结果如图 1 所示。从图中可以

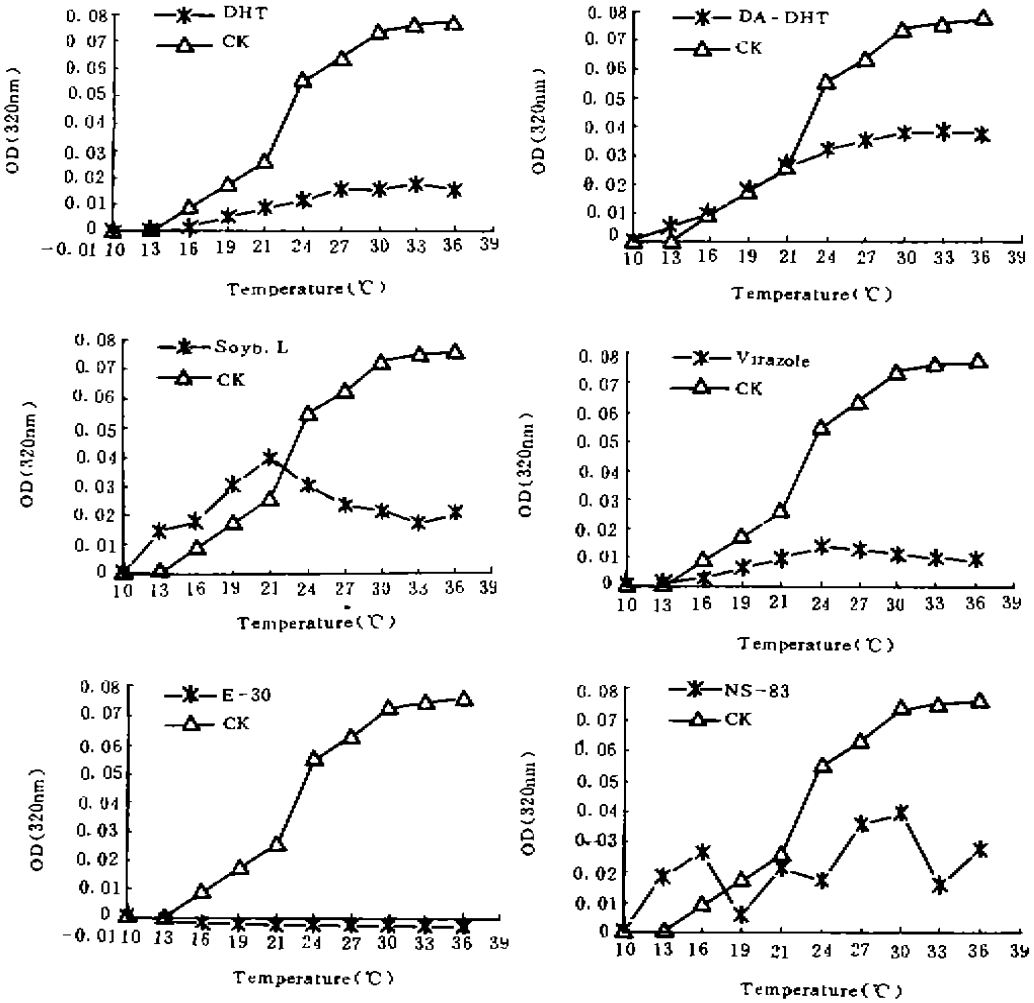

图 1 六种抗植物病毒剂对 TMV 衣壳蛋白体外聚合过程影响的紫外吸光度(320nm)测定结果

Fig 1. The test results of UV(320nm) absorption of six antiphtoviral substances influnce on the TMV coat-protein (CP) polymerization *in vitro*.

看出，当有参试药剂存在时，随温度的升高，病毒衣壳蛋白的 320 nm 吸光度数值增大的趋势，没有对照处理显著。根据已有的研究结果，320 nm 处的 TMV 衣壳蛋白的吸光度与其自身的聚合程度呈正比[8]，而且，TMV 衣壳蛋白的体外聚合程度与温度的变化也呈正比关系[9]。因

维普资讯 http://www.cqvip.com

此，实验说明，参试的六种药剂对烟草花叶病毒衣壳蛋白的体外聚合过程普遍具有一定的干扰作用。其中，E-30 对病毒衣壳蛋白的体外聚合过程有较强的抑制作用。在本实验的初始条件下（4℃，pH7.0，0.033 mol/L，的磷酸钾缓冲液），病毒的衣壳蛋白多是以单体或寡聚体的形式存在[8,9]。随着温度的升高（pH 值不变），病毒衣壳蛋白先聚合成具有双层圆盘结构的 20S 聚合体，然后，再进一步聚合成螺旋形管状堆砌体[9]。对实验结果的进一步分析发现，除 E-30 外，所有的参试药剂在高于 22℃ 时，对烟草花叶病毒衣壳蛋白的体外聚合过程都有一定的干扰作用。其中三种碱基类似物的干扰作用比 NS-83 和大豆卵磷脂要强些，这种作用可能是由于它们与核酸碱基的结构相似，比 NS-83 和大豆卵磷脂更易与病毒衣壳蛋白结合。E-30 在与病毒衣壳蛋白体外聚合过程的相互作用时，吸光度的降低可能是 E-30 的疏水基团与衣壳蛋白有较强的相互作用，引起了原有衣壳蛋白寡聚体解离的结果。结合在研究 E-30 与 TMV 颗粒的直接作用时，曾发现它可引起病毒颗粒的断裂（将另文发表），说明 E-30 对病毒的衣壳蛋白存在较强的相互作用，抗植物病毒物质的这种作用可能不利于病毒粒子的进一步装配。

参 考 文 献

1 Fraenkel-conrat H, Williams R C. Proc Natl Acad Sci U S A, 1955;41:690～698

2 Wyatt, S D, Kuhn C M Highly infectious RNA isolated from cowpeachlorotic mottle virus with low specific infectivity. J Gen Virol, 1977;35: 175～180

3 Fukuda, M. *et al*. Infetivity of partially Encapsidated Tobacco Mosaic Virus RNA. Virology, 1979;95:232～234

4 Siegel, A. *et al*. The isolation of defective tobacco mosaic virus strains. Proc. Natl. Acad. Sci U S A. 1962;48:1845～1851

5 Dawson W O. *et al*. Modifications of the tobacco mosaic virus coatprotem gene affecting replication, movement and symptomatology Phytopatholoy, 1988; 78:783～789

6 Gooding G V, Hebert T T. A simple technique for purificatin of tobacco mosaicvirus in large quantities Phytopathology, 1967;57:1285～1289

7 Fraenkel-Conrat H. Degradation of tobacco mosaic virus with acetic acid. Virology, 1957;4:1～4

8 Smith C E, Lauffer M A. Polymerization-depolymerization of tobacco mosaic virus protein, Ⅲ. Light-Scattering Studies. Biochem, 1967;6: 2457～2464

9 Richards K E, Williams R C. Assembly of tobacco mosaic virus *in vitro*. Compr Viol, 1976;6:1～37

维普资讯 http://www.cqvip.com

Influence of Some Antiphytoviral Substances on the Polymerization (*in vitro*) of Coat Protein of Tobacco Mosaic Virus (TMV)

Jiang Shan Guo Xuiliu Han Xilai

(*College of Basic Science and Technology, Beijing Agricultural University, Beijing* 100094)

The influence of six antiphytoviral substances, including three base analogues and three membrane lipid analogues, on the polymerization of coat protein of tobacco mosaic virus (TMV) was studied under different temperatures *in vitro*. The results demonstrated that all of the tested antiphytoviral substances can restrain the polymerization of TMV coat protein. The base analogues, including DHT, DA-DHT and Virazole, showed suppression to the polymerization process much more than lipid analogues, NS-83 and soybean lecithin. All the inhibition to the polymerization of TMV coat protein were taken place above 22℃ except E-30's. The E-30 have remarkably inhibited the TMV coat protein polymerization. These actions suggested that all of tested antiphytoviral substances would be contributed to pressure the process of virion assembly.

Key words Antiphytoviral substance, Tobacco mosaic virus (TMV), Coat protein, Polymerzation *in vitro*