

竹花叶病毒卫星 RNA 及其编码卫星蛋白的结构与功能*

范树国^{1,2**}, 林纳生², 吴国江¹

(1. 中国科学院华南植物园, 广东广州 510650; 2. 中央研究院植物暨微生物学研究所, 台湾台北 11529)

Structure and Function of Bamboo Mosaic Virus Satellite RNA and its Encoded Satellite Protein

FAN Shu-guo^{1,2**}, LIN Na-sheng², WU Guo-jiang¹

(1. South China Botanical Garden, The Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; 2. Institute of Plant and Microbial Biology, Academia Sinica, Taipei 11529, China)

关键词: 竹花叶病毒; 卫星 RNA; 卫星蛋白; 运动蛋白; 衣壳蛋白; 细胞间移动; 系统性移动

中图分类号: S432.4.1 文献标识码: A 文章编号: 1003-5125(2005)05-0558-06

竹花叶病毒 (*Bamboo mosaic virus*, BaMV) 是目前为止被发现感染竹类惟一的病毒, 除了巴西、夏威夷及琉球有过零星报道外, 台湾对此病毒有较深入的研究^[1-13]。BaMV 在台湾地区的竹类栽培区普遍发生, 可危害 4 个属、14 个种、3 个变种和 3 个栽培种^[14,15], 其中麻竹 (*Dendrocalamus latiflorus* Munro) 和绿竹 (*Bambusa oldhamii* Munro) 遭受危害最为严重, 主要竹产地染病率可高达 90% 以上, 给台湾的竹产业造成了严重危害^[16]。感染此病毒的植株生长受到显著影响, 病害特征为叶片呈黄绿相间的条纹型嵌纹, 尤以心叶最为明显。竹笋和竹杆内部呈褐色条纹病变, 造成竹笋木质化, 发笋率降低, 可影响竹笋产量达 50% 以上。竹杆节间变短, 竹笋和竹材的产量和品质都显著下降, 影响竹材的应用^[14-17]。目前, 竹类主要以无性繁殖法繁殖, 病毒代代相传, 难以根治; 而且该病毒容易经机械传播, 因而造成此病毒在竹栽培区普遍发生。此外, 竹类还有不易开花、开花即死的特性, 这也给竹子的抗病育种带来极大困难, 因此, 几无育种可言, 也无适当的防治方法^[1]。

BaMV 属于马铃薯 X 病毒属 (*Potexvirus*), 其基因组为单股正链的线形 RNA 分子, 全长约 6.4 kb, 具有 5 个 ORF^[1]。BaMV 卫星 RNA (satBaMV) 最早是从泰山竹 (*Bambusa vulgaris* McClure) 分离到的。satBaMV 依赖 BaMV 进行复制和包被, 具有干扰病

毒复制和病症表现的能力。satBaMV 的基因组为单股正链 RNA 分子, 全长 836 个核苷酸, 与 BaMV 的基因组 RNA 没有同源性, 仅在 satBaMV 的 5' 非编码区 (5' UTR) 与 BaMV RNA 的 5' UTR 有 60% 的相似性^[9]。satBaMV 具有 mRNA 活性, 可产生 183 个氨基酸、分子量约 20 kDa 的卫星蛋白 (P20)。P20 非 satBaMV 复制所必需, 不参与 satBaMV 的胞间运动, 但参与其长距离移动, 能促进其在感染烟草中的移动^[13]。本文主要对 BaMV 卫星 RNA 及其编码卫星蛋白的结构与功能作一简要的综述。

1 BaMV 的结构

竹花叶病最早于 1976 年被鉴定为由病毒所引起的病害^[18,19]。1991 年, 国际病毒分类委员会将该病毒定名为竹花叶病毒, 现名 *Bamboo mosaic virus*, BaMV。BaMV 属于马铃薯 X 病毒属^[20-23], 基因组为单股正链的 RNA 分子, 具有一般植物病毒最基本的三类基因产物: RNA 复制酶、由三个重叠基因构成的病毒运动蛋白以及衣壳蛋白^[21]。BaMV 属线形病毒颗粒, 长约 490-510 nm, 基因组全长为 6.4 kb, 5 端具有帽子结构, 3 端具有 poly (A)^[20,21,24], 包含五个主要的 ORF^[21,24], 其中 ORF1 可翻译出 155 kDa 蛋白质, 可能参与病毒的复制。此蛋白具有三个功能区, 分别为位于 N 端的甲基转移酶, 位于中间区段的 RNA 解旋酶和位

收稿日期: 2005-03-28, 修回日期: 2005-05-16

* 基金项目: 中国科学院华南植物园与中央研究院植物暨微生物学研究所博士后合作研究项目 (NSC 90-2321-B-001-001, NSC 91-2321-B-001-002); 中国科学院“百人计划”; 广东省自然科学基金资助项目 (990770, 994487)

** 通讯作者: 范树国 (1965 -), 男, 河北沧州籍, 博士, 副研究员, 研究方向为分子生物学和生物技术。

Corresponding author. Tel: 020-37252750, E-mail: fansg@scbg.ac.cn

于 C 端的 RNA 聚合酶。甲基转移酶与基因组 5 端的加帽反应有关 (5 加帽反应为真核细胞中 mRNA 进行翻译的前提条件,在原核细胞中则无此 5 加帽反应),RNA 解旋酶与核酸的结合有关, RNA 聚合酶与 RNA 的聚合活性、病毒的复制有关^[25]。ORF2、ORF3 和 ORF4 为互相重叠的三基因盒 (triple gene block, TGB),可以翻译出 28 kDa、13 kDa 和 6 kDa 蛋白质,分别称之为 TGBp1、TGBp2 和 TGBp3。研究表明马铃薯 X 病毒属的 TGB 蛋白质参与了病毒的细胞间移动^[26~28],其中 TGBp1 具有核酸结合功能区^[27],并具有离体 ATPase 及 NTPase 活性。TGBp1 具有两种不同的功能型态,在感病植物细胞中主要以不溶性的蛋白复合体存在,这种蛋白复合体具有结合及水解 NTP 的能力,但缺乏与病毒 RNA 的结合力,而可溶性 TGBp1,则同时具有上述三项活性^[2,27]。最近研究表明,这些不溶性的 TGBp1 复合体可能是病毒 RNA 转移过程中被修饰的位置,它们可以不断释放出具有功能的 TGBp1 来和病毒衣壳蛋白、病毒核酸形成可被转移的核糖核酸蛋白复合^[10]。BaMV 的 TGBp2 及 TGBp3 可能均属膜蛋白,但它们在细胞中一直不易被检测到。目前已成功检测到 TGBp2 存在于感染 BaMV 细胞的膜成分中,也成功构建了含有 TGBp2 蛋白的脂质体 (未发表)。BaMV 的 ORF5 为病毒衣壳蛋白基因,可合成 25 kDa 的结构性衣壳蛋白。此外, BaMV 的 BaMV-O 分离株的 ORF1 中包含一个 ORF6,可翻译出 14 kDa 的蛋白质,但其功能尚不清楚^[21]。在感病的细胞中,除基因组 RNA 外,还可检测到另外两个主要的亚基因组 RNA^[20,29,30],其中 2.0 kb 亚基因组主要表达 ORF2 的 28 kDa 蛋白,而 1.0 kb 亚基因组 RNA 则负责表达衣壳蛋白^[31]。

此外,在感染 BaMV 的寄主植物中还可检测到两类亚病毒分子:一类为缺失性 RNA (D RNA),长为 1.1 kb,具有合成 30 kDa 蛋白的能力,是病毒复制过程中发生部分核苷酸序列未被复制或序列被错误地重组,因而其核苷酸序列与辅助病毒 (BaMV) 完全同源,其复制与包被也完全依赖其辅助病毒,是马铃薯病毒属中惟一可以从自然感染病毒的寄主植物中重复分离出来的缺失性 RNA。而在正常情况下,植物病毒即使经过高浓度的世代感染,也不易产生缺失性 RNA。另一类为卫星 RNA (sat-BaMV),其核苷酸序列与辅助病毒无显著同源性,是马铃薯病毒属中惟一发现的卫星 RNA,也是惟一被辅助病毒衣壳蛋白包被为杆状外形的卫星 RNA。

至今已从 BaMV 得到四种分离株:自绿竹分离且不含卫星 RNA 的 BaMV-O^[21];自泰山竹分离、含卫星 RNA 的 BaMV-V^[22,24];BaMV-L 是将 BaMV-V 去掉卫星 RNA,其核苷酸及氨基酸序列与 BaMV-V 分离株各有 90% 与 96.8% 的同源性^[24];BaMV-S 是以亚硝酸诱导 BaMV-O 分离株而得到的变异株,在烟草 (*Nicotiana benthamiana*) 上有较高的复制率,且会产生严重的嵌纹及坏疽病症,并可进行系统性移动。

2 satBaMV

研究表明,植物病毒的卫星 RNA 具有干扰病毒复制和病症表现的能力。在众多竹种所分离到的 BaMV 中,发现有两种卫星 RNA 分离株 BSF4 和 BSL6。BSF4 是从泰山竹 BaMV 分离株 BaMV-V 分离而来的卫星 RNA (GenBank, Accession No. L22762),BSL6 是从麻竹分离的卫星 RNA (GenBank, Accession No. L78264)。BSF4 和 BSL6 的核苷酸和氨基酸序列虽只有 6.9% 和 4.8% 的差异^[32],但其生物学特性却迥然不同。BSL6 具明显干扰 BaMV 基因组 RNA 复制的功能,而且会明显减轻或延缓 BaMV 的病症,而 BSF4 对病毒基因组 RNA 复制能力的干扰较小,不会明显减轻病毒感染造成的病症;再者,BSF4 可以在烟草做长距离移动,即系统性移动,而 BSL6 则无法有效地做长距离移动。进一步将 BSF4 及 BSL6 之间进行 5' UTR、3' UTR 及 P20 编码区互换,结果发现 BSL6 5' UTR 是决定卫星 RNA 抑制 BaMV 的复制、病症表现及长距离移动能力的重要区域^[18,33]。

2.1 satBaMV 的结构

Lin and Hsu^[22]从泰山竹分离得到 BaMV-V 分离株,进一步从 BaMV-V 中发现病毒颗粒不仅包被 6.4 kb 的 BaMV 基因组 RNA,还包被有一段 836 核苷酸 [poly(A) 不计] 的 RNA。经接种大麦原生质体和植株接种试验并经过 Northern blot 分析,证明此 RNA 为 BaMV 的卫星 RNA (sat-BaMV),胶体金免疫电镜观察发现,satBaMV 被 BaMV 的衣壳蛋白包被成大小约 60 nm 的短杆状颗粒,5 端具有帽子结构,3 端具有 poly(A)^[22]。cDNA 全长测序、离体兔网织红细胞裂解物 (*in vitro* rabbit reticulocyte lysate) 体外翻译产物分析以及免疫沉淀实验结果表明,satBaMV 的第 159 至 709 位核苷酸之间有编码区,可产生 183 个氨基酸、分子量约 20 kDa 的蛋白质,称之为 P20^[22,34]。另外,由基因序列的比较得知 satBaMV 与 BaMV

的基因组 RNA 没有同源性,仅在 satBaMV 的 5' UTR 与 BaMV RNA 的 5' UTR 有 60% 的相似性^[22]。由于 satBaMV 具有 mRNA 活性,能产生非结构性蛋白 P20,所以 satBaMV 属于卫星 RNA 分类中的 mRNA 型^[22]。

2.2 satBaMV 的功能

satBaMV 被辅助病毒衣壳蛋白包被成长度约 60 nm 的杆状颗粒^[22]。前已述及,在 BaMV 中发现了 BSL6 和 BSF4 两种卫星 RNA,其中由麻竹分离来的 BSL6 具有抑制 BaMV 基因组 RNA 复制的能力,亦能大大减轻和延缓病毒所引起的病症,并且已证明 BSL6 抑制的能力来自 RNA 与 RNA 之间的作用,而非竞争 RNA 复制酶;而由泰山竹分离来的 BSF4 分离株仅部分抑制 BaMV RNA 的复制,仅能稍稍减轻 BaMV 所引起的病症^[33]。satBaMV 具有 mRNA 活性,能翻译出 20 kDa 蛋白质 (P20),P20 可帮助 satBaMV 在感病植物中进行系统性移动。与其他卫星 RNA 不同的是,P20 不为卫星 RNA 复制所必需,且可被外源基因所取代,外源基因蛋白可借与病毒的共同感染而在植物体增殖和表达^[35]。

2.3 发展 satBaMV 为有效的植物表达载体

将 satBaMV P20 编码区以细菌氯霉素乙酰转移酶 (CAT) 报道基因取代,构建成 pBSCAT,然后将 BSCAT 与 BaMV 共同接种大麦原生质体和昆诺藜 (*Chenopodium quinoa*) 的叶片,发现此具有外源基因的卫星 RNA 重组株可进行复制、细胞间的移动并可被 BaMV 的衣壳蛋白包被,从而使得 satBaMV 成为一个表达载体,这是第一个以卫星 RNA 发展为植物表达载体的例子^[35]。以此卫星 RNA 为载体,成功进行了 BaMV 亚基因组 RNA 核心启动子的定位研究^[36]。卫星 RNA 具有高复制效率,受衣壳蛋白的包被而稳定性高,在接种 7 至 14d 即可在植物体内大量表达,这些都是以卫星 RNA 作为植物表达载体的优点。此外,卫星 RNA 载体所携带的外源基因在植物体内表达量要比转基因植物高,所以利用 satBaMV 作为植物表达载体,无论在基础研究还是应用研究方面都极具发展潜力。事实上,利用此植物表达载体从事基础研究和应用研究已有不少成功的例子^[1, 18, 35, 36]。此外,satBaMV 在移动、包被或与辅助病毒的相互作用等生理功能的研究方面都具独特性和代表性,极具研究价值。

BaMV 和 satBaMV 均已成功发展为有效的植物表达载体。不同的植物病毒载体已被应用于基因功能的分析以及生产具有重要经济价值的化合物或疫

苗。我们沿用各病毒系统所应用的衣壳蛋白 mRNA 的启动子序列,成功构建了可表达非同源蛋白的病毒载体,同时利用基因转移技术,获得了 satBaMV 全长序列的转基因植株,该转基因株可利用 BaMV 感染而大量表达 satBaMV 载体所携带的衣壳蛋白。BaMV 可感染多数的单子叶粮食作物,如水稻、大麦、玉米、谷子等,因此,在表达具有商业价值的外源蛋白方面,BaMV 和 satBaMV 是目前已知在单子叶粮食作物中表达得最好的载体。这两个载体在基础研究中,除能定位基因的启动子区域,还可成功地用来探讨蛋白质的功能、核酸片段的功能,未来也有潜力应用到病毒诱导的基因沉默技术 (VIGS) 来探讨未知基因功能或剔除有兴趣基因的表达。就目前所知的植物 RNA 病毒载体中,没有任何一个病毒的载体系统是如此完备的。

3 BaMV 卫星蛋白 (P20)

3.1 P20 的结构

satBaMV 表达的 P20 经 Databank 比较,发现其氨基酸序列与南方菜豆花叶病毒属 (*Sobemovirus*) 的黍花叶卫星病毒 (*Panicum mosaic satellite virus*, sPMV) 的衣壳蛋白序列有 46% 的相似性^[34]。三级结构预测显示 P20 具有 8 个 α -折叠片,并形成“春卷” (jelly-roll) 的结构,这与黍花叶卫星病毒衣壳蛋白的结构有着极高的相似性。该卫星病毒第 150 到 155 氨基酸 (APSELQ) 及第 107 到 116 氨基酸 (GQNNWFFGNT) 为其与衣壳蛋白之间连接的区域,藉此形成三重轴旋转对称性 (threefold axis) 的病毒球体,而在 P20 C 端也具有这两个区域^[32],这可能意味着 P20 与 sPMV 衣壳蛋白具有相似的生理功能。sPMV 衣壳蛋白由 157 个氨基酸组成,约 17.5 kDa,并包被其 RNA 形成 T=1 的球形卫星病毒粒子 (satellite virion)^[37, 38],其衣壳蛋白具有加重寄主植物病症的功能^[39, 40]。而第 124-135 氨基酸功能区可能关系到病症的诱发和卫星病毒粒子的形成^[40]。另外,衣壳蛋白也可能扮演着维持 RNA 卫星病毒完整性的角色,因为在衣壳蛋白缺乏的突变株中观察到缺失性 RNA 累积的现象^[40, 41]。衣壳蛋白对其 RNA 有高度的结合亲和性,对 PMV 的 satRNA 也具有结合性^[42]。去掉衣壳蛋白的突变体仍可以进行复制及系统性移动,而从寄主植物中分离到的缺失性 RNA 也不具有 110-492 的序列^[41],这表明,即使没有衣壳蛋白的参与,sPMV 也可以依靠 PMV 的帮助而进行复制与移动。虽然 P20 和 sPMV 衣壳蛋白在三级结

构上有高度的亲和性,但 P20 为非结构性蛋白,是 satBaMV 长距离移动所必需的。

3.2 P20 的表达时期

BaMV-V 分离株卫星 RNA 的侵染性 cDNA 克隆,称为 pBSF4^[35],其体外转录物在 BaMV 基因组 RNA (BaMV-L, BaMV-O 或 BaMV-S RNA) 协助下,可在大麦或烟草的原生质体以及昆诺藜或烟草植株内进行复制,复制能力与自然界分离的卫星 RNA 相似,而 BSF4 也没有明显抑制基因组 RNA 复制的能力^[35]。在感染 BaMV-V 的烟草原生质体中,P20 在感染初期(约接种 16 h 后)累积最多,随后即下降,而在受病毒感染的泰山竹中只能在未展开叶上检测到,在成熟叶上则检测不到 P20 的累积,因此推测 P20 基因是早期表达的基因^[18]。以 BaMV-S 与 satBaMV BSF4 混合接种在烟草与昆诺藜叶片上,在系统性寄主烟草 (*N. benthamiana*) 的接种结果表明,接种叶中 satBaMV 和 P20 的累积量在前期呈现相同的线性增加的趋势,二者在达到最高点的时间相去不远,只是在达到最高点后 P20 的累积量开始下降,而 satBaMV 则趋于稳定。系统叶部分所表现的趋势与接种叶大致相同。在枯斑寄主昆诺藜的接种结果与烟草的接种结果相似,都是在 RNA 的累积趋于稳定后,P20 的累积才趋于减少。在研究 P20 的表达时期时发现有一大约 16 kDa (P16) 的蛋白质随着时间的增加,其累积量也持续增加。在接种后第 45d 的烟草的某些系统叶中,已经无法检测到 P20,而只有 P16 仍然稳定存在。进一步研究表明,P16 为 P20 的降解产物,是 P20 少了 C 端 3-4 kDa 的部分(由分子量大小推测)(未发表)。

3.3 P20 非 satBaMV 复制所必需

利用 pBSF4 构建不同程度删减或定点突变的 P20 突变株,除了完全删减 P20 编码区序列的突变株影响其 RNA 结构造成其不能正常复制外,其他突变体在原生质体中的累积量只比正常 BSF4 减少了约 21-50%。将 pBSF4 的 P20 编码区用限制性内切酶 *Bst* XI/ *Eco*RV 切割,替换为细菌的 CAT 基因,形成 pBSCAT,然后将 BSCAT 的体外转录物与 BaMV 共同接种大麦和烟草,结果显示 BSCAT 在系统叶的累积量只有接种叶的 1/40-1/100。将其接种昆诺藜,BSCAT 的 RNA 累积量约只有 BSF4 的 1/4,表明这些 P20 突变株并没有完全丧失复制的能力^[35],也说明 P20 非 satBaMV 复制所必需。虽然如此,P20 还是影响了 satBaMV 的复制与累积,这是目前已知 mRNA 型卫星 RNA 中的

惟一例外,其他 mRNA 型卫星 RNA 都需要卫星 RNA 本身所翻译的非结构性蛋白才可复制。属于 mRNA 型卫星 RNA 的番茄黑环病毒卫星 RNA (Tomato black ring virus satellite RNA, sTBRV),其 5 及 3' UTR 为 sTBRV 复制所必需^[43, 44];而烟草坏死病毒卫星 RNA (Tobacco necrosis virus satellite RNA, sTNV) 的 5' 端及 3' 端经电脑预测,发现具有几个茎环 (stem-loop) 和伪结 (pseudoknot) 结构,并且为 sTNV 复制所必需,其他如 TMV 卫星 RNA (sTMV)、sPMV、葡萄扇叶病毒卫星 RNA (Grapevine fanleaf virus satellite RNA, sGFLV)、南芥菜花叶病毒卫星 RNA (Arabidopsis mosaic virus satellite RNA, sArMV) 也都有共同的特性^[41]。satBaMV 5 及 3' UTR 也具有茎环和伪结的结构,推测与 satBaMV RNA 复制有密切关系^[32]。

3.4 P20 与 satBaMV 特异结合并参与其系统性移动

P20 的等电点高达 10.25, P20 以 N 端的 ARM 和 satBaMV 的 5' UTR 和 3' UTR 结合。P20 对 RNA 的结合性比 DNA 大 10 倍,而且比较倾向与 satBaMV 或 BaMV 基因组 RNA 结合,对其他没有同源性的核苷酸序列较不具结合力,而且 P20 是以高度协同结合 (cooperative binding) 的方式与 satBaMV 结合,而且结合力很强。P20 为 RNA 结合蛋白,具有核酸专一的结合能力,这与病毒运动蛋白和核酸结合的特性极为相似,推测 P20 可能参与 satBaMV 的移动作用^[18, 35]。将 P20 编码区置换为 CAT 基因,并与病毒 RNA 共同接种寄主植物时,CAT 蛋白在系统叶的累积量只有接种叶的 1/40-1/100^[35],这表明 P20 对于 satBaMV 的系统性移动有决定性的影响,尚未发现其他病毒的卫星蛋白参与卫星 RNA 的长距离移动,这一发现将开启卫星 RNA 在植物体内如何移动研究的新领域^[1, 18-35]。

我们还构建了能表达 P20 的纯合转基因烟草。将携有 CAT 的卫星 RNA cDNA 株 pCBSCAT 与 BaMV cDNA 株 pCB 共同接种于 P20 的纯合转基因株,进行互补性接种测试,结果显示 BSCAT 在各 P20 转基因品系的长距离移动几率为 16.8-80%,而在非转基因株中的移动几率为 0%,这表明累积在转基因株体内的 P20 具有互补性的功能,能帮助 BSCAT 进行长距离移动,由此证明 satBaMV 进行系统性移动时,P20 确实扮演着不可或缺的角色(未发表)。

用细菌双杂交系统 (bacterial two-hybrid system, BTH) 研究了 BaMV 与 satBaMV 所编码蛋白质之间的相互作用。结果表明, P20 与 P20 之间的相互作用相当强烈, P20 与 BaMV 甲基转移酶及衣壳蛋白之间的相互作用也很强烈, CP 与 CP 之间相互作用很强烈, CP 与 BaMV 的 TGB 蛋白质之间有很强的亲和力, TGB 运动蛋白 TGBp1、TGBp2 和 TGBp3 之间的相互作用也很强烈 (未发表)。我们还合成了 P20 N 端 20 个氨基酸的多肽 (N20P) (含 ARM) 及 C 端 21 个氨基酸的多肽 (C21P), 研究全长 P20 与 N20P 及 C21P 之间的相互作用, 结果表明 α -折叠结构和 P20 N 端的 ARM 对 P20 自身的相互作用起决定性的影响。此外, P20 与烟草细胞色素 C 还原酶以及微管蛋白之间也有明显的相互作用。这表明, P20 可能作为蛋白复合体而影响 BaMV 的移动。运动蛋白的磷酸化调节病毒 RNA 在细胞间的运动, 主要是通过阻止病毒 RNA 在细胞间的运动或促使蛋白质-RNA 复合体的解体来实现。CMV RNA 聚合酶 2a 蛋白的磷酸化能够抑制复制酶复合体的形成。BaMV P20 的磷酸化实验结果表明, P20 在离体和活体条件下都能被磷酸化, P20 磷酸化的部位是 N 端第 11 位丝氨酸, 磷酸化后 N20P 与病毒 RNA 的结合能力大大降低, P20 与天然的未被磷酸化的 P20 之间有很强的相互作用, 而与磷酸化的 P20 仅有弱的相互作用。这些结果表明 P20 在植物体内被磷酸化后可能对 P20 的生物学功能起调节作用 (未发表)。

4 需进一步研究的问题

综上所述, P20 在 satBaMV 生活史中扮演着重要而多重的角色^[35], 但 P20 的具体作用机理仍有待阐明, P20 与 BaMV 其他蛋白之间的关系及作用机制等方面都有待进一步研究。P20 对 satBaMV 及其突变体移动的影响、P20 与寄主植物蛋白质之间的相互作用、P20 在寄主细胞内的调控机制、P20 的重组以及多聚体等方面的深入研究可望使我们对 P20 的功能有进一步的了解, 必将进一步揭示 P20 在 satBaMV 系统性移动中所起的作用。

参考文献

[1] 徐尧辉, 孟孟孝, 蔡庆修, 等. BaMV 分子生物学之整合型计划成果 [J]. 科学发展月刊, 2000, 28 (9): 666-674.
 [2] Liou D Y, Hsu Y H, Wung C H, *et al.* Functional analyses and identification of two arginine residues essential to the ATP-utilizing activity of the triple gene block protein 1 bamboo mosaic potexvirus [J]. Virology, 2000, 277: 336-344.

[3] Huang C Y, Huang Y L, Meng M, *et al.* Sequences at the 3' untranslated region of bamboo mosaic potexvirus RNA interact with the viral RNA-dependent RNA polymerase [J]. J Virol, 2001, 75 (6): 2818-2824.
 [4] Li Y I, Shih T W, Hsu Y H, *et al.* The helicase-like domain of plant potexvirus replicase participates in formation of RNA 5' cap structure by exhibiting RNA 5'-triphosphatase activity [J]. J Virol, 2001a, 75 (24): 12114-12120.
 [5] Li Y I, Chen Y J, Hsu Y H, *et al.* Characterization of the AdoMet-dependent guanylyltransferase activity that is associated with the N terminus of bamboo mosaic virus replicase [J]. J Virol, 2001b, 75 (2): 782-788.
 [6] Cheng J H, Peng C W, Hsu Y H, *et al.* The synthesis of minus-strand RNA of bamboo mosaic potexvirus initiates from multiple sites within the poly(A) tail [J]. J Virol, 2002, 76 (12): 6114-6120.
 [7] Chiu W W, Hsu Y H, Tsai C H. Specificity analysis of the conserved hexanucleotides for the replication of bamboo mosaic potexvirus RNA [J]. Virus Res, 2002, 26: 83 (1-2): 159-167.
 [8] Annamalai P, Hsu Y H, Liu Y P, *et al.* Structural and mutational analyses of cis-acting sequences in the 5' untranslated region of satellite RNA of bamboo mosaic potexvirus [J]. Virology, 2003, 20: 311 (1): 229-239.
 [9] Chen I H, Meng M, Hsu Y H, *et al.* Functional analysis of the cloverleaf-like structure in the 3' untranslated region of bamboo mosaic potexvirus RNA revealed dual roles in viral RNA replication and long distance movement [J]. Virology, 2003, 315 (2): 415-424.
 [10] Hsu H T, Hsu Y H, Bi I P, *et al.* Biological functions of the cytoplasmic TGBp1 inclusions of bamboo mosaic potexvirus [J]. Arch Virol, 2004, 149 (5): 1027-1035.
 [11] Huang Y L, Han Y T, Chang Y T, *et al.* Critical residues for GTP methylation and formation of the covalent m7GMP-enzyme intermediate in the capping enzyme domain of bamboo mosaic virus [J]. J Virol, 2004, 78 (3): 1271-1280.
 [12] Lin M K, Chang B Y, Liao J T, *et al.* Arg-16 and Arg-21 in the N-terminal region of the triple-gene-block protein 1 of Bamboo mosaic virus are essential for virus movement [J]. J Gen Virol, 2004, 85 (Pt 1): 251-259.
 [13] Yeh W B, Hsu Y H, Chen H C, *et al.* A conserved secondary structure in the hypervariable region at the 5' end of Bamboo mosaic virus satellite RNA is functionally interchangeable [J]. Virology, 2004: 330 (1): 105-115.
 [14] Lin N S, Chen M J, Kiang T, *et al.* Preliminary studies on bamboo mosaic virus disease in Taiwan [J]. Taiwan Forest Res Inst Bull, 1979, 317: 1-10.
 [15] Lin N S, Chai Y J, Huang T Y, *et al.* Incidence of bamboo mosaic potexvirus in Taiwan [J]. Plant Disease, 1993a, 77: 448-450.
 [16] Yeh C C, Chenng A H, Hwang H Y. Indexing of bamboo mosaic virus and propagation of virus-free bamboo plants [A]. In: Proceedings of the Symposium on Plant Virus and Virus-like Diseases. Chiu R C and Yeh Y eds. Council of Ag-

- riculture, R. O. C. Plant Protection Series No. 1. 1993, pp. 275-282.
- [17] 林纳生, 陈脉纪, 江涛, 等. 台湾 BaMV 之初步研究 [J]. 台湾省林业试验所试验报告, 1979, 317: 1-10.
- [18] 林纳生. BaMV 卫星 RNA 之研究与发展 [J]. 生命科学简讯, 1997, 11 (6): 2-5.
- [19] Lin M T, Kitajima E W, Cupertino F P, *et al.* Partial purification and some properties of bamboo mosaic virus [J]. Phytopathology, 1977, 67:1439-1443.
- [20] Lin N S, Lin F Z, Huang T Y, *et al.* Genome properties of bamboo mosaic virus [J]. Phytopathology, 1992a, 82:731-734.
- [21] Lin N S, Lin B Y, Lo N W, *et al.* Nucleotide sequence of the genomic RNA of bamboo mosaic potexvirus [J]. J Gen Virol, 1994, 75:2513-2518.
- [22] Lin N S, Hsu Y H. A satellite RNA associated with bamboo mosaic potexvirus [J]. Virology, 1994, 202: 707-714.
- [23] Van Regenmortel MHV, Fauquet C M, Bishop DHL, *et al.* Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses [M], New York, San Diego: Academic Press, 2000.
- [24] Yang C C, Liu J S, Lin C P, *et al.* Nucleotide sequence and phylogenetic analysis of a bamboo mosaic potexvirus isolate from common bamboo (*Bambusa vulgaris* McClure) [J]. Bot Bull Acad Sin, 1997, 38:77-84.
- [25] Li Y I, Cheng Y M, Huang Y L, *et al.* Identification and characterization of the *Escherichia coli*-expressed RNA-dependent RNA polymerase of bamboo mosaic virus [J]. J Virol, 1998, 72:10093-10099.
- [26] Chang B Y, Lin N S, Liou D Y, *et al.* Subcellular localization of the 28 kDa protein of the triple-gene-block of bamboo mosaic potexvirus [J]. J Gen Virol, 1997, 78: 1175-1179.
- [27] Wung C H, Hsu Y H, Liou D Y, *et al.* Identification of the RNA-binding sites of the triple gene block protein 1 of bamboo mosaic potexvirus [J]. J Gen Virol, 1999, 80:1119-1126.
- [28] Solovyev A G, Stroganova T A, Zamyatnin Jr. A A, *et al.* Subcellular sorting of small membrane-associated triple gene block proteins: TGBP3-assisted targeting of TGBP2 [J]. Virology, 2000, 269:113-127.
- [29] Lin N S, Huang T Y, Hsu Y H. Infection of barley protoplasts with bamboo mosaic virus [J]. Bot Bull Acad Sin, 1992b, 33: 271-275.
- [30] Lin N S, Chen C C, Hsu Y H. Postembedding *in situ* hybridization for localization of viral nucleic acid in ultrathin section [J]. J Histochem Cytochem, 1993b, 41: 1513-1519.
- [31] Lee Y S, Lin B Y, Hsu Y H, *et al.* Subgenomic RNAs of bamboo mosaic potexvirus-V isolate are packaged into virions [J]. J Gen Virol, 1998, 79: 1825-1832.
- [32] Liu J S, Hsu Y H, Huang T Y, *et al.* Molecular evolution and phylogeny of satellite RNA associated with bamboo mosaic potexvirus [J]. J Mol Evol, 1997, 44: 207-213.
- [33] Hsu Y H, Lee Y S, Liu J S, *et al.* Differential interactions of bamboo mosaic potexvirus satellite RNAs, helper virus and host plants [J]. Mol Plant-Microbe Interact, 1998, 11: 1207-1213.
- [34] Liu J S, Lin N S. Satellite RNA associated with bamboo mosaic potexvirus shares similarity with satellites associated with sobemoviruses [J]. Arch Virol, 1995, 140: 1511-1514.
- [35] Lin N S, Lee Y S, Lin B Y, *et al.* The open reading frame of bamboo mosaic potexvirus satellite RNA is not essential for its replication and can be replaced with a bacterial gene [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93: 3138 ~ 3142.
- [36] Lee Y S, Hsu Y H, Lin N S. Generation of subgenomic RNA directed by a satellite RNA associated with bamboo mosaic potexvirus: analyses of potexvirus subgenomic RNA promoter [J]. J Virol, 2000, 74: 10341-10348.
- [37] Day J, Ban N, Patel S B, *et al.* Characterization of crystals of satellite panicum mosaic virus [J]. J Mol Biol, 1994, 238: 849-851.
- [38] Ban N, McPherson A. The structure of satellite panicum mosaic virus at 1.9 Å resolution [J]. Nat Struct Biol, 1995, 2: 882-890.
- [39] Scholthof KB, A synergism induced by satellite panicum mosaic virus [J]. Mol Plant Microbe Interact, 1999, 12: 163-166.
- [40] Qiu W, Scholthof KB. Genetic identification of multiple biological roles associated with the capsid protein of satellite panicum mosaic virus [J]. Mol Plant Microbe Interact, 2001, 14: 21-30.
- [41] Qiu W, Scholthof KB. *In vitro* and *in vivo* generated defective RNAs of satellite panicum mosaic virus define cis-acting RNA elements required for replication and movement [J]. J Virol, 2000, 74: 2247-2254.
- [42] Desvoyes B, Scholthof KB. RNA: protein interactions associated with satellites of panicum mosaic virus [J]. FEBS Lett, 2000, 485: 25-28.
- [43] Hemmer O, Oncino C, Fritsch C. Efficient replication of the *in vitro* transcripts from cloned cDNA of tomato black ring virus satellite RNA requires the 48 k satellite RNA-encoded protein [J]. Virology, 1993, 194: 800-806.
- [44] Oncino C, Hemmer O, Fritsch C. Specificity in the association of tomato black ring virus satellite RNA with helper virus [J]. Virology, 1995, 213: 87-96.