武汉病毒所提出从头合成型病毒RdRP引发RNA合成的诱导契合机制

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/15199.html

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

RNA病毒转录及基因组复制过程均不涉及DNA形式，需要由病毒自身编码的依赖RNA的RNA聚合酶（RNA-dependent RNA polymerase，RdRP）来主导完成。RdRP在特定位点精准而高效地引发聚合反应对维持病毒基因组的完整性及合成正确的转录产物至关重要。根据引发方式的不同，RdRP可分为依赖引物型（primer-dependent）和从头合成型（*de novo*），后者通常由位于拇指结构域内的“引发元件”（priming element，PE）辅助RdRP实现精准高效引发。然而，不同科属病毒的RdRP的引发元件在氨基酸序列和三维结构上表现出较高的多样性，已有研究未能用普适的机制来阐释这类RdRP的引发过程。

中国科学院武汉病毒研究所研究员龚鹏团队致力于病毒RdRP的催化与调控机制研究。近日，科研团队解析了一个分辨率为3.1埃的经典猪瘟病毒（classical swine fever virus，CSFV）RdRP的晶体结构（图1，PDB号：7EKJ），该结构首次展示了同属病毒RdRP引发元件较为完整的结构信息，而结构分析表明该引发元件与引发位点距离较远（达9埃左右），需要经历变构方可实现引发。该团队利用酶学方法进一步发现引发元件中一个保守的甘氨酸残基G671对引发反应有重要贡献。与野生型（WT）RdRP相比，该位点的突变蛋白的引发效率明显降低，其中影响最大的G671P突变体的引发速率常数k_{cat}值降低约7倍（图2）。同时，通过对C端不同长度的截短RdRP的表征，发现引发元件尾部665-680区域在RdRP的引发过程中发挥重要作用。结合在CSFV的同科病毒丙型肝炎病毒（hepatitis C virus，HCV）和登革病毒（dengue virus，DENV）中的比较性研究，该团队据此提出RdRP的引发元件在RdRP与模板RNA及NTP底物结合时，可通过“诱导契合”方式变构而实现引发，进而通过调查代表性从头合成型RdRP的引发元件的结构和序列特征提出这一机制或具有普适性（图3）。该研究为全面深入理解病毒RdRP引发机制提供了重要依据。

相关论文近期在线发表在《核酸研究》（*Nucleic Acids Research*）上。研究工作得到国家重点研发计划项目“禽畜重要病原共感染与协同致病机制研究”、国家自然科学基金面上项目“猪瘟病毒NS5B蛋白N端结构域的功能研究”、中科院特别研究助理资助项目等的支持。

论文链接

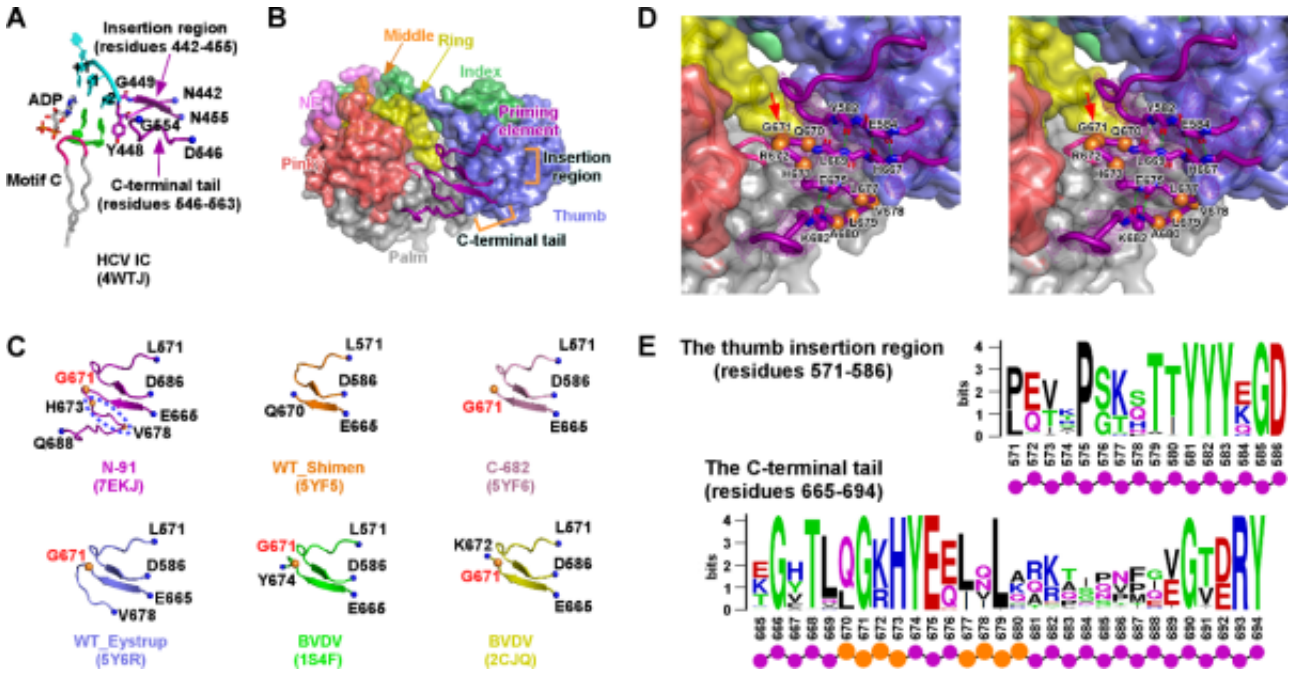


图1.CSFV RdRP晶体结构展示了较为完整的引发元件。A、HCV RdRP引发复合物的晶体结构；B、CSFV RdRP的整体结构，其中引发元件为紫红色；C、瘟病毒属 RdRP引发元件结构对比；D、CSFV RdRP引发元件及其周围区域的立体对像图；E、瘟病毒属RdRP引发元件氨基酸序列保守性分析。

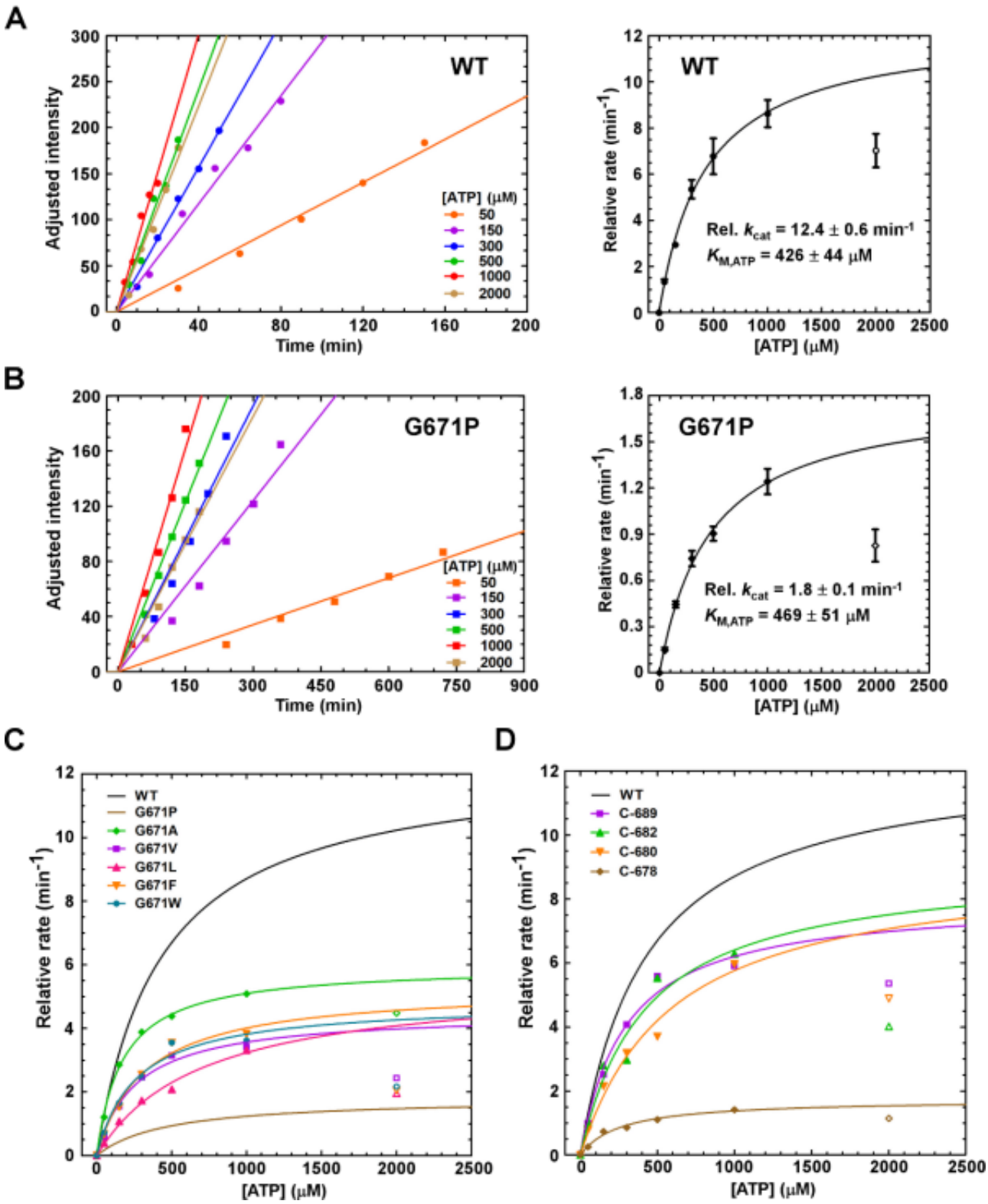


图2.CSFV RdRP及其突变体的酶学表征。A-B：WT（A）和G671P突变体（B）的单步引发反应动力学分析。C-D：G671位点其他突变体（C）和C端截短体（D）的引发反应动力学分析。其中，WT和G671P的米氏方程拟合曲线分别取自A和B。

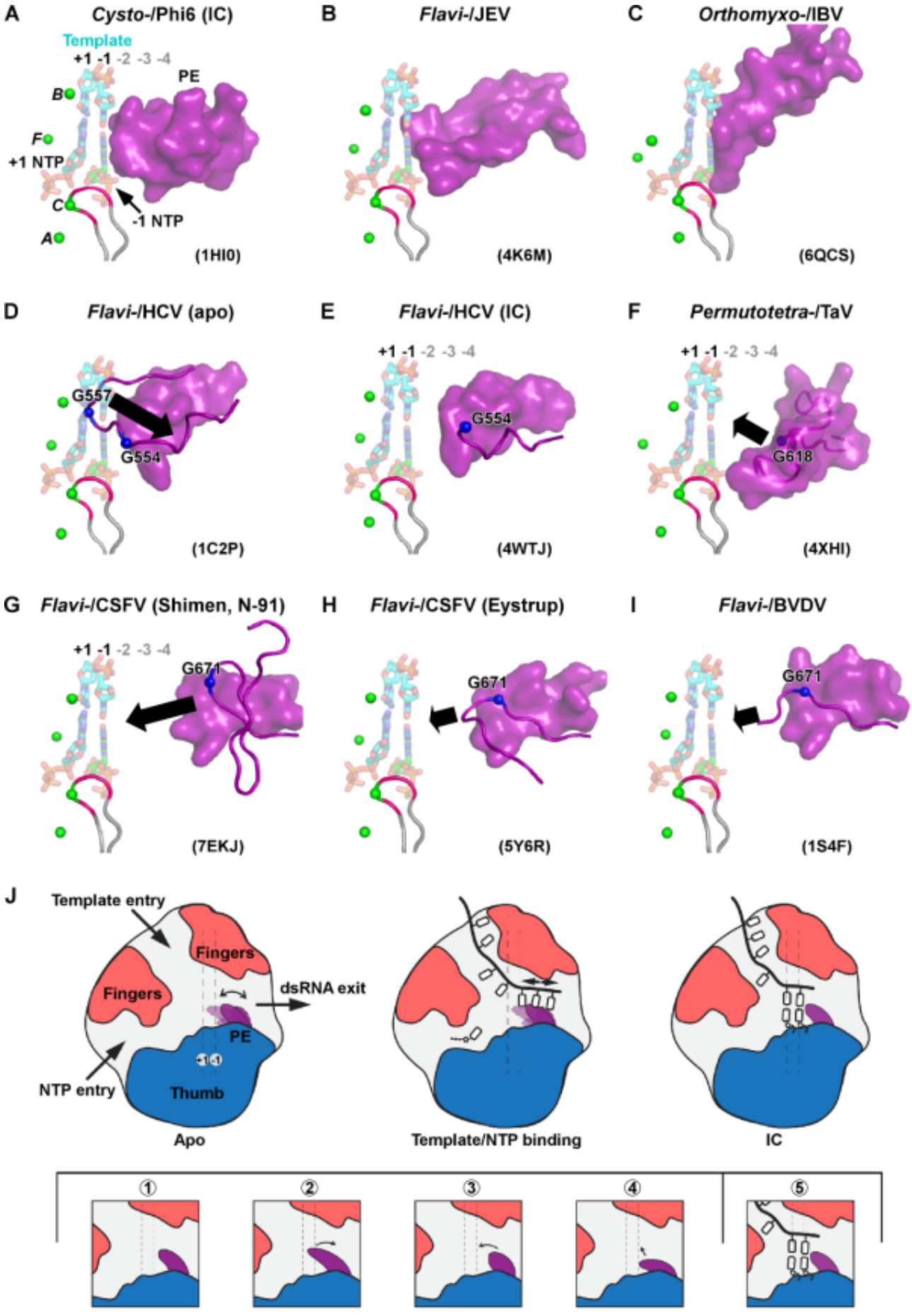

A
Cysto-/Phi6 (IC)
Template
+1 -1 -2 -3 -4
PE
B
F
+1 NTP
C
A
-1 NTP
(1HI0)
B
Flavi-/JEV
(4K6M)
C
Orthomyxo-/IBV
(6QCS)
D
Flavi-/HCV (apo)
G557
G554
(1C2P)
E
Flavi-/HCV (IC)
+1 -1 -2 -3 -4
G554
(4WTJ)
F
Permutotetra-/TaV
+1 -1 -2 -3 -4
G618
(4XHI)
G
Flavi-/CSFV (Shimen, N-91)
+1 -1 -2 -3 -4
G671
(7EKJ)
H
Flavi-/CSFV (Eystrup)
G671
(5Y6R)
I
Flavi-/BVDV
G671
(1S4F)
J
Template entry
Fingers
Fingers
dsRNA exit
PE
+1 -1
NTP entry
Thumb
Apo
Template/NTP binding
IC
①
②
③
④
⑤

图3.RdRP引发元件的结构比较提示RdRP从头合成可能具有普适性的诱导契合机制。A-I、代表性病毒 RdRP引发元件的比较。J、从头合成型RdRP引发时的诱导契合模型。当RdRP处于非底物结合状态时，引发元件可具有多种构象（左上图和下图1-4），而RdRP结合模板RNA和NTP后，引发元件可经历构象变化后到达RNA模板的末端，同时稳定参与引发反应的NTP，实现精准高效引发。下图中的箭头表示引发元件达到其引发状态所需构象变化的方向。

研究团队单位：武汉病毒研究所

更多 科学进展 请访问 https://www.iikx.com/news/progress/

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，爱科学iikx.com转发