



(<http://www.whiov.cas.cn>)

[首页](http://www.whiov.cas.cn/) (<http://www.whiov.cas.cn/>)

[概况简介](http://www.whiov.cas.cn/gkjj/) (<http://www.whiov.cas.cn/gkjj/>)

[机构设置](http://www.whiov.cas.cn/jgsz_160229/) ([http://www.whiov.cas.cn/jgsz\\_160229/](http://www.whiov.cas.cn/jgsz_160229/))

[人才队伍](http://www.whiov.cas.cn/rcdw/) (<http://www.whiov.cas.cn/rcdw/>)

[科学研究](http://www.whiov.cas.cn/kxyj_160249/) ([http://www.whiov.cas.cn/kxyj\\_160249/](http://www.whiov.cas.cn/kxyj_160249/))

[研究生教育](http://www.whiov.cas.cn/yjsj/) (<http://www.whiov.cas.cn/yjsj/>)

[党建与科学文化](http://www.whiov.cas.cn/djkxwh/) (<http://www.whiov.cas.cn/djkxwh/>)

[科研平台](http://www.whiov.cas.cn/kypt_160267/) ([http://www.whiov.cas.cn/kypt\\_160267/](http://www.whiov.cas.cn/kypt_160267/))

[信息公开](http://www.whiov.cas.cn/xxgk_160268/) ([http://www.whiov.cas.cn/xxgk\\_160268/](http://www.whiov.cas.cn/xxgk_160268/))

## 科学研究

当前位置 >> [首页](#) (>>>) >> [科学研究](#) (>>>) >> [科研进展](#) (>>)

### 科研进展

(<http://www.whiov.cas.cn/kxyj...>)

### 科研成果

(<http://www.whiov.cas.cn/kxyj...>)

### 合作与交流

(<http://www.whiov.cas.cn/kxyj...>)

### 研究单元

(<http://www.whiov.cas.cn/kxyj...>)

## 科研进展

### 武汉病毒所/生物安全大科学中心揭示黄病毒NS5聚合酶基于特定构象的催化调控机制

来源:

时间: 2020-05-14

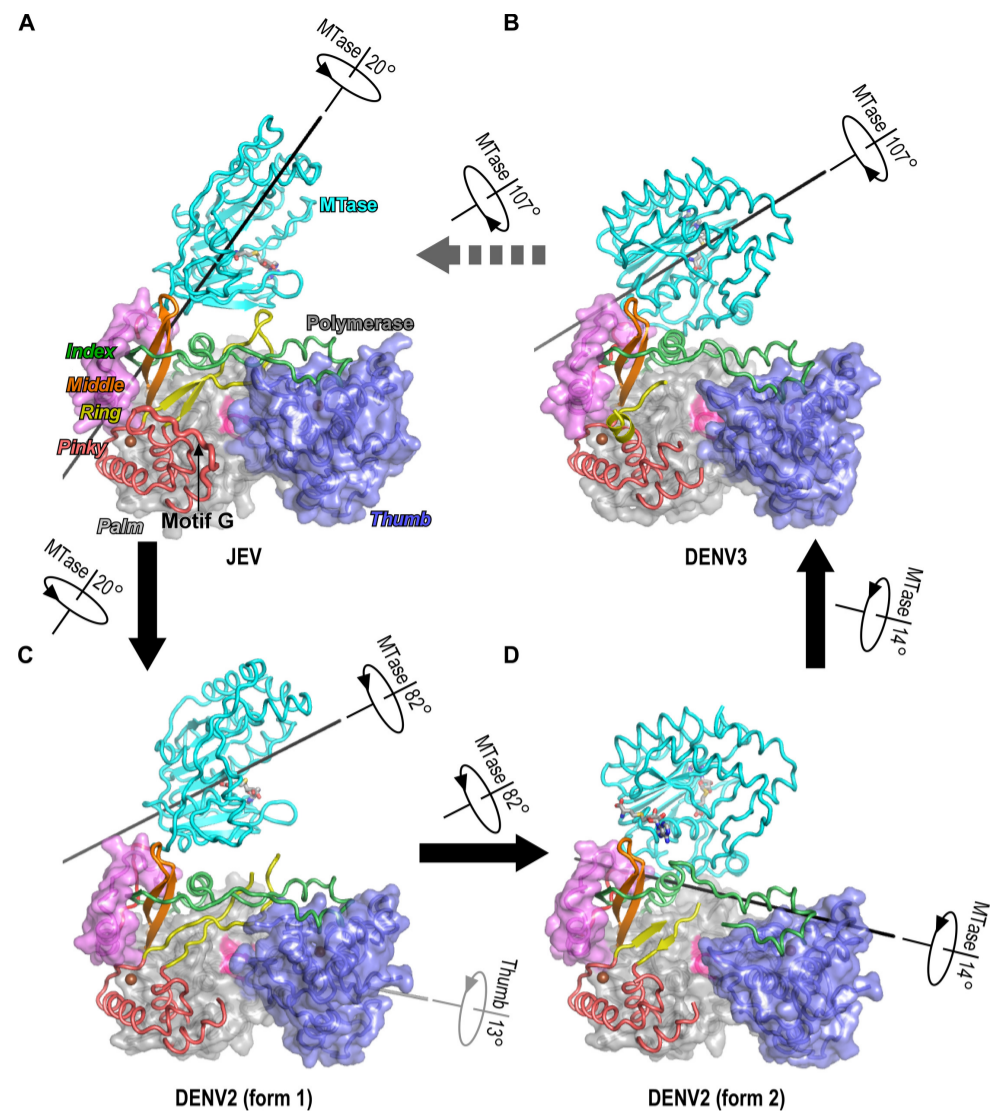
蛋白质的基本折叠形式与其功能密切相关，而对于多结构域蛋白来说，不同区域之间相对位置变化虽对各区域的基本折叠不构成本质影响，但造成的蛋白整体构象多样性可帮助其实现功能多样性。多数RNA病毒的基因组长度仅为数千到数万个核苷酸，由于受到编码容量的限制，多结构域多功能蛋白在这类病毒中较为常见，而黄病毒编码的非结构蛋白NS5是其中的典型代表。黄病毒是黄病毒科黄病毒属病毒的统称，目前国际病毒分类委员会（ICTV）收录的黄病毒有五十多种，约有三分之二以蚊、蜱为媒介传播，如乙型肝炎、登革、西尼罗、寨卡、蜱传脑炎等病毒，可导致人类脑炎和出血热等严重疾病。近年来发现一类新型分节段病毒——荆门病毒（Jingmenviruses）与黄病毒有较近的亲缘关系，并陆续有通过蜱等节肢动物为媒介感染人类的报道，进一步提示了黄病毒及其相关病毒对人类健康的现实和潜在威胁。

NS5是黄病毒编码的分子量最大且最保守的蛋白，也是重要的抗病毒药物靶标，其氨基端约260个氨基酸残基为依赖S-腺苷甲硫氨酸（SAM）的甲基转移酶（MTase），可催化病毒加帽过程中的鸟苷酰转移反应和两种类型的甲基化反应，而其羧基端约630个氨基酸残基为依赖RNA的RNA聚合酶（RdRP），在病毒RNA基因组复制过程中发挥主导作用，MTase和RdRP两者之间由一段长为10个氨基酸残基的

区域连接而成。MTase和RdRP以融合蛋白的独特形式存在，两者之间如何协同发挥功能一直是领域内专注的焦点问题之一，而相关三维结构及结构功能关系的解析尤为关键。

NS5的结构研究迄今为止大体分为两个阶段：2013年以前仅有MTase（2002年首次：Egloff et al. *EMBO J*）和RdRP（2007年首次：Malet et al. *J Biol Chem*）各自的结构报道；2013以来，乙型肝炎、登革、寨卡等病毒的NS5整体三维结构才陆续得到解析。有趣的是，这些NS5整体三维结构呈现出两类构象，一类以乙型肝炎病毒（JEV：Lu, Gong. *PLoS Pathog* 2013）为代表，一类以登革病毒第三血清型（DENV3：Zhao et al., *PLoS Pathog* 2015）为代表。两类构象相比，MTase相对于RdRP发生了约110度的旋转，MTase和RdRP之间的分子内相互作用类型也由JEV构象的疏水为主转换为DENV3构象的极性为主。然而，这两类构象在黄病毒NS5中是否保守，各自又参与哪些过程，在此前的研究中未能得到充分解答。

中国科学院武汉病毒研究所龚鹏研究员课题组长期从事病毒RdRP的催化与调控机制研究，该团队于2013年解析了分辨率为2.6埃的乙型肝炎病毒NS5整体三维结构，揭示了上述第一类构象（图1A）。此后该团队与武汉病毒所张波研究员课题组合作，证实了这类构象与病毒增殖（Li et al. *PLoS Negl Trop Dis* 2014）及RdRP催化（Wu, et al. *J Virol* 2015）均相关。在上述第二类构象由国际同行报道后（图1B），武汉病毒所合作团队进一步在乙型肝炎和登革两种病毒体系中证实了第二类构象同样与病毒增殖相关，并利用登革病毒第二血清型（DENV2）的NS5蛋白解析了上述两类构象的晶体结构（图1, C-D, 分辨率为2.9-3.1埃；图2），共同证实了这两类构象的保守性和功能相关性。合作团队进而通过建立可分别表征RdRP催化引发（initiation）过程和延伸（elongation）过程的酶学方法，证实仅第一类构象对RdRP催化过程产生影响，且主要对引发反应的NTP结合具有贡献，而对延伸过程无明显影响。相应的突变体蛋白（R3）与野生型NS5相比，其对引发反应NTP的亲合力下降三倍左右（图3）。此项研究不仅进一步推进了黄病毒NS5的构象功能关系研究，所建立的RdRP酶学表征方法也为黄病毒RdRP的催化机制研究及RdRP-RNA催化复合物结构研究奠定了关键基础。该研究中MTase对RdRP催化引发过程的促进作用与依赖DNA的RNA聚合酶的转录过程中引发因子的作用相似，不同之处是MTase和RdRP同处一条多肽链中，通过分子内的特定相互作用实现其调控功能。



**图1. DENV2的NS5蛋白呈现出两种构象。** A) 此前报道的JEV NS5整体结构。B) 此前报道的DENV3 NS5整体结构。C) 此项工作报道的DENV2 NS5的第一种整体结构，与JEV结构类似。D) 此项工作报道的DENV2 NS5的第二种整体结构，与DENV3结构类似。通过以上四种结构的比较，可推测出实现两类构象之间转换的运动方式（由相应的箭头、旋转轴和旋转角提示）。

此项研究主要受到国家重点研发计划项目“高致病性病毒转录复制过程关键蛋白质机器的功能和干预机制”（2018YFA0507200，项目首席科学家为中科院武汉病毒所陈新文研究员）和国家自然科学基金项目“乙型肝炎病毒非结构蛋白NS5的晶体结构研究”（31370198）的支持。该论文的第一作者吴继芹博士对结构相关研究作出了主要贡献并完成了酶学相关研究，张秋艳博士完成了病毒学相关研究，叶寒青副研究员和逯国亮助理研究员参与了结构相关研究，相关论文近期以“A conformation-based intra-molecular initiation factor identified in the flavivirus RNA-dependent RNA polymerase”（在黄病毒RdRP中发现的一种基于特定构象的分子内引发因子）为题于*PLoS Pathogens*上在线发表（<https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1008484>）。

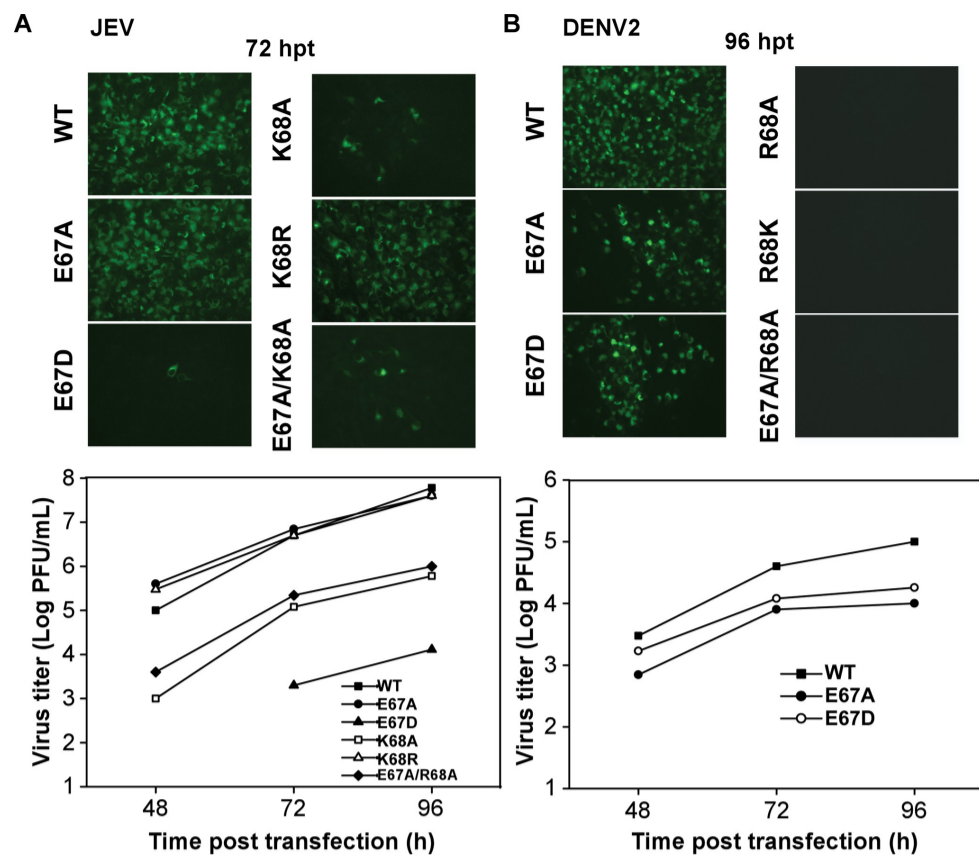


图2. NS5的第二类构象具有保守性和功能相关性。在细胞水平上，基于NS5第二类构象的突变体对JEV (A) 和DENV2 (B) 的增殖均可产生明显影响。

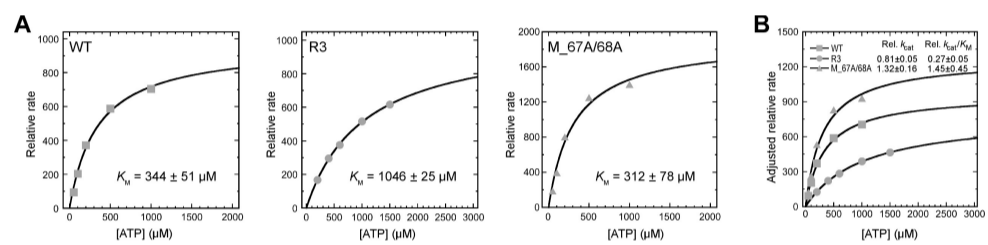


图3. 仅第一类构象对NS5聚合酶链引发过程产生影响。A) 与野生型 (WT) NS5相比，第一类构象对应的突变体R3在引发反应中的NTP亲和力下降约三倍 (米氏常数 $K_M$ 约为WT的三倍)，而第二类构象对应的突变体M\_67A/68A相应亲和力与野生型相当。B) 野生型与两个突变体NS5的引发反应催化速率常数 ( $k_{cat}$ ) 相差不大。

上一篇: [武汉病毒所/生物安全大科学中心完整揭示病毒RdRP核苷酸催化循环机制](http://www.cas.cn/journal/20200527_5599363.html)

下一篇: [武汉病毒所/生物安全大科学中心在人巨细胞病毒调控胶质瘤恶性进程和预后方面取得进展](http://www.cas.cn/journal/20200511_5577959.html)



(<http://www.cas.cn/>)

中国科学院武汉病毒研究所 版权所有 备案序号: 鄂ICP备案  
05001977号 鄂公安备42010602002421号  
地址: 湖北省武汉市武昌区小洪山中区44号 邮编: 430071