

DOI: 10.13376/j.cbls/2015055

文章编号: 1004-0374(2015)04-0425-08

# 病毒非经典途径合成蛋白质的分子机制

李国辉\*, 周倩, 胡朝阳, 唐琦, 邱立鹏, 姚勤

(江苏大学生命科学研究院, 镇江 212013)

**摘要:** 病毒增殖过程涉及到病毒与宿主蛋白之间复杂的相互作用。为充分利用病毒基因组的有限资源, 使病毒基因组编码的蛋白质数量最大化, 除经典途径之外, 病毒还可通过非经典途径来合成蛋白质。现就非经典途径中, 对病毒蛋白质合成的起始、延伸以及终止过程的类型及特征进行综述, 为深入研究病毒蛋白质合成的分子机制及抗病毒分子靶标的开发提供参考。

**关键词:** 病毒; 基因; 蛋白质; 非经典途径

**中图分类号:** Q936 **文献标志码:** A

## The molecular mechanism of viral protein synthesis by non-canonical pathway

LI Guo-Hui\*, ZHOU Qian, HU Zhao-Yang, TANG Qi, QIU Li-Peng, YAO Qin

(Institute of Life Sciences, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

**Abstract:** The complicated interactions between viral proteins and host proteins are involved in the process of viral propagation. To facilitate viral infection and propagation, the compact nature of viral genome has resulted in the evolution of specialized strategies to maximize their coding capacity. This review will highlight recent progresses of the non-canonical translation including the initiation, elongation and termination steps of viral protein synthesis in non-canonical translation, which will provide deep insights into facilitating further research of viral protein synthesis and the development of new target for clinical treatment.

**Key words:** virus; gene; protein; non-canonical pathway

病毒是生物界最小的一类微生物, 根据其遗传物质的不同分为两类: DNA 病毒和 RNA 病毒。与细菌或真核生物相比, 病毒基因组结构非常紧密浓缩, 尽管病毒基因组容量较小, 但其大部分核酸序列都能编码蛋白质, 只有很少的非翻译序列, 可调控基因的时空表达。经过长期的进化适应过程, 病毒已能逃逸宿主特异或非特异的免疫反应, 并适应宿主体内复杂多变的生活环境。尤为巧妙的是, 病毒能充分利用宿主中的分子机器来合成病毒蛋白质, 与真核生物中蛋白质的合成方式相类似。

在长期的适应进化过程中, 病毒可通过经典途径与非经典途径来合成病毒蛋白质。经典途径中, 蛋白质合成包括起始、肽链延伸、终止 3 个主要的过程<sup>[1]</sup>; 而非经典途径中, 主要是在合成的起始、延伸和终止的 3 个阶段与经典途径有所差别<sup>[2]</sup>。在经典途径中, 一般都是利用 AUG 来起始蛋白质的

合成, 而在非经典途径中, 病毒可通过漏扫描、内部核糖体进入、非 AUG 起始合成、重新起始及核糖体分流来起始蛋白质的合成<sup>[3-7]</sup>(图 1-A); 另外, 病毒还可通过核糖体移码、终止密码子通读和 Stop-carry on 等多种分子机制来延伸和终止肽链的合成<sup>[8-10]</sup>(图 1-B), 这些机制是病毒蛋白质多样性产生的一个重要原因。

## 1 非经典途径中的蛋白质起始

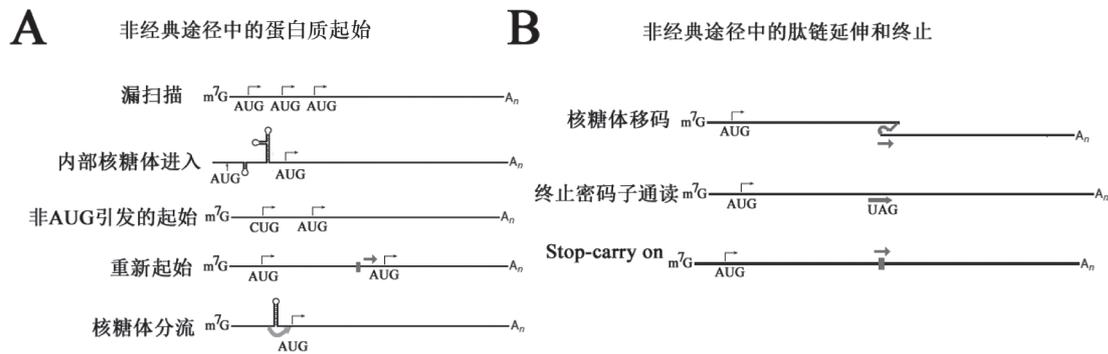
### 1.1 漏扫描

在蛋白质合成起始过程中, 核糖体 40S 小亚基

收稿日期: 2014-11-25; 修回日期: 2014-12-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(31270192, 31272507, 31000080, 31402016); 江苏大学高级人才基金项目(09JGD057)

\*通信作者: E-mail: ghli@ujssu.edu.cn; Tel: 0511-88791923



A: 蛋白质合成的非经典起始模型; B: 蛋白质合成的非经典延伸和终止模型

图1 非经典的蛋白质合成方式

单位与 mRNA 上 5' 端的帽子结构结合, 沿着 mRNA 进行线性扫描, 直到核糖体遇到第一个起始密码子 AUG 后, 蛋白质合成才正式开始。然而, 在一些情况下, 核糖体对 mRNA 上的第一个起始密码子 AUG 不能进行有效地识别, 而是继续沿着 mRNA 进行扫描, 直到遇到下一个 AUG 才起始蛋白质的合成, 该过程被称为漏扫描 (leaky scanning)。到目前为止, 已在 DNA 病毒和 RNA 病毒中都报道有漏扫描翻译现象, 通过漏扫描机制从一条 mRNA 上可合成 N 端截短的几个蛋白质异形体, 甚至 3~4 个理化性质完全不同的蛋白质<sup>[11-12]</sup>。

已报道一些 RNA 病毒利用漏扫描机制来合成蛋白质, 如汉坦病毒 (Andes hantavirus) 小 RNA 节段不仅编码一个核衣壳蛋白, 还通过漏扫描产生一个非结构蛋白<sup>[11]</sup>; A 型流感病毒 RNA 节段 2 编码 PB1、PB1-F2 和 N40 等 3 种蛋白质, 研究发现它们分别是从小 RNA 上的第一个、第四个和第五个 AUG 起始翻译而来<sup>[12]</sup>; 2009 年, Castaño 等<sup>[13]</sup>发现, 天竺葵线性 RNA 病毒 (*Pelargonium line pattern virus*) 通过漏扫描产生 p7、p9.7 和 p37, 3 个完全不同的蛋白质, 并通过漏扫描精确地调控它们的表达产量, 从而影响病毒的活力。DNA 病毒也利用漏扫描机制来合成病毒蛋白质, 如大蜡螟浓核病毒 (densonucleosis virus of *Galleria mellonella*)、玉米夜蛾浓核病毒 (densonucleosis virus from *Mythimna loreyi*)、油棕刺蛾浓核病毒 (*Casphalia extranea* densovirus) 和鹿眼蛱蝶浓核病毒 (*Junonia coenia* densovirus) 等通过漏扫描从各自的 vp 转录本中合成 VP1~VP4 等 4 种衣壳蛋白<sup>[3,14-16]</sup>。除此之外, 乙型肝炎病毒 P 蛋白 (DNA 聚合酶)、人冠状病毒 ORF7b 蛋白、人乳头瘤病毒 16 亚型 E7 蛋白、禽呼肠孤病毒 P10

和 P17 蛋白也都是通过漏扫描机制合成的<sup>[17-20]</sup>。由此可见, 漏扫描分子机制广泛存在于各类病毒的蛋白质合成中, 是病毒用来增加自身蛋白质数量的一种有效策略, 能提高病毒的生存适应能力。

## 1.2 内部核糖体进入

内部核糖体进入位点 (internal ribosome entry site, IRES) 是一段特异的核酸序列, 在反式作用因子的辅助下, 可招募核糖体小亚基到 mRNA 的翻译起始位点, 可不依赖 mRNA 5' 端的帽子结构, 从而直接起始 mRNA 的翻译<sup>[21]</sup>。因此, 全面了解 RNA 病毒中 IRES 元件的分类、结构与功能, 不仅有助于阐明相关疾病的发生机制, 也为利用病毒进行疾病治疗奠定基础。

1988 年, Pelletier 和 Sonenberg<sup>[22]</sup>在脊髓灰质炎病毒中鉴定到第一个 IRES。至今, 已在感染哺乳动物、无脊椎动物及植物的 RNA 病毒中都鉴定到不同类型的 IRES 元件。根据这些序列的特征、结构及功能, 可将它们分为 4 种不同类型的 IRES<sup>[21-23]</sup> (表 1)。I 型 IRES 常见于肠道病毒 71、鼻病毒和脊髓灰质炎病毒基因组中, 距离 AUG 起始密码子 30~150 nt, 翻译起始效率较差; II 型 IRES 以脑心肌炎病毒和手足口病毒为代表。I 型和 II 型 IRES 序列长度为 450 nt, 其二级结构彼此完全不同, 且都不需要 eIF4E 起始因子的协助就能起始蛋白质的合成, 但 II 型 IRES 的翻译起始效率较好。III 型 IRES 以丙型肝炎病毒为代表。除此之外, 还在其他 RNA 病毒中鉴定到类似 III 型 IRES 的结构。这类 IRES 序列长度为 300 nt, 其二级结构独特, 在起始蛋白质合成时, 不需要 eIF1、eIF1A、eIF4A、eIF4B 和 eIF4F 蛋白因子的协助, 但其翻译起始效率较差。IV 型 IRES 以蟋蟀麻痹病毒 (*Cricket paralysis*

表1 4种不同类型的病毒IRES元件

病毒IRES类型	代表病毒	特征	参考文献
I型IRES	脊髓灰质炎病毒	长度为450 nt, 起始不需要eIF4E因子, 翻译起始效率较差。	[21-22]
II型IRES	脑心肌炎病毒	长度为450 nt, 起始不需要eIF4E因子, 翻译起始效率优于I型。	[23]
III型IRES	丙型肝炎病毒	长度为300 nt, 起始不需要eIF1、eIF1A、eIF4A、eIF4B和eIF4F蛋白因子的协助, 其翻译效率较差。	[23]
IV型IRES	蟋蟀麻痹病毒	起始不需要eIF4s因子和tRNAi的协助。	[23]

virus) 为代表, 在该病毒中鉴定的 IRES 序列长度为 200 nt, 在蛋白质的合成起始时, 不需要任何起始蛋白因子及 tRNAi 的帮助; 另外, Pan 等<sup>[24]</sup> 在鸭甲肝病毒 (Duck Hepatitis A virus) 基因组中鉴定到一个 IRES, 该元件具有 IV 型 IRES 许多共同的特征, 但同时又与 IV 型 IRES 存在着一些差异。

研究表明这些 IRES 是一种多功能元件, 不仅与病毒蛋白质的翻译起始有关, 还与病毒的 DNA 复制及包装相关。由此可见, 不同 IRES 之间结构上的差异, 不仅与它们的功能直接相关, 也是它们作用机制不同的一个主要因素。依据 IRES 的功能特征, 其常被用于真核生物双顺反子的构建中, 由于 IRES 前后两个基因通常是以一定比例表达的, 因此, 可以根据其中一个报告基因的表达情况, 来真实地反映另一个靶蛋白的表达情况。

### 1.3 非AUG引发的起始

真核生物的蛋白质合成几乎都是以 AUG 为起始密码子, 通过携带有甲硫氨酸 (Met) 的转运起始 RNA (tRNAi), 将 Met 运送到 mRNA 链上进行蛋白质的起始合成。然而, 并不是所有蛋白质的起始合成都发生在 AUG 密码子上。在特定的情况下, CUG 和 ACG 也能被 Met-tRNAi 识别, 从而起始蛋白质的合成, 这与非 AUG 起始密码子上下游特定的核苷酸序列有关。如果非 AUG 起始密码子上游第三个核苷酸位置处为 A 或 G, 以及非 AUG 起始密码子下游第一个核苷酸位置为 G, 则都有利于 mRNA 上非 AUG 的翻译起始。到目前为止, 已鉴定 CUG、GUG、ACG、AUU、AUA、AUC 和 UUG 都可启动蛋白质合成的起始, 其中 CUG 是最有效的非 AUG 起始密码子。非 AUG 起始蛋白质的合成作为一种调控机制广泛存在于真核生物中, 但其在 RNA 病毒中是否也作为一种调控机制目前还不清楚<sup>[2,5,25]</sup>。

Curran 和 Kolakofsky<sup>[26]</sup> 首次在副黏病毒科中鉴定到仙台呼吸道病毒 C' 蛋白是以 ACG 为起始密码子翻译而来的。以非 AUG 为起始密码子也常见

于植物病毒中, Sun 等<sup>[27]</sup> 报道中国小麦花叶病毒 (Chinese wheat mosaic virus) 以 RNA2 中的 CUG (核苷酸位置: 207~209) 为起始密码子, 翻译出一个相对分子质量为  $2.3 \times 10^4$  的 N-ext/CP 蛋白, 其 N 端比从 AUG 翻译起始产生的 CP 蛋白多了 39 个氨基酸; 研究表明, N-ext/CP 蛋白能与 RNA 沉默抑制因子结合, 从而调控该病毒 DNA 的复制和增殖, 而 CP 蛋白却不具有该功能。Ling 等<sup>[28]</sup> 发现在已测序的南方菜豆花叶病毒属 (Sobemoviruses) 病毒中, 其基因组中还存在第五个开放阅读框 (ORFx), 该 ORFx 与 ORF2a 的 5' 端序列重叠; 研究表明, 这些病毒的 ORFx 是以 CUG 为翻译起始位点, 产生一个相对分子质量为  $1.2 \times 10^4 \sim 2.4 \times 10^4$  的蛋白质, 其活性与病毒的感染能力相关。Firth 和 Atkins<sup>[29]</sup> 发现在一些感染家禽、牲畜的曲状病毒属 (torovirus) 病毒中, 这些病毒基因组中都存在一个以 CUG 为翻译起始位点, 可产生一个相对分子质量为  $3 \times 10^4$  的蛋白质。另外, 在感染人的丙型肝炎病毒基因组中, 也鉴定到一个以 GUG 为翻译起始位点产生的 F 蛋白<sup>[30]</sup>。卡波氏肉瘤相关疱疹病毒 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, KSHV) 是一种具有囊膜包被的双链 DNA 病毒, Toptan 等<sup>[31]</sup> 发现, KSHV 潜伏相关核抗原 1 也是通过非 AUG 翻译起始产生的。由此可见, 非 AUG 起始的蛋白质合成途径广泛存在于各类病毒中, 尽管非 AUG 的起始效率相对较低, 但为增强病毒基因组的编码能力提供了可能, 推测这也是病毒基因表达的一种调控机制, 从而有利于病毒顺利完成其生活周期。

### 1.4 重新起始

通常情况下, 在翻译终止后, 核糖体的 40S 和 60S 亚单位解离并从 mRNA 上脱落下来, 这些核糖体可进入蛋白质合成的循环利用中。然而, 如果所翻译的核苷酸序列不到 30 个密码子, 则核糖体的 40S 亚单位仍能够结合在 mRNA 上, 并沿着 mRNA 继续扫描, 并在下游 ORF 的 AUG 处重新起始蛋白质的合成<sup>[32]</sup>。一个短 ORF 的翻译结束之后, 核糖

体的 40S 亚单位并不能立即启动下一个 ORF 的重新合成, 需要核糖体沿着 mRNA 继续滑行一定的距离 (<40 nt), 在滑行的过程中招募到一些起始因子后, 才能够启动下一个 ORF 的翻译起始; 而如果翻译的 ORF 序列较长, 翻译终止后则很少再发生蛋白质合成的重新起始。病毒通过翻译上游短的 ORF, 其表达产物可调控下游基因的表达, 从而应对胞内环境的变化, 该分子机制广泛存在于 RNA 病毒的蛋白合成中。

在牛诺如病毒 -Jena 和鼠诺如病毒 (Murine norovirus) 等正链 RNA 病毒中, 核糖体对上一个 ORF 翻译终止后, 也可通过重新起始的方式翻译下一个 ORF, 来合成这些病毒的衣壳蛋白<sup>[33-34]</sup>。乙型流感病毒基因组包含 8 个负链的 RNA 片段, 其中第 7 个 RNA 片段编码 M1 和 BM2 两个蛋白; 研究发现, M1 的终止密码子 UAA 与 BM2 的起始密码子 AUG 在碱基 A 处发生重叠, M1 的翻译结束之后, 核糖体可以继续起始 BM2 的翻译, 与甲型流感病毒 M2 蛋白合成的机制不同<sup>[35]</sup>。在真菌双链 RNA 病毒科中, 发现栗疫病毒菌减毒病毒 (Cryphonectria hypovirus) 1-EP713 病毒基因组中 ORF A 翻译终止后, 核糖体可继续起始其毗连的下游 ORF B 的翻译<sup>[36]</sup>。除此之外, 以卡波氏肉瘤相关疱疹病毒为代表的 DNA 病毒, 其病毒基因组中一个短序列的 ORF35 与 ORF36 排列在一起; 研究发现, ORF35 翻译终止后, 核糖体可以继续启动 ORF36 的翻译起始, 产生一种蛋白激酶, 该蛋白具有对宿主及病毒靶蛋白磷酸化修饰的能力, 进而调控病毒与宿主间的相互作用<sup>[31,37]</sup>。

利用核糖体连续起始病毒转录本中毗连的 ORF, 并完成上下游 ORF 的翻译, 其中上游 ORF 终止密码子的终止作用是下游 ORF 重新起始所必需的, 并且通过上游 ORF 的编码产物来调控下游 ORF 的表达水平。

### 1.5 核糖体分流 (ribosome shunting)

核糖体识别 mRNA 5' 端帽子结构, 并沿着 mRNA 进行线性扫描, 在遇到颈环结构之前, 核糖体已完成了一个微小 ORF 的翻译, 核糖体小亚基可通过颈环结构直接与其后的 mRNA 进行结合, 这一能力被认为与其结合一些起始因子有关, 而核糖体大亚基可跳跃式地与小亚基结合, 并对下一个 ORF 进行翻译, 因此, 这种蛋白质合成方式被称为核糖体分流<sup>[2,38]</sup>。研究表明, 能够利用这种分子机制来合成蛋白质产物的 ORF 通常具有一些共同的

特征: 其前体 RNA 5' 端有一个 m<sup>7</sup>G 组成的帽子结构及一个较长的非翻译区 (UTR), 该 UTR 区域内的 RNA 能形成一个颈环结构, 且在颈环结构前还存在一个序列较短的 ORF, 该 ORF 的定位与序列长短对核糖体分流的效率至关重要。

到目前为止, 依据核糖体分流机制合成病毒蛋白质的特点, 大致可将其分为 3 种不同的类型<sup>[39]</sup>。类型 I 包括花椰菜花叶病毒、水稻东格鲁杆状病毒和原型泡沫病毒。在这类病毒的 mRNA 中, 其 UTR 区域内能形成一个大的、稳定的颈环结构, 核糖体先识别一个小的 ORF, 并完成对它的翻译, 然后通过易位, 核糖体可继续对颈环结构后的 ORF 进行翻译。类型 II 包括腺病毒晚期 IVa2 mRNA 和热休克蛋白 70 mRNA。在这类 mRNA 的 UTR 区域内, 能够形成多个稳定的 RNA 二级结构, 其中 18S rRNA 能够与 5' 端的 UTR 发生相互作用, 该作用对核糖体分流是必需的<sup>[40]</sup>。类型 III 包括从 P/C mRNA 中翻译出的 Y1 和 Y2 两个蛋白。在该类型的 mRNA 中, 其 5' 端的 UTR 序列不能形成一个稳定的 RNA 二级结构; 起始密码子前缺少一个短的顺式作用元件, 致使核糖体直接易位至起始密码子处, 易位后的核糖体以非 AUG 作为起始密码子<sup>[41]</sup>。除此之外, 在鸭乙型肝炎病毒、水稻东格鲁球状病毒及禽呼肠孤病毒中<sup>[39,42-43]</sup>, 均有核糖体分流的报道。由此可见, DNA 病毒和 RNA 病毒均可利用核糖体分流来起始病毒蛋白质的合成, 其分子机制较为保守, 推测该机制是病毒基因表达调控的一种有效策略。

## 2 非经典途径中的肽链延伸和终止

### 2.1 核糖体移码

核糖体移码是病毒用来融合表达两个以上阅读框的一种有效策略。具体而言, 就是在肽链的延伸过程中, 核糖体会往 5' 或 3' 方向程序性地移动 1 个核苷酸的位置, 致使阅读框发生改变, 从而翻译出两个阅读框融合在一起的蛋白质前体, 这种现象称为核糖体移码<sup>[44]</sup>。核糖体移码效率如果发生改变, 通常会降低, 甚至丧失病毒的生存能力。

到目前为止, 已鉴定劳氏肉瘤病毒、SARS 病毒和人类免疫缺陷病毒 1 型等一些 RNA 病毒, 都是通过 -1 核糖体移码来调控病毒结构蛋白和酶的表达<sup>[45-48]</sup>, 从而使病毒的复制和组装得以顺利完成。引发程序性 -1 核糖体移码需要 2 个基本

单元, 第1个基本单元是由7个核苷酸 XXXYYYYZ 组成的一个滑动位点, 其中 XXX 为任何3个相同的核苷酸, YYY 只能是 AAA 或 UUU, Z 是 A、U 或 C; 第2个基本单元是由 mRNA 形成的一些假结节或颈环结构, 其作用是使核糖体在滑动位点能够发生暂停, 从而增加核糖体移码的可能性。在 SARS 病毒滑动位点 UUUAAAC 的上游, Cho 等<sup>[49]</sup> 鉴定到一个与发夹结构形成相关的微小调控元件, 该元件的突变会下调 SARS 病毒 -1 核糖体移码效率, 导致 SARS 病毒结构蛋白与酶产物之间的紊乱, 从而影响成熟病毒粒子的数量。由此, 以程序性核糖体移码为药物作用靶点, 为研发新型的抗病毒药物开辟了一条新的思路。

除此之外, 自然界还存在其他类型的核糖体移码, 目前对它们的分子机制了解相对较少。Jagger 等<sup>[50]</sup> 和 Firth 等<sup>[51]</sup> 在甲型流感病毒基因组中鉴定到一个新的 ORF(X), 其编码产物与病毒毒力以及病毒和宿主之间的相互作用相关, 该读码框与 PA 基因 3' 端重叠, 在重叠区域内存在一个滑动序列 UCCUUUCGU, 核糖体会在该序列中发生 +1 核糖体移码, 产生一个融合的 PA-X 蛋白前体产物。Xu 等<sup>[52]</sup> 报道, 丙型肝炎病毒 (HCV) 通过 -2/+1 核糖体移码可产生一个 F 蛋白, 其相对分子质量为  $1.7 \times 10^4$ , 能与 HCV 患者的血清发生阳性反应。Fang 等<sup>[53]</sup> 报道, 猪繁殖与呼吸综合征病毒 (Porcine reproductive and respiratory syndrome virus) 通过 -2 核糖体移码, 产生 nsp2TF 蛋白产物, 该蛋白的表达受阻或其 C 端呈截短形式都会降低该病毒的生长速率。

## 2.2 终止密码子通读

在肽链延伸过程中, 当核糖体遇到终止密码子 UAA、UAG 或 UGA 时, 蛋白释放因子能识别这些终止信号, 从而促进多肽的释放和核糖体的解离。肽链合成的终止通常是一个高效的过程, 但是终止密码子 (UAA、UAG 和 UGA) 3' 端毗连的序列会对终止的效率产生影响, 如终止密码子 UGA 后紧接着 C, 则 UGA 可在 0.3%~5% 的频率范围被误读, 核糖体就可以沿着 mRNA 继续扫描, 直到遇到下一个终止密码子, 肽链的延长才发生终止, 该过程就叫终止密码子通读<sup>[2]</sup>。

到目前为止, 已在一些病毒和真核生物中发现可对终止密码子进行通读, 用于合成病毒复制酶, 以及一些病毒衣壳蛋白的异形体。科罗拉多蜱热病毒 (Colorado tick fever virus) 是一种双链 RNA 病毒,

其基因组包含 9 个节段 RNA。研究表明, 该病毒第 9 个节段 RNA 编码一个相对分子质量为  $3.6 \times 10^4$  的 VP9 蛋白; 若其终止密码子 UGA 发生通读后, 则翻译出一个相对分子质量为  $6.5 \times 10^4$  的 VP9' 蛋白, 其表达水平受终止密码子 UGA 下游的一个颈环结构调控<sup>[54]</sup>。番茄丛矮病毒组 (tombusviruses) 包含多个病毒成员, 该组病毒呈球形, 是一类正链、单股 RNA 病毒, 其基因组大小为 4.8 kb 左右, 该组病毒能编码 RNA 依赖的 RNA 聚合酶 (RdRp), 该蛋白就是通过终止密码子通读而产生的, 终止密码子附近的颈环结构及远距离的 RNA 与 RNA 之间的相互作用, 都可对 RdRp 的表达进行调控, 目前对该通读的具体调控过程还不甚清楚<sup>[55]</sup>。除此之外, 在辛德毕斯病毒 (Sindbis virus)、委内瑞拉马脑炎病毒 (Venezuelan equine encephalitis) 和阿尔法病毒 (alphaviruses) 中, 聚合酶蛋白都是与非结构蛋白进行融合表达的, 这些融合蛋白的表达就是通过对 UGA 密码子通读来实现的。研究发现, UGA 密码子 3' 端的邻近序列以及一些颈环结构能促进终止密码子 UGA 的通读<sup>[56]</sup>。越来越多的证据表明, mRNA 的二级结构和空间距离对终止密码子的通读效率起重要作用。

## 2.3 Stop-carry on

在多肽延伸的过程中, 高度保守的氨基酸序列 D(V/I)ExNPG↓P 可介导多肽链合成的终止, 其中脯氨酸 (P) 密码子是该肽链终止所必需, 产生的多肽从核糖体上释放出来, 但核糖体可继续沿着 mRNA 进行翻译, 而脯氨酸是合成出的第二条肽链中的第一个氨基酸, 直到核糖体遇到终止密码子为止, 这种蛋白合成方式就叫 Stop-carry on<sup>[2,57]</sup>。到目前为止, 已在心肌炎病毒、手足口病毒和鼠脑脊髓炎等病毒中鉴定到该合成方式<sup>[57-59]</sup>。研究表明, NPGP (Asn-Pro-Gly-Pro) 中任何一个氨基酸的突变都会阻止 Stop-carry on 合成方式的发生, 从而影响病毒蛋白质的合成和病毒的活力。

## 3 总结与展望

综上所述, 非经典分子机制类型众多, 彼此特征各具特色, 是增强病毒基因编码能力的有效表达策略, 能有效地增加病毒基因编码的蛋白质数量, 弥补病毒基因组遗传资源的不足。另外, 有些病毒还进化出多种分子机制, 如 HCV 病毒可通过非 AUG 起始合成、内部核糖体起始合成和核糖体移码等机制来合成蛋白质; 而漏扫描分子机制不仅存

在于 DNA 病毒蛋白质合成中, 也存在于一些 RNA 病毒蛋白质合成中, 这些翻译机制是病毒与宿主长期博弈进化的必然结果。

目前, 尽管病毒蛋白质合成的分子机制已有较深入的研究, 但仍有许多问题尚待解决, 尤其是这些合成机制如何影响病毒的复制、增殖、毒力及其与宿主细胞间的作用。生物信息学的迅猛发展, 以及日益增多的病毒蛋白质组和病毒转录组表达谱数据, 将有助于病毒蛋白质合成中新翻译元件的挖掘与鉴定, 也为研究病毒蛋白质合成中新的分子机制提供参考, 并为引起人类重大传染性疾病的 HIV、HBV 和 SARS 等病毒的致病机理与免疫防治提供理论依据。

### [参 考 文 献]

- [1] Aitken CE, Lorsch JR. A mechanistic overview of translation initiation in eukaryotes. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, 19(6): 568-76
- [2] Firth AE, Brierley I. Non-canonical translation in RNA viruses. *J Gen Virol*, 2012, 93(Pt 7): 1385-409
- [3] Wang Y, Abd-Alla AM, Bossin H, et al. Analysis of the transcription strategy of the *Junonia coenia* densovirus (*JcDENV*) genome. *Virus Res*, 2013, 174(1-2): 101-7
- [4] Huang PN, Lin JY, Locker N, et al. Far upstream element binding protein 1 binds the internal ribosomal entry site of enterovirus 71 and enhances viral translation and viral growth. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(22): 9633-48
- [5] Sun L, Andika IB, Shen J, et al. The CUG-initiated larger form coat protein of Chinese wheat mosaic virus binds to the cysteine-rich RNA silencing suppressor. *Virus Res*, 2013, 177(1): 66-74
- [6] Powell ML. Translational termination-reinitiation in RNA viruses. *Biochem Soc Trans*, 2010, 38(6): 1558-64
- [7] Hertz MI, Landry DM. Ribosomal protein S25 dependency reveals a common mechanism for diverse internal ribosome entry sites and ribosome shunting. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(5): 1016-26
- [8] Kobayashi Y, Zhuang J, Peltz S, et al. Identification of a cellular factor that modulates HIV-1 programmed ribosomal frameshifting. *J Biol Chem*, 2010, 285(26): 19776-84
- [9] Newburn LR, Nicholson BL, Yosefi M, et al. Translational readthrough in Tobacco necrosis virus-D. *Virology*, 2014, 450-451: 258-65
- [10] Sharma P, Yan F, Doronina VA, et al. 2A peptides provide distinct solutions to driving stop-carry on translational recoding. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(7): 3143-51
- [11] Vera-Otarola J, Solis L, Soto-Rifo R, et al. The Andes hantavirus NSs protein is expressed from the viral small mRNA by a leaky scanning mechanism. *J Virol*, 2012, 86(4): 2176-87
- [12] Wise HM, Barbezange C, Jagger BW, et al. Overlapping signals for translational regulation and packaging of influenza A virus segment 2. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(17): 7775-90
- [13] Castaño A, Ruiz L, Hernández C. Insights into the translational regulation of biologically active open reading frames of Pelargonium line pattern virus. *Virology*, 2009, 386(2): 417-26
- [14] Tijssen P, Li Y, El-Far M, et al. Organization and expression strategy of the ambisense genome of Densonucleosis virus of *Galleria mellonella*. *J Virol*, 2003, 77(19): 10357-65
- [15] Fédière G, El-Far M, Li Y, et al. Expression strategy of densonucleosis virus from *Mythimna loreyi*. *Virology*, 2004, 320(1): 181-9
- [16] Fédière G, Li Y, Zádori Z, et al. Genome organization of *Casphalia extranea* Densovirus, a new Iteravirus. *Virology*, 2002, 292(2): 299-308
- [17] Lin CG, Lo SJ. Evidence for involvement of a ribosomal leaky scanning mechanism in the translation of the hepatitis B virus pol gene from the viral pregenome RNA. *Virology*, 1992, 188(1): 342-52
- [18] Schaecher SR, Mackenzie JM, Pekosz A. The ORF7b protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) is expressed in virus-infected cells and incorporated into SARS-CoV particles. *J Virol*, 2007, 81(2): 718-31
- [19] Stacey SN, Jordan D, Williamson AJ, et al. Leaky scanning is the predominant mechanism for translation of human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein from E6/E7 bicistronic mRNA. *J Virol*, 2000, 74(16): 7284-97
- [20] Racine T, Barry C, Roy K, et al. Leaky scanning and scanning-independent ribosome migration on the tricistronic S1 mRNA of avian reovirus. *J Biol Chem*, 2007, 282(35): 25613-22
- [21] Jackson RJ, Hellen CU, Pestova TV. The mechanism of eukaryotic translation initiation and principles of its regulation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11(2): 113-27
- [22] Pelletier J, Sonenberg N. Internal initiation of translation of eukaryotic mRNA directed by a sequence derived from poliovirus RNA. *Nature*, 1988, 334(6180): 320-25
- [23] Schüler M, Connell SR, Lescoute A, et al. Structure of the ribosome-bound cricket paralysis virus IRES RNA. *Nat Struct Mol Biol*, 2006, 13(12): 1092-6
- [24] Pan M, Yang X, Zhou L, et al. Duck Hepatitis A virus possesses a distinct type IV internal ribosome entry site element of picornavirus. *J Virol*, 2012, 86(2): 1129-44
- [25] Ingolia NT, Lareau LF, Weissman JS. Ribosome profiling of mouse embryonic stem cells reveals the complexity and dynamics of mammalian proteomes. *Cell*, 2011, 147(4): 789-802
- [26] Curran J, Kolakofsky D. Ribosomal initiation from an ACG codon in the Sendai virus P/C mRNA. *EMBO J*, 1988, 7(1): 245-51
- [27] Sun L, Andika IB, Shen J, et al. The CUG-initiated larger form coat protein of Chinese wheat mosaic virus binds to the cysteine-rich RNA silencing suppressor. *Virus Res*, 2013, 177(1): 66-74

- [28] Ling R, Pate AE, Carr JP, et al. An essential fifth coding ORF in the sobemoviruses. *Virology*, 2013, 446(1-2): 397-408
- [29] Firth AE, Atkins JF. A case for a CUG-initiated coding sequence overlapping torovirus ORF1a and encoding a novel 30 kDa product. *Virol J*, 2009, 6: 136
- [30] Baril M, Brakier-Gingras L. Translation of the F protein of hepatitis C virus is initiated at a non-AUG codon in a +1 reading frame relative to the polyprotein. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(5): 1474-86
- [31] Toptan T, Fonseca L, Kwun HJ, et al. Complex alternative cytoplasmic protein isoforms of the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus latency-associated nuclear antigen 1 generated through noncanonical translation initiation. *J Virol*, 2013, 87(5): 2744-55
- [32] Jackson RJ, Hellen CU, Pestova TV. Termination and post-termination events in eukaryotic translation. *Adv Protein Chem Struct Biol*, 2012, 86: 45-93
- [33] McCormick CJ, Salim O, Lambden PR, et al. Translation termination reinitiation between open reading frame 1 (ORF1) and ORF2 enables capsid expression in a bovine norovirus without the need for production of viral subgenomic RNA. *J Virol*, 2008, 82(17): 8917-21
- [34] Napthine S, Lever RA, Powell ML, et al. Expression of the VP2 protein of murine norovirus by a translation termination-reinitiation strategy. *PLoS One*, 2009, 4(12): e8390
- [35] Hatta M, Kohlmeier CK, Hatta Y, et al. Region required for protein expression from the stop-start pentanucleotide in the M gene of influenza B virus. *J Virol*, 2009, 83(11): 5939-42
- [36] Guo LH, Sun L, Chiba S, et al. Coupled termination/reinitiation for translation of the downstream open reading frame B of the prototypic hypovirus CHV1-EP713. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(11): 3645-59
- [37] Kronstad LM, Brulois KF, Jung JU, et al. Dual short upstream open reading frames control translation of a herpesviral polycistronic mRNA. *PLoS Pathog*, 2013, 9(1): e1003156
- [38] Hohn T, Corsten S, Dominguez D, et al. Shunting is a translation strategy used by plant pararetroviruses (Caulimoviridae). *Micron*, 2001, 32(1): 51-7
- [39] Cao F, Tavis JE. RNA elements directing translation of the duck hepatitis B Virus polymerase via ribosomal shunting. *J Virol*, 2011, 85(13): 6343-52
- [40] Yueh A, Schneider RJ. Translation by ribosome shunting on adenovirus and hsp70 mRNAs facilitated by complementarity to 18S rRNA. *Genes Dev*, 2000, 14(4): 414-21
- [41] de Breyne S, Simonet V, Pelet T, et al. Identification of a cis-acting element required for shunt-mediated translational initiation of the Sendai virus Y proteins. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31(2): 608-18
- [42] Pooggin MM, Rajeswaran R, Schepetilnikov MV, et al. Short ORF-dependent ribosome shunting operates in an RNA picorna-like virus and a DNA pararetrovirus that cause rice tungro disease. *PLoS Pathog*, 2012, 8(3): e1002568
- [43] Racine T, Duncan R. Facilitated leaky scanning and atypical ribosome shunting direct downstream translation initiation on the tricistronic S1 mRNA of avian reovirus. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(20): 7260-72
- [44] Dinman JD. Mechanisms and implications of programmed translational frameshifting. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2012, 3(5): 661-73
- [45] Nikolic EI, King LM, Vidakovic M, et al. Modulation of ribosomal frameshifting frequency and its effect on the replication of Rous sarcoma virus. *J Virol*, 2012, 86(21): 11581-94
- [46] Plant EP, Sims AC, Baric RS, et al. Altering SARS coronavirus frameshift efficiency affects genomic and subgenomic RNA production. *Viruses*, 2013, 5(1): 279-94
- [47] Huang X, Yang Y, Wang G, et al. Highly conserved RNA pseudoknots at the Gag-Pol junction of HIV-1 suggest a novel mechanism of -1 ribosomal frameshifting. *RNA*, 2014, 20(5): 587-93
- [48] Olsthoorn RC, Reumerman R, Hilbers CW, et al. Functional analysis of the SRV-1 RNA frameshifting pseudoknot. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(21): 7665-72
- [49] Cho CP, Lin SC, Chou MY, et al. Regulation of programmed ribosomal frameshifting by co-translational refolding RNA hairpins. *PLoS One*, 2013, 8(4): e62283
- [50] Jagger BW, Wise HM, Kash JC, et al. An overlapping protein-coding region in influenza A virus segment 3 modulates the host response. *Science*, 2012, 337(6091): 199-204
- [51] Firth AE, Jagger BW, Wise HM, et al. Ribosomal frameshifting used in influenza A virus expression occurs within the sequence UCC\_UUU\_CGU and is in the +1 direction. *Open Biol*, 2012, 2(10): 120109
- [52] Xu Z, Choi J, Yen TS, et al. Synthesis of a novel hepatitis C virus protein by ribosomal frameshift. *EMBO J*, 2001, 20(14): 3840-8
- [53] Fang Y, Treffers EE, Li Y, et al. Efficient -2 frameshifting by mammalian ribosomes to synthesize an additional arterivirus protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(43): E2920-8
- [54] Napthine S, Yek C, Powell ML, et al. Characterization of the stop codon readthrough signal of Colorado tick fever virus segment 9 RNA. *RNA*, 2012, 18(2): 241-52
- [55] Cimino PA, Nicholson BL, Wu B, et al. Multifaceted regulation of translational readthrough by RNA replication elements in a tombusvirus. *PLoS Pathog*, 2011, 7(12): e1002423
- [56] Firth AE, Wills NM, Gesteland RF, et al. Stimulation of stop codon readthrough: frequent presence of an extended 3' RNA structural element. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(15): 6679-91
- [57] Brown JD, Ryan MD. Ribosome "skipping": "Stop-carry on" or "StopGo" translation[C]// Atkins JF, Gesteland RF. *Recoding: Expansion of Decoding Rules Enriches Gene Expression*. Heidelberg: Springer, 2010: 101-121
- [58] Loughran G, Libbey JE, Uddowla S, et al. Theiler's murine encephalomyelitis virus contrasts with ence-

phalomyocarditis and foot-and-mouth disease viruses in its functional utilization of the StopGo non-standard translation mechanism. *J Gen Virol*, 2013, 94: 348-53

[59] Sharma P, Yan F, Doronina VA, et al. 2A peptides provide distinct solutions to driving stop-carry on translational recoding. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(7): 3143-51