

弗林蛋白酶裂解位点在微生物感染宿主中的作用

高明燕¹ 姜逸¹ 程旭¹ 俞燕¹ 范建华¹ 孟闯²

1. 中国农业科学院家禽研究所, 江苏扬州 225125; 2. 江苏省人兽共患病学重点实验室/江苏省高校动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 江苏扬州 225009

摘要 弗林蛋白酶(Furin)裂解位点广泛存在于微生物前体蛋白中,它在病原感染宿主的过程中被Furin识别并裂解活化,从而使病原微生物进入细胞并发挥致病作用;它还与病原感染宿主过程中的毒力、宿主和细胞嗜性等相关;它可能还是微生物传播效率和规模影响因素之一。为此,本文对其在微生物感染宿主中所起的作用进行了详细综述,以期对微生物致病机制的研究和阻断药物的开发提供参考。

关键词 弗林蛋白酶裂解位点;感染;作用

弗林蛋白酶(Furin)裂解位点广泛存在于微生物前体蛋白中,如绿脓杆菌外毒素A、白喉毒素和炭疽毒素等细菌外毒素以及人免疫缺陷综合征病毒、埃博拉病毒、麻疹病毒、乙肝病毒、流感病毒等很多病毒的囊膜糖蛋白。这些病原前体蛋白需要宿主细胞中的Furin裂解成成熟蛋白才能在感染宿主的进程中进一步发挥作用。微生物前体蛋白上Furin裂解位点的作用关键而重要,故本文将从Furin裂解位点的特点、病毒囊膜蛋白Furin裂解位点与病原感染宿主过程中毒力、宿主和细胞嗜性的相关性及其对微生物传播效率和规模的影响等方面进行详细综述。

1 弗林蛋白酶及其裂解位点特点

Furin是真核动物体内一种高度特异性的丝氨酸内切蛋白酶,属于前体蛋白转化酶家族,能识别切割前体蛋白进而激活其活性。其广泛存在于各种组织和细胞中,主要定位于细胞高尔基体反面膜囊上。它作用的底物不仅包括宿主肽类激素和神经肽、生长因子、血清蛋白、基质金属蛋白酶、受体等,还包括细菌外毒素和很多囊膜病毒的糖蛋白^[1]。

Furin能识别切割的最短序列特点是R-X-X-R↓;其核心序列包括8个氨基酸,顺序为P6-P5-P3-P4-P3-P2-P1↓P1'P2'。裂解位点P1和P4位必须为R(精氨酸,Arg);X为任意氨基酸;若P2位为碱性的K(赖氨酸,Lys)或R时,其切割效率能提高10倍左右;此外P4位不是R时,P1位必须是R,P2和P6位是碱性氨基酸才能保证切割效率^[2-3]。P2'位常可找到脂肪族氨基酸V(缬氨酸,Val)和I(异亮氨酸,Ile)。研究发现Furin底物中裂解位点类型统计百分比:R-X-R-R↓为41%,R-X-K-R↓占31.5%,R-X-X-R↓为11%,其他特殊位点占16.4%^[4]。前体蛋白Furin裂解位点可以在the ProP server上进行预测评分。

2 弗林蛋白酶裂解位点在微生物感染宿主中的作用

微生物前体蛋白上的Furin裂解位点主要作用是被宿主Furin识别并裂解活化,从而使病原微生物进入细胞并发挥致病作用,但不同微生物中Furin裂解位点的作用和影响并不完全相同。宿主Furin

收稿日期:2021-05-21

基金项目:江苏省人兽共患病学重点实验室开放课题项目(R2014);江苏省自然科学基金面上项目(BK20201483);扬州市科技计划项目(YZ2020052)

高明燕,女,1978年生,硕士,副研究员。

参与识别切割 HIV-1 囊膜糖蛋白 gp160 的裂解位点;而 Furin 抑制剂可以抑制 gp160 裂解成 gp41 和 gp120,从而阻止 HIV-1 的感染^[5]。

禽流感病毒(avian influenza virus, AIV)血凝素 HA 和新城疫病毒(newcastledisease virus, NDV)融合蛋白 F Furin 酶切位点不仅能够被宿主细胞识别切割,还与病毒毒力高度相关。H5 和 H7 高致病性 AIV HA 切割位点上游均含有多个碱性氨基酸,其最小结构正是 Furin 识别的 R-K-K-R ↓;而低致病性 AIV HA 裂解位点上游只有一个碱性氨基酸 R^[6-7],只能被部分组织中的碱性蛋白酶切割,从而影响病毒毒力。NDV 典型强毒株融合蛋白 F 的裂解位点也存在多个碱性氨基酸 R/KRQR/KR ↓,而所有弱毒株 F 蛋白位点具有共性的序列 RQGR ↓,它符合 Furin 底物特性,但其酶切效率可能较低,从而影响了病毒的毒力^[8]。

在病毒组装过程中,由于部分 β 属和所有 γ 属冠状病毒 S 蛋白上存在 Furin 裂解位点,因此能被宿主细胞高尔基体 Furin 识别裂解为 S1/S2。此外, MERS-Cov、SARS-Cov2 和 IBV 等冠状病毒 S 蛋白 Furin 裂解位点变异和宿主与细胞嗜性相关。Yang 等^[9]发现 MERS-Cov S 蛋白在 748 位存在 Furin 酶切位点(RSVR),而从蝙蝠上分离的与其同源性最高的 HKU-4 S 蛋白缺失相应的酶切位点;人为引入突变 S746 位 R 构成相应位置的酶切位点后,在无外源蛋白酶作用下 H-Cov-HKU4 假病毒可以感染人体细胞;同时将 MERS-Cov 的 Furin 酶切位点突变替换成 H-Cov-HKU4 S 蛋白相应的氨基酸后, MERS-Cov 的 S 蛋白则完全失去活性。同样有研究发现, SARS-Cov2 S 蛋白上 Furin 酶切位点 PRRAR ↓ 的引入可能成为其跨宿主传播的关键因素^[10]。Yamada 等^[11]研究发现, IBV Beaudette vero 细胞适应株在 S1/S2 之间 Furin 裂解位点 RRFRR ↓ 下游产生了第 2 个 Furin 裂解位点 HRRR ↓;将 S1/S2 之间的 Furin 酶切位点缺失和突变为 AAFAA 后, S1/S2 不能裂解,但病毒仍然能够在 Vero 细胞中增殖并形成合胞体,细胞适应株产生的第 2 个 Furin 裂解位点可能与病毒适应 Vero 细胞从而发生变异有关;目前鸡体天然分离 IBV 毒株不存在第二个 Furin 酶切位点,一般也不能在 Vero 细胞上生长。

Furin 裂解位点类型可能是病毒传播效率和规模影响因素之一。笔者通过对 GenBank 中国内外

400 多个 IBV 毒株 S 蛋白的 Furin 裂解位点统计分析发现: IBV 的裂解位点类型有 40 多种;但分离数量多,流行规模大的优势毒株裂解位点主要有 3 个,包括 RRFRR ↓、RRSRR ↓ 和 HRRRR ↓;而且这几种裂解位点类型符合 Furin 高效的切割规律。

3 总结与展望

虽然现有研究已经明确了部分病原 Furin 裂解位点在微生物感染宿主的过程中的作用,如参与囊膜糖蛋白的裂解活化和病毒宿主膜融合、影响病毒毒力和跨宿主传播等。但不同病毒囊膜蛋白 Furin 裂解位点的作用和功能不完全相同,如 AIV HA 蛋白和 NDV 蛋白与毒力相关,但 IBV 强毒分离株鸡胚传代致弱后,其 S 蛋白裂解位点类型没有发生变化, IBV 毒力与其 S 蛋白裂解位点类型关系以及其他作用并没有明确。这有待于进一步深入研究,从而为揭示 IBV 以及其他病毒入侵宿主细胞的致病机制、研制相应的阻断药物奠定基础^[12]。

参 考 文 献

- [1] TAYLOR N A, VANDCVEN W J, CREEMER J W. Curb-ing activation: proprotein convertases in homeostasis and pathology[J]. FASEB J, 2003(17): 1215-1227.
- [2] HENRIGH S, CAMERON A, BOURNKOV G P, et al. The crystal structure of the proprotein processing proteinase furin explains its stringent specificity[J]. Nat Struct Biol, 2003, 10(7): 211-227.
- [3] NAKAYAMA K. Furin: a mammalian subtilisin/kex2p-like endoprotease involved in processing of a wide variety of precursor proteins[J]. Biochem J, 1997(327): 625-635.
- [4] 龙彦宇, 林尧, 黄义德. 前体蛋白转换酶 Furin 和它加工的前体蛋白[J]. 药物生物技术, 2017, 24(6): 545-553.
- [5] KIBLER K V, MIYAZATO A, YEDAVALLI V C, et al. Polyarginine inhibits gp160 processing by furin and suppresses productive human immunodeficiency virus type I infection[J]. J Biol Chem, 2001, 279(47): 49055-49063.
- [6] 陈一兵, 刘岳龙, 霍金富. 禽流感病毒血凝素蛋白(HA)的结构及其生物学功能[J]. 动物医学进展, 2004, 25(6): 4-6.
- [7] 张云霞, 王昕, 陈雪峰, 等. H5N1 亚型禽流感病毒血凝素裂解位点碱性氨基酸对应的 mRNA 核苷酸的二级结构分析[J]. 科学通报, 2008, 53(2): 203-209.
- [8] 王永, 葛金英, 解希帝, 等. 新城疫病毒 F 蛋白碱性裂解位点修饰及外源基因的插入对新城疫 LaSota 疫苗株致

藜麦营养功能及饲料化利用发展前景

王 伟 邵 燕* 庞鹤鸣 杜崇武 任宏远

甘肃临夏州农业科学院,甘肃临夏 731100

摘要 藜麦作为唯一一种能满足人类所有营养需要的单体植物,近年来在甘肃省内种植面积逐步扩大,成为脱贫攻坚的富民产业,而其秸秆饲料化利用成为一大问题,为此,本文就藜麦的生物学特性、营养价值及饲料化利用展开综述,旨在探究藜麦及其副产物饲料化利用的前景,以期能为藜麦产业发展提供一定的理论指导。

关键词 藜麦;生物学特性;营养;饲料化利用

藜麦 (*Chenopodium quinoa Willd*) 是苋科藜亚科藜属植物,属于双子叶草本,一年生植物。发源于安第斯山脉,主要产地包括秘鲁、玻利维亚及厄瓜多尔等南美国家,藜麦的种植历史已有 7 000 年左右。藜麦含有人体所需全部营养物质,氨基酸比例均衡,具有极高的食用价值以及抗癌等医疗保健价值,藜麦作为 20 世纪 90 年代特色农作物,倍受营养学家推崇。20 世纪 90 年代开始,藜麦从区域性传统谷物转变为世界性商品,目前在美国、加拿大及欧洲多个国家地区引种栽培^[1]。中国在 1987 年由西藏农牧学院和西藏农科院小面积引种栽培,并获得成功。目前在中国甘肃、青海、山西、陕西、河南等地区推广种植^[2]。

1 藜麦简述

1.1 藜麦生物学性状

藜麦植株整体呈不规则扫帚状,成熟期的主枝和侧枝都有结籽,主要分布于主枝,属于自花授粉植物,有 36 条染色体。不同品种株高不一致,大多数品种株高在 150 ~ 300 cm,少部分品种株高在 60 ~ 150 cm,茎呈直立带分支状态;藜麦花序多样,根系为浅根系;叶着生的茎或枝的节间部分较长而明显,各茎节只有一片叶着生,有柄,叶缘有波状锯齿,叶片形状呈卵状长椭圆形,茎中、下部叶也有叶片呈卵状三角形,枝叶早期绿色,灌浆后期和成熟期叶呈黄色、红色或者紫红色等;藜麦籽粒呈

收稿日期:2021-04-19

基金项目:甘肃省 2020 年中央引导地方科技发展资金项目“特色藜麦产业培育及科技扶贫模式推广”

*通讯作者

王 伟,男,1995 年生,硕士,助理研究员。

病力的影响[J].微生物学报,2008,48(3):362-368.

[9] YANG Y, LIU C, DU L, et al. Two mutations were critical for bat-to-human transmission of MERS coronavirus[J]. J Virol, 2015(89):9119-9123.

[10] ZHOU H, CHEN X, HU T, et al. A novel bat coronavirus closely related to SARS-Cov-2 contains natural insertions at the S1/S2 cleavage site of the spike protein[J]. Mol cell, 2020(4):2.

[11] YAMADA Y, LLIU D X. Proteolytic activation of the

spike protein at a novel RRRRR/S motif is implicated in furin-dependent entry, syncytium formation, and infectivity of coronavirus bronchitis virus in cultured cells[J]. J Virol, 2009, 83(17):8744-8748.

[12] JACKWOOD M W, HILT D A, CALLISON S A, et al. Spike glycoprotein cleavage recognition site analysis of infectious bronchitis virus[J]. Avian dis, 2001 (45): 366-372.

【责任编辑:刘少雷】