

# 运动蛋白介导的病毒在植物体中的传播

韩国辉, 廖祥儒\*, 史海水, 赵慧, 崔哲, 吴立峰

(河北大学生命科学学院, 河北保定 071002)

**摘要:** 综述了病毒在植物寄主内扩散中的运动蛋白的作用。由病毒基因组编码的运动蛋白与病毒核酸形成运动蛋白核酸复合物, 介导病毒扩散。在病毒复制与扩散过程中, 运动蛋白与宿主细胞内质网、高尔基体、细胞骨架、胞间连丝发生作用, 并受细胞果胶甲基酯酶、包含体、 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶、磷酸化等因素的影响, 形成了植物体内遗传物质系统性运输的一个模式。

**关键词:** 病毒传播; 运动蛋白; 细胞器; 细胞因子; 综述

中图分类号: Q71

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2004)06-0587-06

## Transportation of Plant Viruses Mediated by Movement Proteins

HAN Guo-hui, LIAO Xiang-ru\*, SHI Hai-shui, ZHAO Hui, CUI Zhe, WU Li-feng

(Life Science of College, Hebei University, Baoding 071002, China)

**Abstract:** The role of virus movement protein in the spread of infection in plants is reviewed. The subjects include: movement protein-nucleic acid complex mediates viral cell-to-cell movement; the roles of cellular organelles or cellular factors on viral spread, including endoplasmic reticulum, cytoskeleton, pectin methyl esterase, inclusion bodies, and  $\beta$ -1, 3-glucanase; and regulation of the activity of movement protein.

**Key words:** Virus transportation; Movement protein; Cellular organelle; Cell factor; Review

病毒在进入植物细胞后, 经复制并把自身遗传物质(DNA 或 RNA)传送到靶器官或组织的其它细胞内起作用, 才能引起特定部位发病。遗传物质的传送或扩散或以病毒粒子形式, 或以不完整粒子形式进行, 通常发生在两个水平上: (a)通过胞间连丝的细胞间运动; (b)通过宿主细胞维管系统扩散。已知病毒在植物细胞间运动需要病毒、胞间连丝或其他细胞构件间特异作用。在大多数植物病毒中, 一种仅由病毒编码的非结构性的运动蛋白(Movement protein, MP)负责介导病毒在植物体中的传播, 这一过程通过 MP 和植物细胞的一些亚细胞结构的相互作用来完成<sup>[1]</sup>。在 60 年代, 人们认为植物病毒可能是以被动扩散的方式通过胞间连丝进行转移的, 但是 80 年代以来, 随着人们对植物病毒基因组结构和功能研究的不断深入, 发现植物病毒在寄主细胞间的运动是一种主动过程, 并且随着越来越多的植物病毒 MP 基因被克隆和序列分析, 人们对 MP

的多功能性质的了解也越来越深入。人们已经开展了大量的对运动蛋白在寄主体内的亚细胞定位工作, 并运用分子生物学和基因工程等手段得到并利用烟草花叶病毒突变体, 阐明运动蛋白与寄主细胞器及其构件作用的分子机理。虽然植物病毒及其运动蛋白对寄主生命过程产生的更深远的影响还有待探讨, 但现在已明确病毒的侵染过程及其生命过程与寄主的生命过程是相互影响, 密不可分的。本文综述了病毒在植物寄主内扩散过程中运动蛋白的作用, 主要阐述了植物病毒在寄主中的运动是由病毒的基因产物—运动蛋白与寄主成分相互作用的一种主动运动过程。

### 1 MP- 核酸复合物—病毒细胞间运动的媒介

已知大多数的植物病毒 MP 均能不同程度地

与核酸结合<sup>[1]</sup>。其中烟草花叶病毒 MP 与 RNA 和单链 DNA (Single stranded DNA, ssDNA) 的结合没有特异性, 以核蛋白形式通过胞间连丝<sup>[2,3]</sup>; 花椰菜花叶病毒 (Cauliflower mosaic virus, CaMV) 的 MP 更倾向与 RNA 分子结合, 与烟草花叶病毒 (TMV) MP 相似, CaMV MP 与单链核酸结合形成狭长而不折叠的复合物<sup>[4]</sup>; 红三叶草坏死花叶病毒 (Red clover necrotic mosaic virus, RCNMV) MP 虽然能与 RNA 和 DNA 结合, 但不明显地改变核酸的分子结构<sup>[5]</sup>; 菜豆矮花叶双子病毒 (Bean dwarf mosaic virus, BDMV) 则能编码 BL1 和 BR1 两种 MP, BL1 只能与双链 DNA (Double stranded DNA, dsDNA) 结合并介导其转移<sup>[6]</sup>, BR1 既能与 dsDNA 结合也能与 ssDNA 结合并介导其转移。南瓜曲叶双生病毒 (Squash leaf curl virus, SqLCV) MP 只能与 ssDNA 结合, 它的两种 MP BL1 和 BR1 的共同作用形成 BL1-BR1-ssDNA 复合物才能介导 ssDNA 穿过胞间连丝<sup>[7]</sup>; 豇豆花叶病毒 (Cowpea mosaic virus, CpMV) MP 不与核酸结合, 而是形成管道结构介导病毒颗粒通过胞间连丝<sup>[8]</sup>。另外, 一些植物病毒通常没有进行细胞间运动的能力, 但它们能通过同其他异源的但具有细胞间运动能力的病毒共同侵染而获得这种能力。因此, MP 的作用可能通过两种模式来完成, 其中的一种叫顺式作用, MP 呈游离状态, 可以直接作用于胞间连丝, 并最终使病毒 RNA 进入相邻细胞; 另一种叫反式作用, MP 通过与病毒核酸形成复合物, 才能作用于胞间连丝, 达到转运病毒核酸的目的<sup>[1,2]</sup>。

根据对多种病毒胞间转移机制的研究, 提出了运动蛋白参与病毒胞间运动的牵引模型, 认为植物细胞可使病毒复制但不能使其在胞间转移, 而病毒运动蛋白可以通过修饰胞间连丝使病毒扩散<sup>[9]</sup>。在这一过程中, MP 先被细胞壁上相关的蛋白质激酶磷酸化, 增强它与细胞骨架蛋白质和果胶甲基酯酶 (Pectin methyl esterase, PME) 的相互作用, 并最终引起胞间连丝蛋白质构象改变, 引起胞间连丝孔径增大。在这一过程中, 只是病毒进入相邻细胞, MP 则存留在感染细胞, 并聚集在胞间连丝中。奇怪的是病毒只能顺着原来的扩散方向在胞间连丝中移动, 而不能反向运动; 这样有利于防止病毒重新进入已感染的细胞、提高病毒的细胞间运动速率和病毒感染效率<sup>[1]</sup>。

## 2 细胞器或细胞因子对病毒扩散的作用

细胞内病毒的扩散或转移过程是病毒胞间运

动的重要环节, 因此细胞器或细胞因子对病毒扩散也有重要作用。

### 2.1 内质网

利用与绿色荧光蛋白 (Green fluorescent protein, GFP) 融合的融合蛋白 TMV MP-GFP, 已经证实 TMV MP 和病毒复制酶相似, 均定位于受病毒感染的烟草叶片和烟草原生质的内质网 (Endoplasmic reticulum, ER) 上。利用布雷菲尔德菌素 A (Brefeldin A) 处理使 ER 降解, 也可以阻碍 TMV MP 从原生质中向细胞表面的运输<sup>[10]</sup>, 因此 TMV MP 与 ER 的相互作用可能对 TMV MP 在原生质膜上的定位是必需的。已知 TMV MP 的羧基端暴露于游离的内质网小体的原生质面, 但 TMV MP 与 ER 结合的分子学机制还不清楚。不过 TMV MP 本身无内质网表面所识别的序列, 而且它在体外表达实验中, 不与细胞膜结合, 说明引导 TMV MP 到达内质网的过程可能需要一个由宿主细胞编码的蛋白因子。

### 2.2 细胞骨架

TMV MP 的胞间运动需要 TMV MP 与细胞骨架相互作用。微管和微丝上存在 MP, 说明细胞骨架成分参与了胞间连丝定位和病毒 RNA-MP 复合物的胞间运动过程。这一假说与许多细胞骨架构件的调节活性与 RNA 的特异运输和最终定位锚定有关的生物学系统理论相一致<sup>[11]</sup>。已有报道, TMV MP 能与微管蛋白和稍有伸展的肌动蛋白结合。离体研究表明, TMV MP-GFP 能够积聚在受病毒感染的原生质体的微管蛋白和肌动蛋白微丝上<sup>[12]</sup>。随后的研究证实了表达突变的 MP (TAD5) 的细胞中的病毒 RNA 不能在原生质中正常定位<sup>[13]</sup>, 这个突变的 MP 可与病毒 RNA 结合, 但不能与微管结合, 这些研究确定了 MP 介导病毒 RNA 与微管结合的作用。定位在感染细胞原生质内的 TMV MP-GFP 所引起的动力学变化能够促使 TMV MP 沿着细胞骨架移动。在细胞感染 18-20 h 后, TMV MP-GFP 成丝线状排列, 而在 48-72 h 后, 大多数 TMV MP-GFP 转移到细胞表面<sup>[14]</sup>。由于细胞骨架成分, 尤其是肌动蛋白, 很可能与胞间连丝相连, 推测 TMV MP 和其他病毒 RNA 的复合物有可能利用细胞骨架成分作胞内运动。

研究表明<sup>[1]</sup>, 烟草花叶病毒和细胞骨架之间的相互作用可能具有其他不同的生物学功能, 其中一个功能可能是依赖于宿主的应对病毒感染的防御

作用<sup>[15]</sup>。在烟草(*Nicotiana tabacum*)中<sup>[15]</sup>,烟草花叶病毒的 MP 与细胞骨架相互作用,在感染部位前沿的细胞内形成一个特殊形式的 MP-GFP 丝状物,从而发生了病毒的细胞间运动。但在本氏烟草(*Nicotiana benthamiana*)中<sup>[15]</sup>,MP-GFP 丝状物只存在于被感染组织的内部区域,随着 MP 的降解,MP-GFP 荧光跟着减少,说明在本氏烟草中的细胞骨架成分可能促进 MP 降解。已经证实,哺乳动物细胞中微管参与了诱导细胞蛋白的降解<sup>[16]</sup>,TMV MP-GFP 在细胞表面只呈孔位点(Punctate sites)的积聚,表明微管并不直接参与 TMV MP 定位于这些假定的胞间连丝区域<sup>[10]</sup>。MP-细胞骨架相互作用的另一个可能的作用是把 MP 蛋白锚定在细胞质内,从而限制了 TMV MP 运动。

### 2.3 果胶甲基酯酶(Pectin methyl esterase, PME)

为了鉴定和分析细胞壁上的 MP 受体蛋白,Chen 等用凝胶电泳法分离烟草细胞壁蛋白,然后用游离的 MP 作为探针标记,发现 TMV MP 结合于分子量 33–38 kDa 的胞壁结合蛋白上<sup>[9]</sup>。用 MP 亲和层析纯化后,序列分析表明它们与烟草果胶甲基酯酶(PME)同源。根据纯化后 PME 的氨基酸序列,已经克隆得到烟草中编码这种蛋白基因的 3' 末端部分,并推测整个基因翻译产物的大小将大于 50 kDa。由于大多数植物的 PME 估计在 32–42 kDa 之间,烟草 PME 的成熟可能需要一个翻译后的剪切。作用于 MP 的 PME,电泳迁移率相当于 33–38 kDa,说明其在翻译加工后才成为成熟的功能蛋白。

已经证实 TMV MP 可与来源于西红柿和桔子等不同植物的成熟的或未加工的 PME 结合<sup>[17]</sup>,其结合部位在 130 和 185 氨基酸残基之间,这个区域的缺乏可抑制病毒在烟草组织中的扩散,但并不干扰病毒基因组的复制和组装。因此,PME 与 MP 结合能促进 TMV MP 对植物宿主细胞间病毒基因组 RNA 的转运。

PME 多基因家族的成员是细胞壁代谢所需要的,并在植物细胞生长发育中发挥一定作用。目前普遍认为 PME 能够调节细胞微环境 pH 和离子浓度平衡,并影响细胞壁的孔隙度(Porosity)<sup>[18]</sup>。另外,PME 还参与植物对病毒攻击的应答等过程,其中 PME 与 TMV MP 的相互作用表明细胞壁结合蛋白在植物病毒运动过程中起了作用。TMV MP 与 PME 结合可能通过几种机制促进病毒运动:首先,MP 可

能结合未加工的 PME,PME 有向 ER 转移定位的信号,并最终向细胞壁运输。尽管 MP 本身不携带识别 ER 的信号序列,但未加工的 PME 与 TMV MP 的结合后,提供了内质网信号,产生了利用 ER 的 MP 分泌途径并最终使 TMV MP 定位到细胞壁上<sup>[1]</sup>。其次,PME 也可能仅仅作为细胞壁结合 TMV MP 的受体起作用<sup>[19]</sup>。免疫电镜显示<sup>[9]</sup>,PME 分布于整个细胞壁(包括胞间连丝),TMV MP 与 PME 结合并锚定在宿主细胞壁上。在这一过程中,TMV MP 与 PME 在胞间连丝附近的结合,将启动细胞间运输过程。相反,在细胞壁区域(不包括胞间连丝部分)TMV MP 与 PME 结合时,将会导致运动的失败,并伴随着 TMV MP 的降解或受引导返回细胞质。这一模式假定 TMV MP 定位于细胞的表面,可能忽略了胞间连丝的存在。事实上,最近的资料表明在烟草原生质中表达的 TMV MP,在细胞表面没有使胞间连丝形成突起。在这些细胞中,TMV MP 可能通过结合存在于细胞壁上的 PME 从而识别细胞表面<sup>[10]</sup>。

### 2.4 包含体

观察用 TMV MP:GFP 侵染的细胞中的包含体发现包含体中含有复制酶,病毒 RNA<sup>[10]</sup>和 MP<sup>[20]</sup>,说明包含体可能是病毒核酸复制和蛋白合成的位点。已知这些包含体含有 ER,它是侵染期间 MP 较早定位的地方。早期的研究也表明 TMV 复制复合物可与从感染细胞获得的膜提取物共纯化<sup>[21]</sup>。电子显微镜技术则进一步证实了 TMV 复制与细胞质内含物或病毒内含物关系<sup>[22]</sup>。在病毒侵染期间这些内含物密度增大,由富含核糖体基质管道集合形成“X 体”。

起源于质膜的包含体外膜是一些病毒复制的重要位点,例如,雀麦花叶病毒(Brome mosaic virus, BMV)<sup>[23]</sup>,烟草蚀纹病毒(Tobacco etch virus, TEV)<sup>[24]</sup>和脊髓灰质炎病毒就需要质膜的参与<sup>[25]</sup>;而病毒复制与 ER 膜的联系以及源自 ER 的内含体的形成,则可能为病毒正确翻译、复制和有效移动提供了基础,同时还能防止病毒被宿主先天性的防御反应所破坏。另外,质膜也可能对复制复合物的结构产生影响;Osman 和 Buck<sup>[26]</sup>就发现 RNA 聚合酶的活性只与膜上的酶有关,聚合酶降解后,依赖质膜的活力不能再恢复,说明最初 RNA 合成可能需要质膜;而膜结构也影响后续 ssRNA 生成<sup>[27]</sup>。

Reichel 和 Benchy<sup>[28]</sup>曾报道,从 ER 补充的质膜

在 TMV 侵染的细胞内,能瞬时形成包含体;这些“ER 聚集体”(ER aggregates)的形成和随后的消失与 MP 的聚集和降解同步发生;不过 ER 的补充是 MP 的作用,它不依赖于病毒侵染。利用缺乏编码 MP 能力的衍生病毒(TMV- $\Delta$ M)感染原生质体,在经肌动蛋白解聚剂(细胞松弛剂)处理后,同样没有发现含有病毒 RNA 的包含体,说明 MP 和微丝参与源自 ER 膜结构的形成和锚定<sup>[20]</sup>。但根据早期对缺少 MP 的 TMV 突变体的研究<sup>[29]</sup>,ER 的形成和稳定对病毒复制似乎是不重要的,事实上, TMV- $\Delta$ M RNA 与 ER 结合是病毒 RNA 和复制酶的固有性质,而不需要 MP<sup>[20]</sup>。最近的研究表明<sup>[30]</sup>,缺乏 MP55 羧基端氨基酸的 MP-GFP 复合蛋白虽不能在包含体中聚集,但仍然能保持 MP 在细胞间转运病毒 RNA 的能力,不过其效率有所下降,说明包含体对病毒复制和病毒运动具有促进作用。

### 2.5 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶( $\beta$ -1,3-glucanase, GLU1)

Gregor 等报道<sup>[31]</sup>,缺乏  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶可降低病毒对突变体烟草的侵染、抑制病毒扩散、降低胞间连丝的通透极限,增加  $\beta$ -1,3-葡聚糖胍质在细胞壁的沉淀。为了进一步探索 GLU1 在病毒感染时病毒胞间运动过程中的作用,把 *glu1* 基因插入到 TMV 中,在感染细胞中过量表达,可引起侵染区局部破损程度提高。而表达反义 GLU1 的病毒,会导致侵染区局部破损区域减小。让植物生长在 32℃ 的条件下来阻断过敏反应的病毒扩散试验也证实: $\beta$ -1,3-葡聚糖酶的作用有利于病毒扩散<sup>[31]</sup>。

## 3 MP 活性的调节

已经证明, TMV MP 是一种磷酸化蛋白<sup>[32]</sup>,但没有糖基化。用尼克酸处理来减少环腺苷酸(Cyclic adenosine monophosphate, cAMP),可以减少 TMV 在叶片中的积累,但不能抑制 TMV 在原生质体内的增殖<sup>[33]</sup>。

磷酸化可以发生在 TMV MP 分子的多个位点。最好的 TMV MP 磷酸化位点包括羧基端丝氨酸-258, 苏氨酸-261 和丝氨酸-265 残基,它们在体内和体外可被宿主细胞壁结合的蛋白激酶特异磷酸化<sup>[4]</sup>。在体外 TMV MP 磷酸化不需要  $Ca^{2+}$ ,它区别于其他一些与植物细胞壁结合的丝、苏氨酸特异蛋白激酶的活性,羧基端磷酸化对 TMV MP 功能的影响是通过研究负调控其在磷酸化位点氨基酸取代物得知

的。已经知道这一方法揭示了磷酸化的静电作用。例如,异柠檬酸脱氢酶由于丝氨酸-265 的磷酸化而失活,天冬氨酸位点上的取代结果相同<sup>[34]</sup>。同样,用天冬氨酸残基取代丝氨酸-258, 苏氨酸-261 和丝氨酸-265 都会在微注射后使 TMV MP 增加胞间连丝通透性的活性丧失<sup>[1]</sup>。这种对 TMV MP 与胞间连丝相互作用的负调控是由宿主提供的。在烟草(*N. tabacum*) 这种模仿的磷酸化抑制了 TMV MP 扩展胞间连丝的能力,然而在本氏烟草(*N. benthamiana*) 中,同样的 TMV MP 衍生物仍然保留与未磷酸化 MP 相同的活性<sup>[1]</sup>,因而,本氏烟草这个对植物病毒最敏感的宿主,可能缺少通过磷酸化使 TMV MP 失活的机制<sup>[35]</sup>。

因为 TMV MP 羧基端磷酸化阻碍了它与胞间连丝的相互作用,它也将阻止病毒在细胞间和体内的扩散。事实上,MP 突变型 TMV 就不能在烟草局部或系统地移动,但是突变的病毒完全可以在能表达野生型 TMV MP 的转基因植物中移动。说明突变没有干扰病毒基因的复制和翻译<sup>[1]</sup>。烟草体内 MP 磷酸化对 TMV 运动的影响也是由宿主提供的,但在本氏烟草中不发生影响。除了控制与胞间连丝的相互作用,在病毒的生命循环中, TMV MP 被结合于细胞壁的蛋白激酶磷酸化可能还调控其他一些过程。例如:在缺乏细胞壁和胞间连丝的植物原生质体中, TMV MP 抑制了 MP-RNA 复合物中病毒 RNA 的翻译。但是在穿过胞间连丝期间或之后的细胞壁中,通过 TMV MP 的磷酸化, TMV MP-RNA 转化成一种可翻译的形式。因而, TMV MP 磷酸化可能是在病毒扩散和复制、翻译过程中的一个分子开关。

在植物细胞壁上除了 TMV MP 羧基端发生磷酸化,在其他的丝氨酸残基上也可发生磷酸化,可能是通过宿主细胞中的其他蛋白激酶。尽管这种磷酸化位点的生物学作用还不清楚,但至少它们中的一些可能对 TMV MP 的功能起关键性作用。例如:最近的研究表明在烟草原生质中,如果番茄花叶病毒(Tomato mosaic virus)的 MP 的丝-37 和丝-238 被磷酸化<sup>[36]</sup>,尽管丝-238 的突变不会影响病毒的侵染性,但在 37 位置的氨基酸的变化,会改变番茄花叶病毒 MP 在细胞内定位并降低它的稳定性。有趣的是丝-37 被另一个磷酸化的苏氨酸残基取代仍然导致了植物原生质中番茄花叶病毒 MP 突变而引发的稳定性降低。

除了磷酸化,其他形式的翻译后修饰也可能影响 TMV MP 的功能。研究表明<sup>[7]</sup>,在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中,如果 TMV MP 的氨基末端被蛋白水解处理,经过处理的 TMV MP 是无功能的。这就表明,蛋白水解可能是另一种降低 TMV MP 活性的策略,是否其他的植物病毒 MP 或者内源性细胞间移动蛋白也进行翻译后修饰还不知道<sup>[1]</sup>。

## 4 结束语

在自然界中,一般植物病毒都对植物寄主的生命过程起破坏作用,而对人类来说,既然植物病毒有把遗传物质导入寄主细胞,并使其在寄主体内复制、表达、扩散的能力,就有可能把这种对植物的不利因素转化为有利因素加以利用。尽管迄今为止,还没有建立起一个完善的以植物 RNA 病毒为基因载体的基因转化体系,但是近年来的研究已取得了长足进展,并建立了实验性的载体系统。病毒在寄主体内的生命过程是病毒与寄主相互作用的过程。通过对病毒感染机理的研究,使我们有可能对整个过程中涉及到的各个环节,各种物质加以改造利用。例如,突变的 MP 基因在转基因植株中的表达可能阻断野生型 MP 的功能<sup>[8]</sup>。自然存在的抗病毒现象,可能就是由于 MP 与寄主成分(胞间连丝)之间的不亲和的相互作用的结果。病毒与植物寄主在长期的进化过程中,已经建立起了非常紧密、复杂的关系,通过对他们相互作用关系的深入研究,将为人类利用、改造植物提供新的思路和途径。另外, Xoonostle-Cázares 等<sup>[9]</sup>从笋瓜(*Cucubita maxima*)中克隆得到的 CmPP16 蛋白具有与病毒运动蛋白类似的性质,CmPP16 mRNA 存在于韧皮部组织中,而蛋白似乎局限在筛管中。微注射和融合实验发现 CmPP16 在细胞间运动,介导正义和反义 RNA 的转运,并且与它的 mRNA 一起移动到幼嫩组织的筛管中。同时, RNA 向远距离组织和发育器官的传递,可能反映了植物利用这一机制来调节翻译事件<sup>[13]</sup>。因此,运动蛋白有可能是植物与病毒共进化的一个纽带,病毒利用运动蛋白进行侵染扩散;而在获得了病毒的 MP 基因之后,由于 MP 介导的过程对植物细胞壁的作用,有可能导致低等植物向高等维管植物的演化,同时植物也可能利用这一机制对蛋白表达进行翻译前调控。但 MP 及其基因在不同进化类型植物中的存在和特征如何还待研究。

## 参考文献

- [1] Tzfira T, Rhee Y, Chen M-H, et al. Nucleic acid transport in plant-microbe interactions: the molecules that walk through the walls [J]. *Annu Rev Microbiol*, 2000, 54:187-219.
- [2] Citovsky V, Knorr D, Schuster G, et al. The P30 movement protein of tobacco mosaic virus is a single strand nucleic acid binding protein [J]. *Cell*, 1990, 60:637-647.
- [3] Citovsky V, Wong M L, Shaw A, et al. Visualization and characterization of tobacco mosaic virus movement protein binding to single-stranded nucleic acids [J]. *Plant Cell*, 1992, 4:397-411.
- [4] Citovsky V, Knorr D, Zambryski P. Gene I, a potential movement locus of CaMV encodes an RNA binding protein [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88:2476-2480.
- [5] Fujiwara T, Giesman-Cookmeyer D, Ding B. Cell-to-cell trafficking of macromolecules through plasmodesmata potentiated by the red clover necrotic mosaic virus movement protein [J]. *Plant Cell*, 1993, 5(12):1783-1794.
- [6] Noueiry A O, Lucas W J, Gilbertson R L. Two proteins of a plant DNA virus coordinate nuclear and plasmodesmal transport [J]. *Cell*, 1994, 76:925-932.
- [7] Pascal E, Sanderfoot A A, Ward B M, et al. The geminivirus BR1 movement protein binds single-stranded DNA and localizes to the cell nucleus [J]. *Plant Cell*, 1994, 6:995-1006.
- [8] Lekkerkerker A, Wellink J, Yuan P, et al. Distinct functional domains in the cowpea mosaic virus movement protein [J]. *J Virol*, 1996, 70:5658-5661.
- [9] Chen M H, Sheng J, Hind G, et al. Interaction between the tobacco mosaic virus movement protein and host cell pectin methyl-esterases is required for viral cell-to-cell movement [J]. *EMBO J*, 2000, 19:913-920.
- [10] Heinlein M, Padgett H S, Gens J S, et al. Changing patterns of localization of the tobacco mosaic virus movement protein and replicase to the endoplasmic reticulum and microtubules during infection [J]. *Plant Cell*, 1998, 10:1107-1120.
- [11] Kloc M, Bilinski S, Chan A P, et al. RNA localization and germ cell determination in *Xenopus* [J]. *Int Rev Cytol*, 2001, 203:63-91.
- [12] Heinlein M, Epel B L, Padgett H S, et al. Interaction of tobamovirus movement proteins with the plant cytoskeleton [J]. *Science*, 1995, 270:1983-1985.
- [13] Más P, Beachy R N. Role of microtubules in the intracellular distribution of tobacco mosaic virus movement protein [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97:12345-12349.
- [14] McLean B G, Zupan J, Zambryski P C. Tobacco mosaic virus movement protein associates with the cytoskeleton in tobacco cells [J]. *Plant Cell*, 1995, 7:2101-2114.
- [15] Padgett H S, Epel B L, Kahn T W, et al. Distribution of tobamovirus movement protein in infected cells and implications for cell-to-cell spread of infection [J]. *Plant J*, 1996, 10:1079-1088.
- [16] Aplin A, Jasionowski T, Tuttle D L, et al. Cytoskeletal elements are required for the formation and maturation of autophagic

- vacuoles [J]. *J Cell Physiol*, 1992, 152(3):458-466.
- [17] Gaffe J, Tiznado M E, Handa A K. Characterization and functional expression of a ubiquitously expressed tomato pectin methyl-esterase [J]. *Plant Physiol*, 1997, 114:1547-1556.
- [18] Nairn C J, Lewandowski D J, Burns J K. Genetics and expression of two pectinesterase genes in Valencia orange [J]. *Physiol Plant*, 1998, 102:226-235.
- [19] Dorokhov Y L, Makinen K, Frolova O Y, et al. A novel function for a ubiquitous plant enzyme pectin methyl-esterase: the host-cell receptor for the tobacco mosaic virus movement protein [J]. *FEBS Lett*, 1999, 461(3):223-228.
- [20] Más P, Beachy R N. Replication of tobacco mosaic virus on endoplasmic reticulum and role of the cytoskeleton and virus movement in intracellular distribution of viral RNA [J]. *Cell Biol*, 1999, 147:945-958.
- [21] Watanabe Y, Okada Y. *In vitro* viral RNA synthesis by a subcellular fraction of TMV-inoculated tobacco protoplasts [J]. *Virology*, 1986, 149:73-74.
- [22] Martelli G P, Russo M. Plant virus inclusion bodies [J]. *Adv Virus Res*, 1977, 21:175-266.
- [23] Restropo-Hartwig M A, Ahlquist P. Brome mosaic virus helicase- and polymerase-like proteins colocalize on the endoplasmic reticulum at sites of viral RNA synthesis [J]. *J Virol*, 1996, 70: 8908-8916.
- [24] Schaad M C, Jensen P E, Carrington J C. Formation of plant RNA virus replication complexes on membranes role of an endoplasmic reticulum-targeted viral protein [J]. *EMBO J*, 1997, 16:4049-4059.
- [25] Bienz K, Egger D, Rasser Y, et al. Characterization of the poliovirus replication complex [J]. *Arch Virol*, 1994, 9(Suppl.): 147-157.
- [26] Osman T A, Buck K W. Complete replication *in vitro* of tobacco mosaic virus RNA by a template-dependent, membrane-bound RNA polymerase [J]. *J Virol*, 1996, 70:6227-6234.
- [27] Osman T A M, Buck K W. The tobacco mosaic virus RNA polymerase complex contains a plant protein related to the RNA-binding subunit of yeast eIF-3 [J]. *J Virol*, 1997, 71:6075-6082.
- [28] Reichel C, Beachy R N. Tobacco mosaic virus infection induces severe morphological changes of the endoplasmic reticulum [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95:11169-11174.
- [29] Meshi T, Watanabe Y, Saito T, et al. Function of the 30 kD protein of tobacco mosaic virus: involvement in cell-to-cell movement and dispensability for replication [J]. *EMBO J*, 1987, 6:2557-2563.
- [30] Boyko V, van der Laak J, Ferrali J, et al. Cellular targets of functional and dysfunctional mutants of tobacco mosaic virus movement protein fused to GFP [J]. *J Virol*, 2000, 74:11339-11346.
- [31] Bucher G L, Tarina C, Heinlein M, et al. Local expression of enzymatically active class I-1, 3-glucanase enhances symptoms of TMV infection in tobacco [J]. *Plant J*, 2001, 28(3):361-369.
- [32] Mushegian A R, Koonin E V. Cell-to-cell movement of plant viruses: insights from amino acid sequence comparisons of movement proteins and from analogies with cellular transport system [J]. *Arch Virol*, 1993, 133:239-257.
- [33] Sanderfoot A A, Lazarowitz S G. Cooperation in viral movement: the geminivirus BL1 movement protein interacts with BR1 and redirects it from the nucleus of the cell periphery [J]. *Plant Cell*, 1995, 7(8):1185-1194.
- [34] Thorsness P E, Koshland D E. Inactivation of isocitrate dehydrogenase by phosphorylation is mediated by the negative charge of the phosphate [J]. *J Biol Chem*, 1987, 262:10422-10425.
- [35] Dawson W O, Hilf M E. Host-range determinants of plant viruses [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1992, 43:527-555.
- [36] Kawakami S, Padgett H S, Hosokawa D, et al. Phosphorylation and/or presence of serine37 in the movement protein of tomato mosaic tobamovirus is essential for intracellular localization and stability *in vivo* [J]. *J Virol*, 1999, 73:6831-6840.
- [37] Hughes R K, Perbal M C, Maule A J, et al. Evidence for proteolytic processing of tobacco mosaic virus movement protein in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Mol Plant-Microbe Interact*, 1995, 8:658-665.
- [38] 张振臣, 李大伟, 于嘉林, 等. 植物病毒细胞间运动及运动蛋白基因介导的抗病性研究进展 [J]. *农业生物技术学报*, 2000, 8(4): 403-408.
- [39] Xoconostle-Cázares B, Xiang Y, Ruiz-Medrano R, et al. Plant paralog to viral movement protein that potentiates transport of mRNA into the phloem [J]. *Science*, 1999, 283(1):94-98.