



新城疫病毒与其它副黏病毒基质蛋白功能的比较

段志强¹, 胡顺林², 刘秀梵^{2*}

¹ 贵州大学, 高原山地动物遗传育种与繁殖教育部重点实验室, 贵州 贵阳 550025

² 扬州大学, 农业部畜禽传染病学重点开放实验室, 江苏 扬州 225009

摘要: 近年来研究发现, 副黏病毒基质蛋白(Matrix protein, M)是一种多功能病毒蛋白, 在细胞内不仅能抑制宿主细胞基因的转录和翻译、调节病毒基因组的复制和转录以及招募细胞蛋白协助病毒粒子组装和出芽, 还可以通过自身的泛素化和磷酸化修饰促进病毒的复制。然而, 作为副黏病毒成员之一的新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV), 其M蛋白目前仅证实参与了NDV的组装和出芽释放过程, 其它副黏病毒M蛋白的功能在NDV中尚不清楚。本文结合近年来国内外副黏病毒M蛋白功能的相关研究进展, 将NDV与其它副黏病毒M蛋白功能进行比较, 着重阐述了M蛋白在NDV毒力、复制和致病性等方面的功能和作用机制, 并对NDV M蛋白功能研究中存在的问题和今后的研究方向进行了展望。

关键词: 新城疫病毒, 副黏病毒, 基质蛋白, 组装和出芽

副黏病毒是一类能引起人和动物严重发病的重要病原体, 在世界范围内广泛流行^[1-2]。目前已报道的麻疹病毒(Measles virus, MeV)、副流感病毒(Parainfluenza virus, PIV)、人呼吸道合胞体病毒(Human respiratory syncytial virus, HRSV)、仙台病毒(Sendai virus, SeV)、新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV)以及新发现的尼帕病毒(Nipah virus, NiV)等均属于副黏病毒成员。副黏病毒是一种有囊膜、含有单股负链不分节段基因组的RNA病毒, 其基因组主要编码核衣壳蛋白(Nucleocapsid protein, NP)、磷蛋白(Phosphate

protein, P)、基质蛋白(Matrix protein, M)、融合蛋白(Fusion protein, F)、血凝素-神经氨酸酶蛋白(Hemagglutinin-Neuraminidase protein, HN)和大蛋白(Large protein, L)等6-7种结构蛋白^[3-4], 以及P基因通过RNA编辑产生的一种到几种非结构蛋白如V、W蛋白等^[5]。其中M蛋白是副黏病毒编码的一种非糖基化蛋白, 位于病毒囊膜内表面, 在调节病毒RNA的复制和转录以及促进子代病毒粒子的组装和出芽过程中发挥着重要作用^[4]。近年来, 国内外研究人员对副黏病毒M蛋白的功能和作用机制有了较为清晰的认识。例如, 研究发现

基金项目: 国家自然科学基金(31502074); 公益性行业(农业)科研专项(201303033); 贵州省科技创新人才团队(黔科合人才团队[2015]4016); 贵州大学引进人才科研项目(贵大人基合字(2014)10号)

*通信作者。Tel: +86-514-87991416; Fax: +86-514-87972591; E-mail: xfliu@yzu.edu.cn

收稿日期: 2015-10-14; 修回日期: 2016-01-11; 网络出版日期: 2016-01-13

HRSV M蛋白在细胞核中可结合宿主细胞RNA, 从而抑制细胞mRNA的转录及蛋白质的合成^[6]; MeV M蛋白可与自身NP蛋白发生相互作用, 调节细胞质中病毒基因组RNA的复制和转录^[7]; NiV M蛋白K258位点的泛素化对M蛋白的核输出、细胞膜定位以及病毒的出芽至关重要^[8]; SeV M蛋白存在YLDL晚期结构域, 并通过与细胞Alix/AIP1的相互作用促进病毒的组装和出芽^[9]。然而, 以上副黏病毒M蛋白的功能研究结果在NDV中尚未得到证实。鉴于M蛋白在NDV生活周期中的重要性, 本文结合近年来副黏病毒M蛋白功能的相关研究进展, 将NDV与其它副黏病毒M蛋白功能进行比较和述评, 以期为进一步研究NDV M蛋白的功能和作用机制提供理论基础和参考。

1 M蛋白与NDV毒力和致病力的关系

对大多数病毒而言, 毒力与病毒复制效率和致病性呈正相关。大量的研究表明, F和HN蛋白是NDV的主要毒力决定因子, 前者裂解位点的多碱性氨基酸基序是NDV毒力的首要决定因素^[10], 而后者在NDV的毒力和组织嗜性方面起关键作用^[11]。在其它病毒蛋白与NDV毒力研究方面, 有学者利用反向遗传操作技术研究了NP、P和L蛋白在NDV毒力中的作用。研究发现, 将NDV弱毒株L基因替换到中强毒株增强了病毒的复制能力, 但是替换NP和P却没有作用^[12]; 而将NDV强毒株的NP、P和L基因替换到弱毒株中, 却增强了弱毒株的致病性; 相反, 则减弱了强毒株的致病性^[13-14]。这些结果表明, NP、P和L蛋白与NDV的毒力呈一定的相关性。在M蛋白与NDV毒力关系研究方面, 将NDV弱毒株AV324/94 M蛋白基因替换到强毒株Herts/33中降低了病毒的ICPI值, 但是相反方向的替换并没有提高弱毒株的ICPI值^[14] (表1)。近几年, 我们课题组在研究M蛋白点突变对NDV毒力的影响中发现, M蛋白F23A、P24A

以及R42A突变均能显著降低母本病毒的毒力(MDT和ICPI)和病毒滴度^[15-16](表1)。此外, 在基因VII d亚型NDV损害鸡免疫系统的分子机制研究方面, Kai等在基因VII d亚型强毒株JS5/05与基因IV型强毒株Herts/33之间替换M、F和HN基因, 结果发现M、F、HN单基因以及F和HN双基因替换不如M、F和HN三基因替换拯救的病毒对鸡脾脏造成的免疫损伤强烈, 说明M蛋白与F和HN蛋白之间存在协同作用^[17]。由于M蛋白与NP和HN蛋白之间存在相互作用^[18], 这些位点的突变是否影响了它们彼此的互作, 进而影响了NDV的毒力和复制能力还有待进一步研究。总之, 以上研究结果说明除F和HN蛋白以外, 其它病毒蛋白在NDV毒力的贡献中均不同程度地发挥了作用。

表1. M蛋白与NDV毒力

Table 1. The M protein and NDV virulence

Virus	Parent	MDT	ICPI	Refs
FL-Herts	Herts/33	-	1.54	[14]
FL-Herts(M) ^{AV}	Herts/33	-	1.18	[14]
rgAV324	AV324/96	-	0.10	[14]
rgAV324(M) ^H	AV324/96	-	0.00	[14]
rZJ1	ZJ1	52 h	1.91	[15]
rZJ1-M.F23A	rZJ1	102 h	1.64	[15]
rZJ1-M.P24A	rZJ1	84 h	1.70	[15]
rZJ1GFP-M.R42A	rZJ1GFP	115 h	1.64	[16]

-: not detect. Superscript AV: M gene originating from strain AV324/96. Superscript H: M gene originating from strain Herts/33.

在M蛋白与NDV致病力研究方面, 最早见于对温度敏感的NDV M蛋白点突变后导致F蛋白不能包裹到病毒颗粒中, 进而降低了病毒的复制能力和致病力^[19]。国内王蕾等^[20]利用荧光素酶实验检测NDV M蛋白在体外对细胞炎症因子的诱导作用, 结果表明, M蛋白可通过抑制细胞表达促炎性因子, 抑制宿主细胞的免疫应答, 降低细胞对病毒的抵抗力, 从而促进NDV在细胞内的复制。

Yin等^[21]构建了针对NDV M基因的RNA干扰载体, 转染NDV感染后的CEF细胞, 通过抑制M蛋白的表达水平, 可显著降低NDV的复制能力和致病力。此外, 吴双^[22]利用不同基因型NDV感染CEF细胞, 通过蛋白质组学鉴定NDV感染细胞后的差异蛋白中存在M蛋白, 并且分析发现随着感染时间的延长, NDV强毒的M蛋白表达量呈递增趋势, 而NDV中强毒M蛋白表达量呈递减趋势, 这与病毒毒力和致病力呈正相关。因此, M蛋白作为NDV生活周期中的一个多功能蛋白, 越来越多的研究证实其在NDV的毒力和致病力中起着重要作用, 它的深入研究对阐明NDV的致病机制具有重要意义。

2 M蛋白核质穿梭机制与功能

副黏病毒M蛋白细胞核定位的报道最早见于对SeV M蛋白亚细胞定位的研究^[23]。后续研究相继证实了其它副黏病毒如NDV^[24-25]、HRSV^[6]和NiV^[8]等, 其M蛋白在病毒感染细胞早期就能定位在细胞核, 而在感染后期则进入细胞质中。因此, 副黏病毒M蛋白是一种细胞核-细胞质穿梭蛋白。目前, 研究人员对副黏病毒M蛋白的核质穿梭机制有了一定的认识。研究表明, HRSV和NiVM蛋白通过蛋白中存在的功能性核定位信号(Nuclear localization signal, NLS)和核输出信号(Nuclear export signal, NES)完成核质穿梭过程^[6,26-27]。对HRSV M蛋白核质穿梭机制的进一步研究发现, HRSV M蛋白通过其NLS结合核输入受体Importin β 1, 并在Ran-GTPase的作用下穿过核膜进入细胞核^[26]; 而转出细胞核则通过M蛋白的NES序列结合核输出受体CRM1来完成^[27]。

同样作为副黏病毒成员的NDV, 早期的研究已证实其M蛋白通过自身携带的双重NLS进入细胞核^[28], 但与之相互作用的核转运受体还未得到证实。在NDV M蛋白核输出机制的研究方面, 我

们的研究发现NDV M蛋白中存在3个NES介导其核输出, 但是这种核输出途径不依赖于细胞的核输出受体CRM1^[29]。到目前为止, 对其它副黏病毒M蛋白核质穿梭功能的研究已有很多报道, 而对NDV M蛋白核质穿梭的功能仍然认识较少。我们的前期研究证实, 对NDV M蛋白R42A突变不仅影响M蛋白的细胞核定位, 而且严重降低NDV在细胞内的复制效率和对鸡的致病力, 结果暗示了M蛋白细胞核定位对NDV复制和致病性的重要性^[16]。虽然对NDV M蛋白核质定位的确切功能还不清楚, 但根据对其它副黏病毒M蛋白功能的研究^[4,30], 可以推测出M蛋白核质穿梭对NDV的复制至少有3个作用: 一是, 在细胞核内抑制宿主细胞基因的转录和翻译, 促进病毒基因组的复制和转录; 二是, 与核衣壳蛋白相互作用, 调控病毒基因组在细胞质内的复制和转录水平; 三是, 通过与细胞膜和病毒核衣壳蛋白以及糖蛋白相互作用, 对子代病毒粒子进行组装和释放。因此, M蛋白核质定位功能的研究对阐明NDV复制和致病机制具有重要意义, 值得进一步深入研究。

3 M蛋白在NDV组装和出芽中的作用

病毒基因组复制与转录完成后, 需要通过病毒蛋白之间的相互作用, 把病毒基因组与病毒蛋白包裹在一起。目前, 病毒样颗粒(Virus-like particles, VLP)是研究副黏病毒所编码蛋白在病毒粒子组装过程中发挥功能的主要技术手段^[4]。在NDV VLP形成机制的研究方面^[18], 研究人员发现M蛋白单独表达就能形成完整的VLP, 只不过VLP直径小于病毒粒子实际的直径; 当M蛋白与NP蛋白、F蛋白或HN蛋白分别共表达时, 也未能增加VLP的直径; 但是当M蛋白与NP蛋白、HN蛋白和F蛋白四者共表达时, 可形成与病毒粒子直径大小相同的VLP。此外, 通过荧光共定位和免疫共沉淀试验发现, M蛋白与NP蛋白和HN蛋白之

间存在直接的相互作用, 而与F蛋白没有相互作用, 但F和HN蛋白之间存在相互作用^[18]。因此, NDV病毒粒子的组装是通过M蛋白与含NP蛋白的RNP、HN蛋白和F蛋白之间的彼此相互作用来完成的, 其中M蛋白是NDV组装的核心因素。

研究已证实副黏病毒M蛋白包含病毒出芽的全部信息, 是病毒出芽的主要驱动力^[4]。虽然副黏病毒M蛋白中不存在类似逆转录病毒Gag蛋白的晚期结构域(Late domain, L-domain)^[31], 但是相同功能的L-domain也已被鉴定(表2)。最早发现的副黏病毒M蛋白L-domain是人副流感病毒5型(HPIV5) M蛋白的FPIV基序^[32], 随后SeV M蛋白的YLDL基序^[9], 腮腺炎病毒(MuV) M蛋白的FPVI基序^[33], NiV M蛋白的YMYL^[34]和YPLGVG基序^[35], 以及NDV M蛋白FPIV基序^[15]相继得到鉴定并证实对病毒出芽起关键作用。有趣的是, HPIV5、MuV和NDV M蛋白具有相似的L-domain, 在对M蛋白中FPIV-like基序单点突变的病毒进行拯救时, 发现F或P的突变均能显著降低病毒的出芽效率, 而对FPIV-like基序联合突变则不能拯救出病毒^[15,32-33]。这些结果说明M蛋白中的FPIV-like L-domain对HPIV5、MuV和NDV出芽至关重要, 其中F和P氨基酸位点起关键作用。

表2. 副黏病毒M蛋白的晚期结构域

Table 2. L-domains found in the M protein of paramyxoviruses

Virus	Protein	L-domain motif ^a	Direct interactions ^b	Refs
SeV	M	HGVRY <u>YLDL</u> LLLLG	Alix/AIP1 (VPS4A)	[9]
NDV	M	SSLLA <u>FPIV</u> LQDTG	n.d. (VPS4A)	[15]
HPIV5	M	QSIKA <u>FPIV</u> INSDG	n.d. (VPS4A)	[32]
MuV	M	RLNA <u>FPVI</u> MGQ	n.d. (VPS4A)	[33]
NiV	M	KYNNY <u>MYLI</u> CYG	n.d.	[34]
		TIAAY <u>P</u> LVGVGKSAS	n.d.	[35]

n.d.: Not determined. ^a: The L-domains identified in the M protein were shown in underline. ^b: Direct interactions as determined by yeast two-hybrid, co-immunoprecipitation, or colocalization studies. Proteins in parentheses indicate functional importance in budding as determined by dominant-negative or cellular depletion studies.

此外, 病毒完成出芽过程除了依赖病毒蛋白中的L-domain, 还需要通过L-domain招募宿主细胞蛋白在细胞膜位点为其组装和出芽服务。目前, 宿主细胞蛋白参与囊膜病毒出芽的研究在逆转录病毒中已有较为明确的阐释^[31]。大量的研究表明, 逆转录病毒正是利用了宿主的内体分选转运系统-空泡蛋白分选系统(Vacuolar protein sorting, VPS), 实现病毒的组装和出芽过程^[36]。对副黏病毒M蛋白与宿主细胞VPS蛋白的相互作用研究起步较晚, 目前仅证实SeV M蛋白的YLDL L-domain能与宿主VPS中的Alix/AIP1蛋白相互作用促进病毒的出芽(表2); 对YLDL基序进行突变, 不仅降低了与Alix/AIP1蛋白的结合, 还降低了SeV VLP的释放^[9]。对于HPIV5、MuV以及NDV M蛋白中FPIV-like L-domain与宿主VPS中细胞蛋白的相互作用还未得到证实, 但通过在细胞内过表达VPS4A蛋白的突变体VPS4A-E228Q(该突变蛋白不能使病毒蛋白从细胞膜上释放)显著抑制了病毒的出芽进程, 来说明HPIV5、MuV和NDV的出芽也需要M蛋白FPIV-like L-domain招募细胞蛋白^[15,32-33](表2)。因此, 宿主细胞VPS系统中的何种蛋白参与了NDV的组装和出芽过程, 是否可以通过阻断NDV出芽来抑制NDV的复制和致病进程, 还需更多的试验研究来证实。

4 M蛋白与细胞蛋白互作对NDV复制和致病性的作用

由于病毒自身编码蛋白的能力有限, 不能编码病毒复制所需的所有蛋白, 因此需要利用宿主细胞蛋白或细胞结构组分来完成病毒的生活周期。近年来, 对病毒粒子的蛋白质组学研究证实, 多种RNA病毒如SARS冠状病毒^[37]、传染性支气管炎病毒^[38]和猪繁殖与呼吸障碍综合症病毒^[39]等, 病毒囊膜中均含有宿主细胞的蛋白组分。有研究人员对NDV病毒粒子进行蛋白质组学分析,

发现除了NDV自身的NP、P、M、F和HN蛋白外,还有多种宿主细胞蛋白得到鉴定,如细胞膜联蛋白A2、细胞骨架蛋白 β -actin和Tubulin、以及细胞热休克蛋白Hsp90等^[40]。以上研究结果说明多种宿主细胞蛋白参与了病毒的生活史。

由于M蛋白对副黏病毒的复制和致病进程具有重要作用^[4],因此,与M蛋白互作的细胞蛋白在病毒复制中扮演的角色引起了研究人员的兴趣。国外有学者利用酵母双杂交方法筛选出与HPIV5 M蛋白相互作用的细胞蛋白angiomin-like 1和14-3-3,研究发现细胞蛋白angiomin-like 1可与HPIV5 M蛋白互作促进HPIV5 VLP的释放以及病毒的感染^[41];而细胞蛋白14-3-3却与HPIV5 M蛋白互作抑制病毒的出芽,降低病毒的复制效率^[42]。此外,还有学者在细胞内过表达HRSV M蛋白,利用免疫共沉淀方法钓取与M蛋白互作的细胞蛋白,通过质谱鉴定的方法发现核磷蛋白B23和F-actin 2个细胞蛋白与HRSV M蛋白存在相互作用^[43],但这种互作对HRSV复制的意义目前还未见报道。

在NDV M蛋白与细胞蛋白相互作用的研究方面,最早报道的是M蛋白与细胞肌动蛋白actin互作促进了NDV的出芽^[44]。近年来,国内学者利用酵母双杂交的方法从鸡法氏囊细胞cDNA文库中筛选出与NDV M蛋白互作的细胞蛋白charged multivesicular body protein 4b (CHMP4B),利用RNA干扰技术沉默细胞内CHMP4B的表达或利用显性抑制竞争性阻断试验均能显著抑制NDV的复制效率,说明细胞蛋白CHMP4B与M蛋白互作有利于NDV的复制^[45]。利用NDV杀死肿瘤细胞是近些年研究的热门方向,研究人员发现除HN蛋白外,M蛋白也具有诱导肿瘤细胞凋亡的作用,其实质是M蛋白与促细胞凋亡蛋白Bax发生了相互作用^[46],说明M蛋白与促细胞凋亡蛋白的互作可增强NDV的溶瘤能力。另外,早期的研究表明NDV M蛋白可定位在细胞核仁^[24],我们的研究发现,

M蛋白与细胞核磷蛋白B23具有核仁共定位且存在相互作用^[47]。通过RNA干扰技术沉默B23蛋白的表达不仅减少了M蛋白的核仁定位,而且严重影响了NDV的复制效率和致病性。结果说明M蛋白通过与B23蛋白相互作用进入核仁,进而促进了NDV的复制能力和致病性^[48]。虽然目前在NDV M蛋白与细胞蛋白互作方面取得了一些新进展,但对这种蛋白互作的生物学意义研究仍处于起始阶段,还有待于我们进一步去阐明。

5 结语

M蛋白是NDV编码的结构蛋白中分子量最小但却含量最为丰富的蛋白,主要位于病毒囊膜内表面,构成病毒内膜与核衣壳连接的支架,在病毒的生活周期中扮演着重要的角色^[49]。目前对NDV M蛋白的很多研究主要集中在M蛋白介导的病毒VLP形成机制上,这为运用NDV VLP包裹外源蛋白作为新型疫苗取得较大的研究进展^[50]。目前国内外对NDV多个病毒蛋白的结构与功能有了较为清晰的认识,虽然M蛋白的晶体结构已经解析^[51],但是至今为止,对M蛋白在NDV复制和致病进程中发挥的确切功能仍然是知之甚少。

NDV与HRSV、SeV、HPIV5和NiV等同属于副黏病毒科成员,其M蛋白也具有相同的核质定位特征,提示NDV M蛋白在细胞核中也可结合细胞RNA来抑制宿主细胞基因的转录和翻译,在细胞质中可与NP蛋白互作来调节病毒基因组的复制和转录水平,但还需进一步的实验验证。值得注意的是,NDV M蛋白除细胞核定位外,还有明显的核仁定位,这与其它副黏病毒M蛋白亚细胞定位不同。由于核仁是细胞rRNA基因转录、RNA前体加工成熟和核糖体亚单位组装的场所,NDV M蛋白在整个感染过程中均能定位在核仁,这对NDV劫持宿主细胞蛋白翻译系统的机制研究提供了一个方向。另外,研究发现副黏病毒M蛋白是

一种高度碱性、疏水性但不跨膜的病毒蛋白, M蛋白中含有较多的碱性氨基酸和磷酸化位点。最近有研究证实, NiV M蛋白中存在泛素化修饰(K258)介导M蛋白的核输出和子代病毒粒子的出芽^[8], 而HRSV M蛋白中存在磷酸化修饰(T205)有助于M蛋白自身寡聚化和完整病毒粒子的形成^[52]。NDV M蛋白中是否也存在类似的泛素化和磷酸化修饰来调控M蛋白的结构和功能以及病毒的复制和致病性, 这些方面还有待于我们去进一步研究和探讨。幸运的是, 随着其它副黏病毒M蛋白功能的不断解析, 为我们研究NDV M蛋白的功能和作用机制提供了借鉴, 将有助于我们更好地阐明NDV的复制和致病机理。

参考文献

- [1] Virtue ER, Marsh GA, Wang LF. Paramyxoviruses infecting humans: the old, the new and the unknown. *Future Microbiology*, 2009, 4(5): 537–554.
- [2] Hyndman TH, Shiltan CM, Marschang RE. Paramyxoviruses in reptiles: a review. *Veterinary Microbiology*, 2013, 165(3/4): 200–213.
- [3] Takimoto T, Portner A. Molecular mechanism of paramyxovirus budding. *Virus Research*, 2004, 106(2): 133–145.
- [4] Harrison MS, Sakaguchi T, Schmitt AP. Paramyxovirus assembly and budding: building particles that transmit infections. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2010, 42(9): 1416–1429.
- [5] Kolakofsky D, Roux L, Garcin D, Ruigrok RWH. Paramyxovirus mRNA editing, the “role of six” and error catastrophe: a hypothesis. *Journal of General Virology*, 2005, 86(7): 1869–1877.
- [6] Ghildyal R, Baulch-Brown C, Mills J, Meanger J. The matrix protein of human respiratory syncytial virus localises to the nucleus of infected cells and inhibits transcription. *Archives of Virology*, 2003, 148(7): 1419–1429.
- [7] Iwasaki M, Takeda M, Shirogane Y, Nakatsu Y, Nakamura T, Yanagi Y. The matrix protein of Measles virus regulates viral RNA synthesis and assembly by interacting with the nucleocapsid protein. *Journal of Virology*, 2009, 83(20): 10374–10383.
- [8] Wang YE, Park A, Lake M, Pentecost M, Torres B, Yun TE, Wolf MC, Holbrook MR, Freiberg AN, Lee B. Ubiquitin-regulated nuclear-cytoplasmic trafficking of the Nipah virus matrix protein is important for viral budding. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(11): e1001186.
- [9] Irie T, Shimazu Y, Yoshida T, Sakaguchi T. The YLDDL sequence within Sendai virus M protein is critical for budding of virus-like particles and interacts with Alix/AIP1 independently of C protein. *Journal of Virology*, 2007, 81(5): 2263–2273.
- [10] Peeters BPH, De Leeuw OS, Koch G, Gielkens ALJ. Rescue of Newcastle disease virus from cloned cDNA: evidence that cleavability of the fusion protein is a major determinant for virulence. *Journal of Virology*, 1999, 73(6): 5001–5009.
- [11] Cornax I, Diel DG, Rue CA, Estevez C, Yu QZ, Miller PJ, Afonso CL. Newcastle disease virus fusion and haemagglutinin-neuraminidase proteins contribute to its macrophage host range. *Journal of General Virology*, 2013, 94(6): 1189–1194.
- [12] Rout SN, Samal SK. The large polymerase protein is associated with the virulence of Newcastle disease virus. *Journal of Virology*, 2008, 82(16): 7828–7836.
- [13] Dortmans JC, Rottier PJ, Koch G, Peeters BP. Passaging of a Newcastle disease virus pigeon variant in chickens results in selection of viruses with mutations in the polymerase complex enhancing virus replication and virulence. *Journal of General Virology*, 2011, 92(2): 336–345.
- [14] Dortmans JCFM, Rottier PJM, Koch G, Peeters BPH. The viral replication complex is associated with the virulence of Newcastle disease virus. *Journal of Virology*, 2010, 84(19): 10113–10120.
- [15] Duan ZQ, Hu ZL, Zhu J, Xu HX, Chen J, Liu HM, Hu SL, Liu XF. Mutations in the FPIV motif of Newcastle disease virus matrix protein attenuate virus replication and reduce virus budding. *Archives of Virology*, 2014, 159(7): 1813–1819.
- [16] Duan ZQ, Li J, Zhu J, Chen J, Xu HX, Wang YY, Liu HM, Hu SL, Liu XF. A single amino acid mutation, R42A, in the Newcastle disease virus matrix protein abrogates its nuclear localization and attenuates viral replication and pathogenicity. *Journal of General Virology*, 2014, 95(5): 1067–1073.
- [17] Kai Y, Hu ZL, Xu HX, Hu SL, Zhu J, Hu J, Wang XQ, Liu

- XW, Liu XF. The M, F and HN genes of genotype VIIId Newcastle disease virus are associated with the severe pathological changes in the spleen of chickens. *Virology Journal*, 2015, 12(1): 133.
- [18] Pantua HD, McGinnes LW, Peeples ME, Morrison TG. Requirements for the assembly and release of Newcastle disease virus-like particles. *Journal of Virology*, 2006, 80(22): 11062–11073.
- [19] Peeples ME, Bratt MA. Mutation in the matrix protein of Newcastle disease virus can result in decreased fusion glycoprotein incorporation into particles and decreased infectivity. *Journal of Virology*, 1984, 51(1): 81–90.
- [20] Wang L, Chen FY, Zheng SJ, Suo X. Induction effect of Newcastle disease virus (NDV) matrix (M) protein on the production of inflammatory factors *in vitro*. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2008, 44(4): 14–15. (in Chinese).
王蕾, 陈福勇, 郑世军, 索勋. 新城疫病毒(NDV)基质(M)蛋白在体外对炎症因子诱导的作用. *中国兽医杂志*, 2008, 44(4): 14–15.
- [21] Yin RF, Ding Z, Liu XX, Mu Z, Cong YL, Stoeger T. Inhibition of Newcastle disease virus replication by RNA interference targeting the matrix protein gene in chicken embryo fibroblasts. *Journal of Virological Methods*, 2010, 167(1): 107–111.
- [22] 吴双. 2005–2008年华东地区NDV遗传进化分析和代表性毒株感染细胞的比较蛋白质组研究. 扬州大学博士学位论文, 2010.
- [23] Yoshida T, Nagai Y, Maeno K, Iinuma M, Hamaguchi M, Matsumoto T, Nagayoshi S, Hoshino M. Studies on the role of M protein in virus assembly using a mutant of HVJ (Sendai virus). *Virology*, 1979, 92(1): 139–154.
- [24] Peeples ME, Wang C, Gupta KC, Coleman N. Nuclear entry and nucleolar localization of the Newcastle disease virus (NDV) matrix protein occur early in infection and do not require other NDV proteins. *Journal of Virology*, 1992, 66(5): 3263–3269.
- [25] Duan ZQ, Li QH, He L, Zhao G, Chen J, Hu SL, Liu XF. Application of green fluorescent protein-labeled assay for the study of subcellular localization of Newcastle disease virus matrix protein. *Journal of Virological Methods*, 2013, 194(1/2): 118–122.
- [26] Ghildyal R, Ho A, Wagstaff KM, Dias MM, Barton CL, Jans P, Bardin P, Jans DA. Nuclear import of the respiratory syncytial virus matrix protein is mediated by importin β 1 independent of importin α . *Biochemistry*, 2005, 44(38): 12887–12895.
- [27] Ghildyal R, Ho A, Dias M, Soegiyono L, Bardin PG, Tran KC, Teng MN, Jans DA. The respiratory syncytial virus matrix protein possesses a Crml-mediated nuclear export mechanism. *Journal of Virology*, 2009, 83(11): 5353–5362.
- [28] Coleman NA, Peeples ME. The matrix protein of Newcastle disease virus localizes to the nucleus via a bipartite nuclear localization signal. *Virology*, 1993, 195(2): 596–607.
- [29] Duan ZQ, Song QQ, Wang YY, He L, Chen J, Zhu YM, Hu SL, Liu XF. Characterization of signal sequences determining the nuclear export of Newcastle disease virus matrix protein. *Archives of Virology*, 2013, 158(12): 2589–2595.
- [30] Ghildyal R, Ho A, Jans DA. Central role of the respiratory syncytial virus matrix protein in infection. *FEMS Microbiology Reviews*, 2006, 30(5): 692–705.
- [31] Zhadina M, Bieniasz PD. Functional interchangeability of late domains, late domain cofactors and ubiquitin in viral budding. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(10): e1001153.
- [32] Schmitt AP, Leser GP, Morita E, Sundquist WI, Lamb RA. Evidence for a new viral late-domain core sequence, FPIV, necessary for budding of a paramyxovirus. *Journal of Virology*, 2005, 79(5): 2988–2997.
- [33] Li M, Schmitt PT, Li Z, McCrory TS, He B, Schmitt AP. Mumps virus matrix, fusion, and nucleocapsid proteins cooperate for efficient production of virus-like particles. *Journal of Virology*, 2009, 83(14): 7261–7272.
- [34] Ciancanelli MJ, Basler CF. Mutation of YMYL in the Nipah virus matrix protein abrogates budding and alters subcellular localization. *Journal of Virology*, 2006, 80(24): 12070–12078.
- [35] Patch JR, Han ZY, McCarthy SE, Yan LY, Wang LF, Harty RN, Broder CC. The YPLGVG sequence of the Nipah virus matrix protein is required for budding. *Virology Journal*, 2008, 5: 137.
- [36] Demirov DG, Freed EO. Retrovirus budding. *Virus Research*, 2004, 106(2): 87–102.
- [37] Ying WT, Hao YW, Zhang YJ, Peng WM, Qin E, Cai Y, Wei KH, Wang J, Chang GH, Sun W, Dai SJ, Li XH, Zhu YP, Li JQ, Wu SF, Guo LH, Dai JQ, Wang JL, Wan P, Chen TG, Du CJ, Li D, Wan J, Kuai XZ, Li WH, Shi R, Wei HD, Cao C, Yu M, Liu H, Dong FT, Wang DG, Zhang XM, Qian XH, Zhu QY, He FC. Proteomic analysis on structural proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Proteomics*, 2004,

- 4(2): 492–504.
- [38] Kong QM, Xue CY, Ren XP, Zhang CW, Li LL, Shu DM, Bi YZ, Cao YC. Proteomic analysis of purified coronavirus infectious bronchitis virus particles. *Proteome Science*, 2010, 8: 29.
- [39] Zhang CW, Xue CY, Li Y, Kong QM, Ren XP, Li XM, Shu DM, Bi YZ, Cao YC. Profiling of cellular proteins in porcine reproductive and respiratory syndrome virus virions by proteomics analysis. *Virology Journal*, 2010, 7: 242.
- [40] Ren XP, Xue CY, Kong QM, Zhang CW, Bi YZ, Cao YC. Proteomic analysis of purified Newcastle disease virus particles. *Proteome Science*, 2012, 10(1): 32.
- [41] Pei ZF, Bai YT, Schmitt AP. PIV5 M protein interaction with host protein angiomin-like 1. *Virology*, 2010, 397(1): 155–166.
- [42] Pei ZF, Harrison MS, Schmitt AP. Parainfluenza virus 5 M protein interaction with host protein 14–3–3 negatively affects virus particle formation. *Journal of Virology*, 2011, 85(5): 2050–2059.
- [43] Oliveira AP, Simabuco FM, Tamura RE, Guerrero MC, Ribeiro PGG, Libermann TA, Zerbini LF, Ventura AM. Human respiratory syncytial virus N, P and M protein interactions in HEK-293T cells. *Virus Research*, 2013, 177(1): 108–112.
- [44] Giuffre RM, Tovell DR, Kay CM, Tyrrell DL. Evidence for an interaction between the membrane protein of a paramyxovirus and actin. *Journal of Virology*, 1982, 42(3): 963–968.
- [45] Li X, Li XQ, Cao H, Wang YQ, Zheng SJ. Engagement of new castle disease virus (NDV) matrix (M) protein with charged multivesicular body protein (CHMP) 4 facilitates viral replication. *Virus Research*, 2013, 171(1): 80–88.
- [46] Molouki A, Hsu YT, Jahanshahi F, Abdullah S, Rosli R, Yusoff K. The matrix (M) protein of Newcastle disease virus binds to human bax through its BH3 domain. *Virology Journal*, 2011, 8: 385.
- [47] Duan ZQ, Chen J, He L, Xu HX, Li QH, Hu SL, Liu XF. Matrix protein of Newcastle disease virus interacts with avian nucleophosmin B23.1 in HEK-293T cells. *Acta Microbiologica Sinica*, 2013, 53(7): 730–736. (in Chinese).
段志强, 陈坚, 何亮, 许海旭, 李群辉, 胡顺林, 刘秀梵. 新城疫病毒基质蛋白与禽细胞核磷蛋白B23.1在HEK-293T细胞中的相互作用. *微生物学报*, 2013, 53(7): 730–736.
- [48] Duan ZQ, Chen J, Xu HX, Zhu J, Li QH, He L, Liu HM, Hu SL, Liu XF. The nucleolar phosphoprotein B23 targets Newcastle disease virus matrix protein to the nucleoli and facilitates viral replication. *Virology*, 2014, 452–453: 212–222.
- [49] Duan ZQ, Xu HQ, Ji XQ, Zhao JF. Recombinant Newcastle disease virus-vectored vaccines against human and animal infectious diseases. *Future Microbiology*, 2015, 10(8): 1307–1323.
- [50] McGinnes LW, Morrison TG. Newcastle disease virus-like particles: preparation, purification, quantification, and incorporation of foreign glycoproteins. *Current Protocols in Microbiology*, 2013, 30: Unit 18.2.
- [51] Battisti AJ, Meng G, Winkler DC, McGinnes LW, Plevka P, Steven AC, Morrison TG, Rossmann MG. Structure and assembly of a paramyxovirus matrix protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(35): 13996–14000.
- [52] Bajorek M, Caly L, Tran KC, Maertens GN, Tripp RA, Bacharach E, Teng MN, Ghildyal R, Jans DA. The Thr205 phosphorylation site within respiratory syncytial virus matrix (M) protein modulates M oligomerization and virus production. *Journal of Virology*, 2014, 88(11): 6380–6393.

Function comparison of the matrix protein between Newcastle disease virus and other paramyxoviruses - A review

Zhiqiang Duan¹, Shunlin Hu², Xiufan Liu^{2*}

¹ Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction in the Plateau Mountainous Region, Ministry of Education, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou Province, China

² Key Laboratory of Animal Infectious Diseases of Ministry of Agriculture, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu Province, China

Abstract: Recent studies have found that the matrix protein of paramyxoviruses is a multifunctional viral protein. In addition to inhibiting the transcription and translation of cell genes, regulating the replication and transcription of viral genome and recruiting cellular proteins to facilitate viral assembly and budding, the matrix protein can enhance the replication of paramyxoviruses through its ubiquitination and phosphorylation. However, as a member of paramyxoviruses, the matrix protein of Newcastle disease virus (NDV) is only demonstrated to participate in viral assembly and budding. Moreover, the functions of matrix protein identified in other paramyxoviruses still remain unknown in NDV. This review compares the functions of matrix protein between NDV and other paramyxoviruses, and focuses on the relationship of matrix protein to the virulence, replication and pathogenicity of NDV. Meanwhile, challenges and research prospects of NDV matrix protein are also discussed.

Keywords: Newcastle disease virus, paramyxovirus, matrix protein, assembly and budding

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31502074), by the Chinese Special Fund for Agro-Scientific Research in the Public Interest (201303033), by the Science and Technology Innovation Talents Team of Guizhou Province (20154016) and by the Scientific Research Project of Guizhou University Talents Fund (GDRJHZ-2014-10)

*Corresponding author. Tel: +86-514-87991416; Fax: +86-514-87972591; E-mail: xfliu@yzu.edu.cn

Received: 14 October 2015; Revised: 11 January 2016; Published online: 13 January 2016