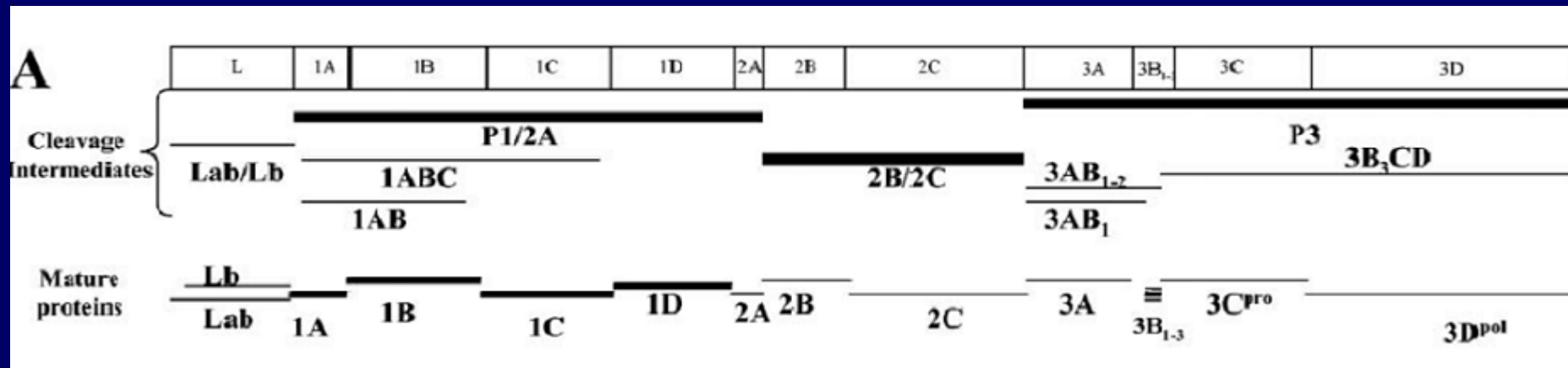


口蹄疫病毒3A蛋白 生物信息学分析

报告人：姜韶东

成员：张庆勋 杨聪山 钟自富

1st 开始的思路



- 1.非结构蛋白3A 能锚定在宿主细胞膜上，参与病毒的生物合成
- 2.1997年，台湾省暴发的O型口蹄疫致猪高发病率、高死亡率，但不感染牛（明显的宿主嗜性）

研究表明，97年台湾流行毒3A蛋白序列存在缺失



推测：3A的缺失导致了宿主嗜性产生？



需要先找出3A缺失区



3A蛋白存在疏水基团，与胞膜锚定发挥功能



推测：是否缺失区正好与膜锚定区重合，进而影响了其功能？



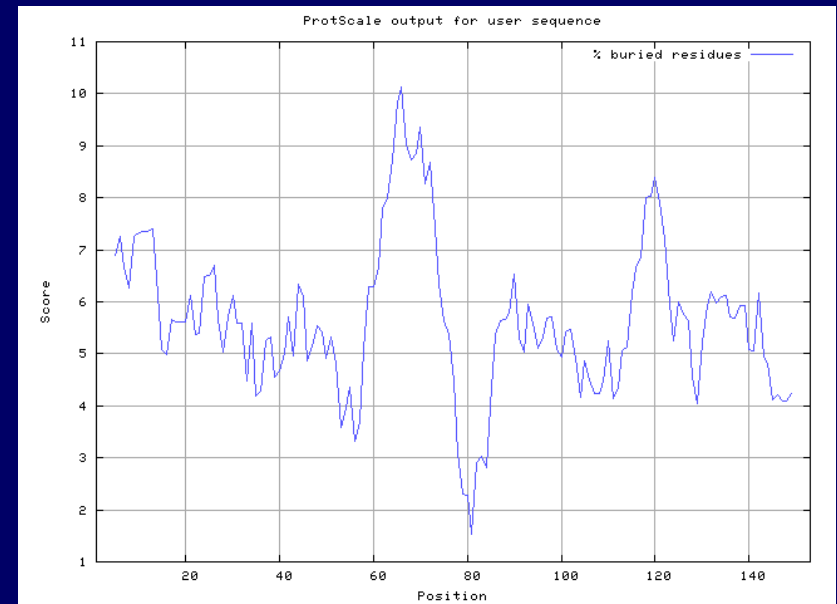
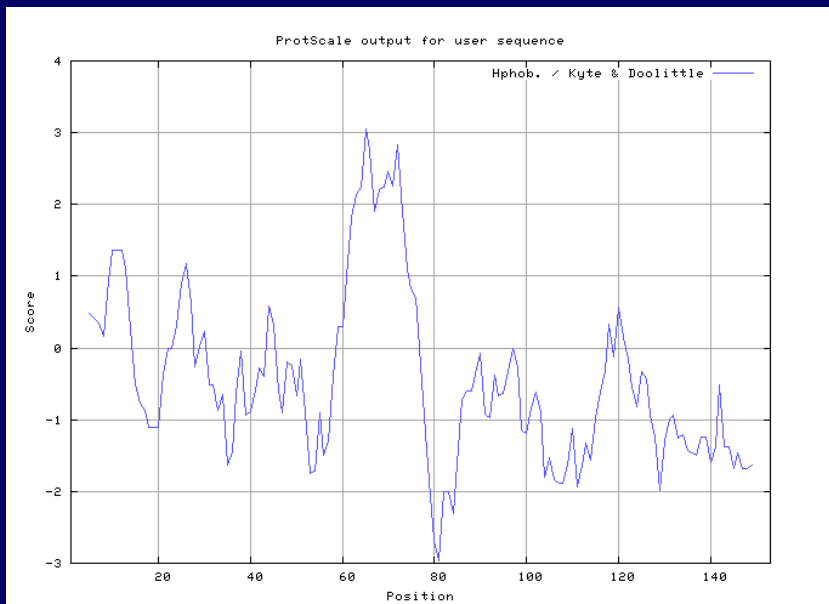
需要找到膜锚定区，与缺失区比较，看是否重合

2nd 验证初始想法

- 比对两株从台湾分离的FMDV的3A蛋白序列：O/YUN/TAW/97 (缺失)、O/TAW/2/99(全长)
- 用疏水性和不可及性软件预测全长株的膜锚定区
- 缺失区 (92-101) \neq 锚定区 (~ 60-80)
- 事情没有这么简单

2nd 验证初始想法

O/TAW/2/99	51	AFKRLKENFEIVALCLLLANIVIMIRETRKRQQMVDVAVNEYIEKASIT	100
		: : . . .::	
O/YUN/TAW/97	51	AFKRLKENFEVVALCLLLANIVIMLRQARKRYQSVDDPLD-----	91
O/TAW/2/99	101	TDDKTLDEAEKNPLETSGATTVGFREKTLPGHKASDDVNSEPAKPVVEEQP	150
		. . .: : . : .:.:.:	
O/YUN/TAW/97	92	-GDVTLGDAEKNPLETSGASAVGFRERSPTIEQGTREDANAEPVVFGRQEP	140



3rd 进一步认识

- 提取19株曾流行在东南亚的FMDV及参考株A12/UK/32,进行多序列比对
- 发现O/YUN/TAW/97的3A缺失在东南亚O/HKU/21/70以来的许多毒株中都存在，也有毒株可感染牛
- 此外在3A的133-143位氨基酸也有很多毒株存在缺失，但它们的宿主嗜性并不统一

3rd 进一步认识

A12/UK/32 (77)	RETRKRQKMVDDAVNEYIEKANITTTDDTLDEAEKNPLETSGASTVGFRRERTLTGQRACNDVNSEPARPAEEQPQAE (153)	
0/BUR/2/89 Q..... K..... P. P. HKTSD..... K. V.....	
0/BUR/6/89 Q..... K..... P. P. HKTSD..... K. V.....	
0/TAW/2/99 Q..... S..... K..... T..... K. P. HK. SD..... K. V.....	
0/HKN/21/70 (77)	RETRKRRQSVDES LND	DAALDETEKNPLETSGASAVGFRERSPTQKTCDDVNTEPVTGMEQPRAE (143)
0/HKN/19/73	.. A..... D.. D. DA..... V.. R.....
0/HKN/6/83	.. QA..... EDP. D.	.. T.. DA..... A.. R.. E. A. A... VL. R.....
0/HKN/7/85	.. QA..... EDP. D.	.. T.. DA..... V..... A.. R.. E. A. A... VL. R.....
0/HKN/7/96	.. QA..... DP. DG	.. IT. GDA..... E.. E. A. A... VL. R.....
0/HKN/16/96	.. QA..... DP. DG	.. TT. GNA..... A.. E.. E. A. A... AL. R.....
0/HKN/20/96	.. QA..... DP. DG	.. IT. GDA.. T..... E.. E. A. A... VL. R.....
0/VIT/3/97	.. HA..... DP. DS	.. IT. GGA..... C.. G..... A.. G. YE. A. A... VL. R.....
0/YUN/TAW/97	.. QA... Y... DP. DG	.. VT. GDA..... G. RE. A. A... VF. R.....
0/HKN/1/99	.. QA..... DP. DG	.. IT. GDA.. T..... P... E.. E. A. A... VLER.....
0/CAM/11/94 (77)	RETRKRQQMVDDAVNEYIEKANITTTDDKTLDEAEKNPLETSGASTVGFRRERPLPGH	NPVEEQPQAE (142)
0/CAM/12/94
0/VIT/2/97 D..... R	.. A.....
0/CAM/1/98
0/CAM/2/98
0/CAM/3/98

3rd 进一步认识

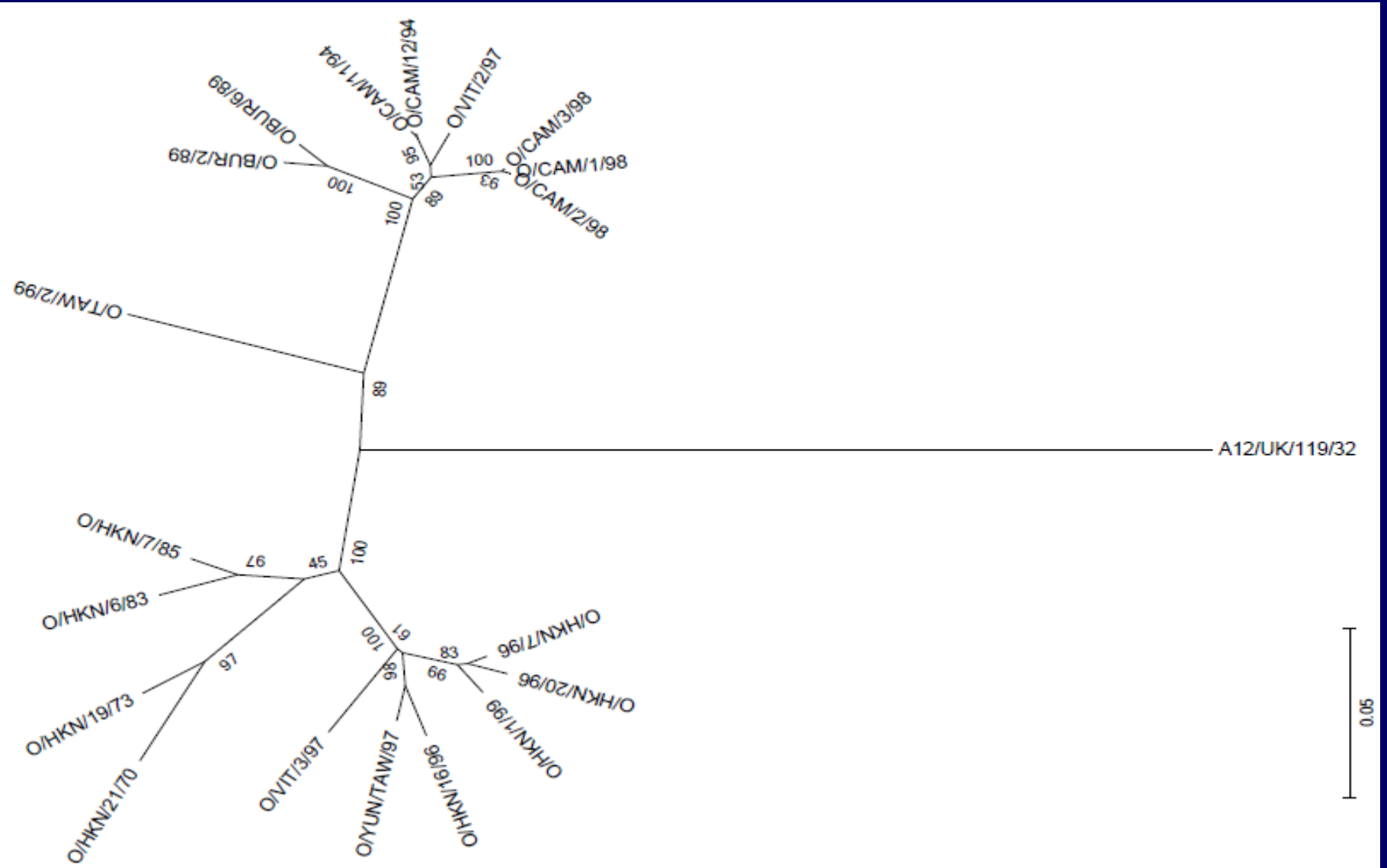
- 虽然早期嵌合病毒实验证明3A对病毒嗜性具有显著影响 (J.Virol. 2000,74(2):987.)
- 但是，蛋白序列上的单一突变可能无法完全决定FMDV嗜性，FMDV嗜性是多种蛋白共同作用决定的。3A突变株成为流行株是新环境、新宿主选择的结果。
(J.Virol.2001,75(3):1551.)

4th 其它收获

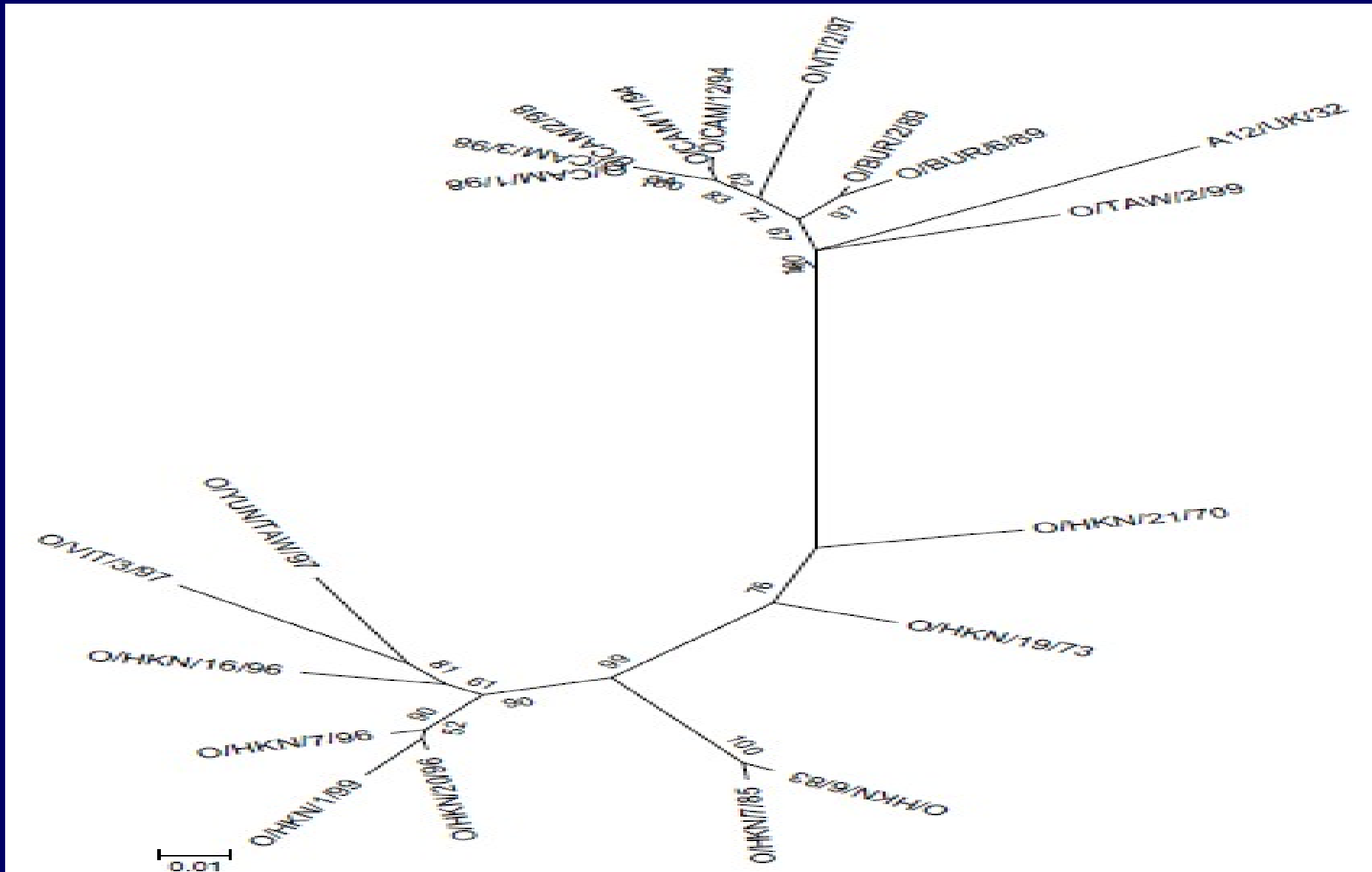
用VP1和3A的核苷酸序列分别构建上述20株FMDV的系统发育树，发现它们有相同的聚类

聚类	A12/UK/119/32 O/TAW/2/99	O/HKN/21/70	O/HKN/7/96	O/CAM/11/94
		O/HKN/6/83	O/HKN/16/96	O/CAM/12/94
		O/HKN/7/85	O/HKN/20/96	O/VIT/2/97
		O/HKN/19/73	O/VIT/3/97	O/CAM/1/98
			O/YUN/TAW/97	O/CAM/2/98
			O/HKN/1/99	O/CAM/3/98
				O/BUR/2/89
				O/BUR/6/89

4th 其它收获



4th 其它收获



4th 其它收获

1. 早期认为3A高度保守，用VP1和3A的构建的进化树显示了相似的聚类，这表明：3A蛋白与VP1共同进化（*J.Virol.*2000, 74(2):987.）
2. VP1是FMDV的中和抗原，病毒整体上总是朝着中和位点变化的方向进化，用VP1构建系统发育树较可靠

4th 其它收获

- 3. 后来发现3A也是一种高变的蛋白，保守氨基酸只占37%，仅次于VP1的24%，之前认为3A高度保守可能是因为分析样本太小
(*J.Virol.*2005,79(10):6487.)
- 4. 3A的突变性以及它可能具有的与VP1共同进化的特性表明，3A可能对流行病学和进化提供重要参考信息



- 在生命科学领域求学、科研，就像在一片浩渺的水域驾驶一艘船，生物学实验方法和生物信息学实用技术是这艘船的两条桨，只有我们恰当地掌握好这两条桨才能求得平衡、才能前进，而使我们远航的则是我们对方法的熟练运用，是我们自己的idea,是我们自己！

谢谢