



生物信息学小组交流报告（06组）

猪圆环病毒2型CL毒株Cap蛋白的功能的 验证

The Functional Verification of PCV2 CL
strain's Cap Protein

主讲人：陈冬杰

小组成员：陈冬杰 谢梅梅
张芳 张沁



内容

- **1 研究背景**
- **2 研究目的**
- **3 CL株Cap蛋白的分析**
 - 3.1 核酸序列比对
 - 3.2 进化树的构建
 - 3.3 Weblab工具的简单分析
 - 3.4 核定位信号分析
 - 3.5 入侵细胞的主要位点分析
- **4 总结**
- **5 参考文献**



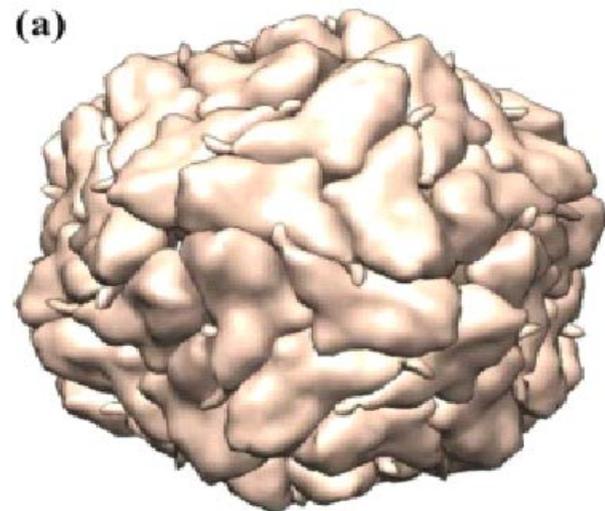
1 研究背景

- 猪圆环病毒2型（PCV2）是引起断奶仔猪多系统衰竭综合征（PWMS）的病原，主要引起感染猪生长缓慢或停滞、呼吸急促、消瘦、贫血、黄疸和淋巴结肿大等临床症状和病理变化。
- PCV2基因组为单股环状DNA，全长1767或1768nt，含有11个主要开放阅读框（ORFs）ORF1-ORF11.



1 研究背景

- ORF2编码病毒的主要结构蛋白（Cap蛋白），构成病毒的核衣壳，是诱发机体产生保护性免疫反应的主要结构蛋白，可作为新型疫苗研究进展的候选抗原。





2 研究目的

验证CL毒株的Cap蛋白具有其它毒株Cap蛋白的相关功能

- (1) Cap蛋白是非跨膜蛋白，N端富含碱性氨基酸，推测在病毒组装过程中和基因组DNA的相互作用有关。
- (2) ORF2编码的Cap蛋白的氨基末端区域存在40左右个氨基酸在核定位中起重要作用。
- (3) Cap 蛋白含有保守位点IRKVKV在病毒吸附宿主细胞中起到重要作用



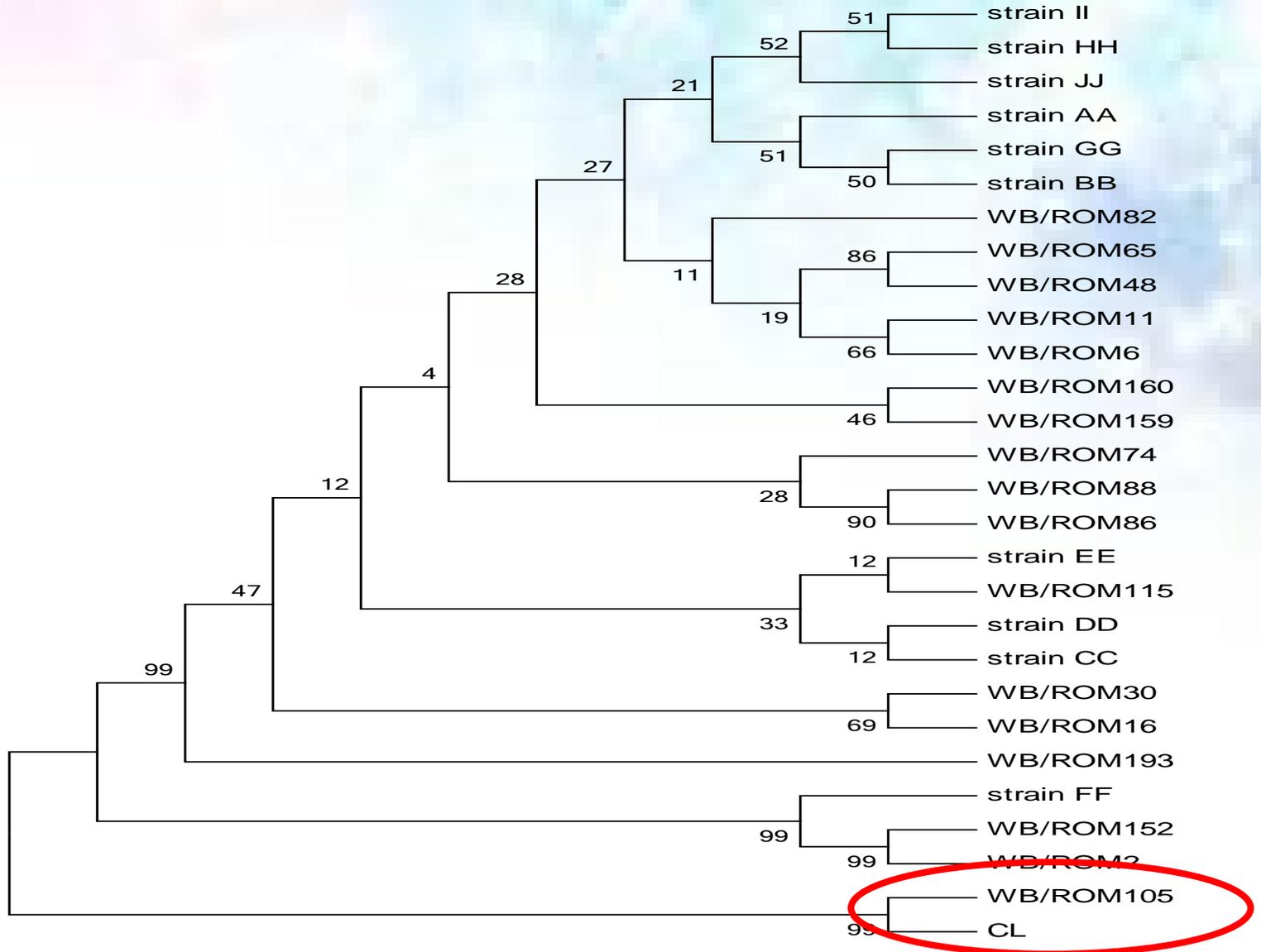
3.1 序列比对

CL毒株Cap 蛋白核苷酸序列（702nt）：

```
ATGACGTATCCAAGGAGGCGTTTTCCGCAGACGAAGACACCGC  
CCCCGCAGCCATCTTGGCCTGATCCTCCGCCGCCGCCCTGG  
CTCGTCCACCCCCGCCACCGTTACCGCTGGAGAAGGAAAAAT  
GGCATCTTCAACACCCGCCTCTCCAGCACCTTCGGATATACTG  
TCAAGGCTACCACAGTCAGAACGCCCTCCTGGACGGTGGACAT  
GATTAGATTTAATATTAACGACTTTGTTCCCCCGGGAGGGGGG  
ACCAACAAAATCTCTATACCCTTTCAATACTACAGAATAAGGAA  
GGTTAAGGTTGAATTCTGGCCCTGCTCCCCAATCATCCAGGGT  
GACAGGGGAGTGGGCTCCACTGCTGTTATTCTAGATGATAACT  
TTGTAACTAAGGCCACAGCCCTAACCTATGACCCCTATGTAAAC  
TACTCCTCCCGCCATACAATCCCCCAACCCTTCTCCTACCACTC  
CCGGTACTTTACCCCCAAACCTGTCCTTGATTCCACTATTGATT  
ACTTCCAACCAACAACAACAAAAGGAATCAGCTTTGGCTGAGACT  
ACAAACCTCGGCAAATGTGGACCACGTAGGCCTCGGCATTGC  
GTTGAAAACAGTAAATACGACCAGGACTACAATATCCGGGTA  
ACTATGTATGTACAATTCAGAGAATTTAATCTTAAAGACCCCCC  
ACTTAAACCCTAA
```




3.2 进化树的构建





3.3 WebLab工具的简单分析

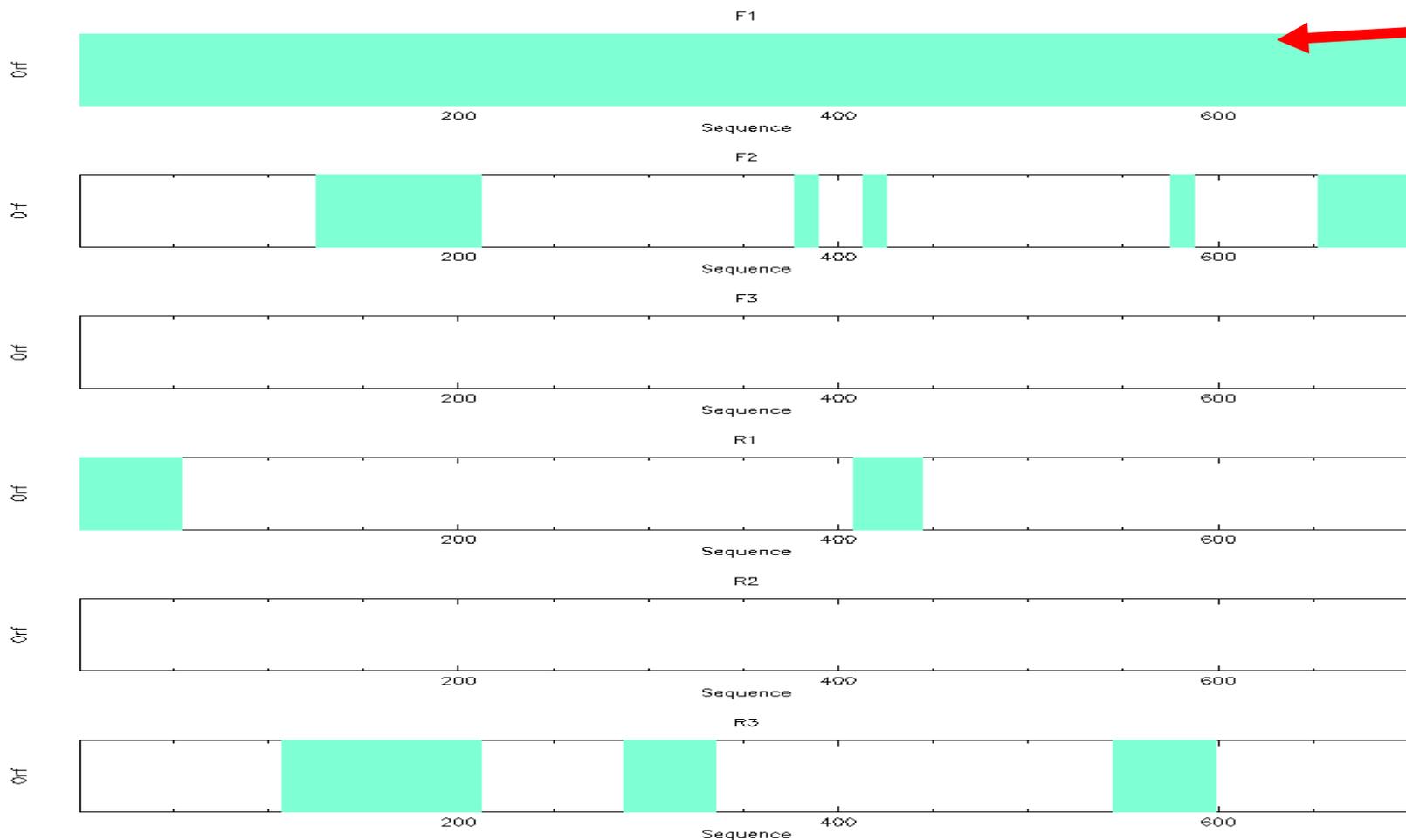
- 用needle软件对CL株和WB/ROM105核酸序列比较

LENGTH	SCORE	IDENTITY	SIMILARITY	GAPS
705	3182.0	667/705 (94.6%)	667/705 (94.6%)	5/705 (0.7%)



3.3 WebLab工具的简单分析

Plotorf软件分析





3.3 WebLab工具的简单分析

Transseq软件获取CL株Cap蛋白质序列

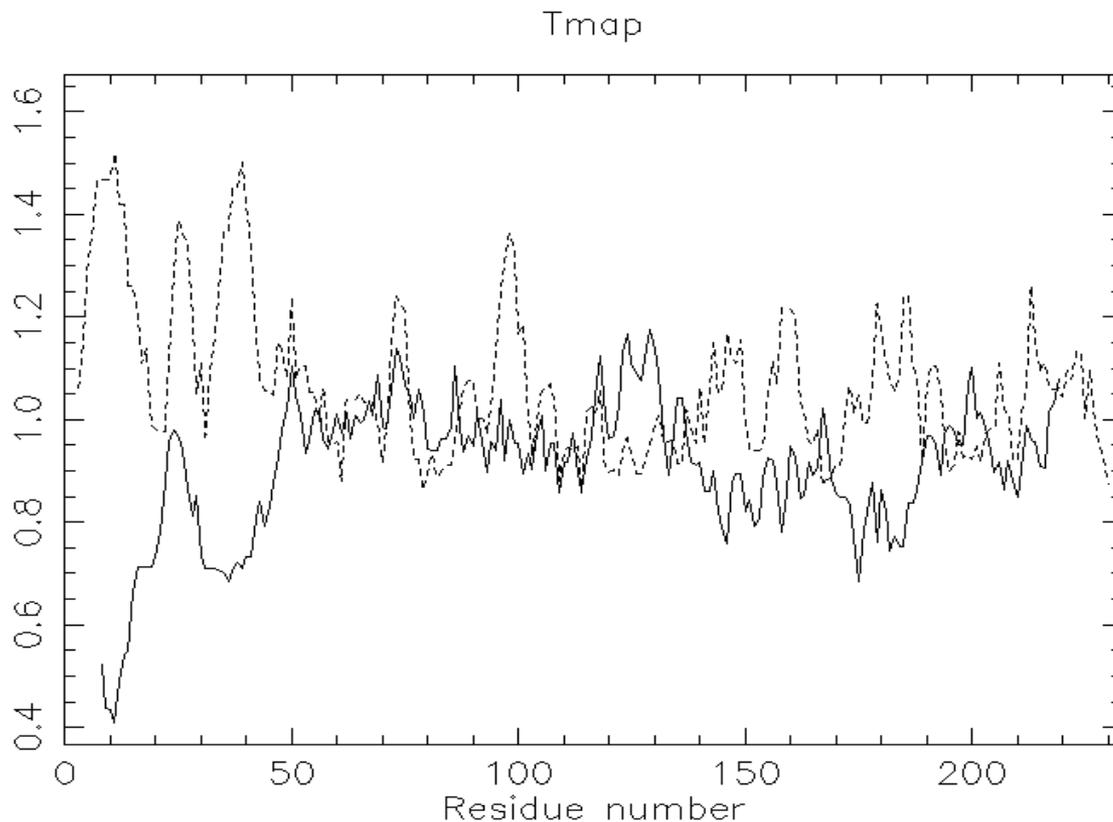
MTYPRRRRFRRRRHRPRSHLGLILRRRPPWLVHPRHR
YRWRRKNGIFNTRLSSSTFGYTVKATTVRTPSWTVDM
IRFNINDFVPPGGGTNKISIPFQYYRIRKVKVEFWPCS
PIIQGDRGVGSTAVILDDNFVTKATALTYDPYVNYSS
RHTIPQPFSYHSRYFTP KPVL DSTIDYFQPNNKRNQL
WLRLQTSANVDHVGLGIAFENSKYDQDYNIRVTMYV
QFREFNLKDPPLKP

- 可见，CL株Cap蛋白N端富含碱性氨基酸，Khayat等研究发现，这段氨基酸位于病毒粒子的内表面，推测在病毒的组装过程中与基因组DNA的相互作用有关，同时也与Cap蛋白的核定位有关。



3.3 WebLab工具的简单分析

Tmap分析



Sequence: Consensus from: 1 to 233

Cap蛋白不是跨膜蛋白

HitCount:0



3.4 核定位信号分析

利用 **PSORT II** 软件分析:

- pat4: PRRR (4) at 4
- pat4: RRRR (5) at 9
- pat4: RRRH (3) at 10
- pat4: RRHR (3) at 11
- pat4: RRRP (4) at 24
- pat7: PRRRFRR (5) at 4
- bipartite: RRRHRPRSHLGLILRRR at 10
- bipartite: RRHRPRSHLGLILRRRP at 11
- bipartite: RRRPWLVHPRHRYRWRR at 24
- bipartite: RRPWLVHPRHRYRWRRK at 25
- content of basic residues: 17.2%
- NLS Score: 3.29



3.4核定位信号分析

Results of the k -NN Prediction

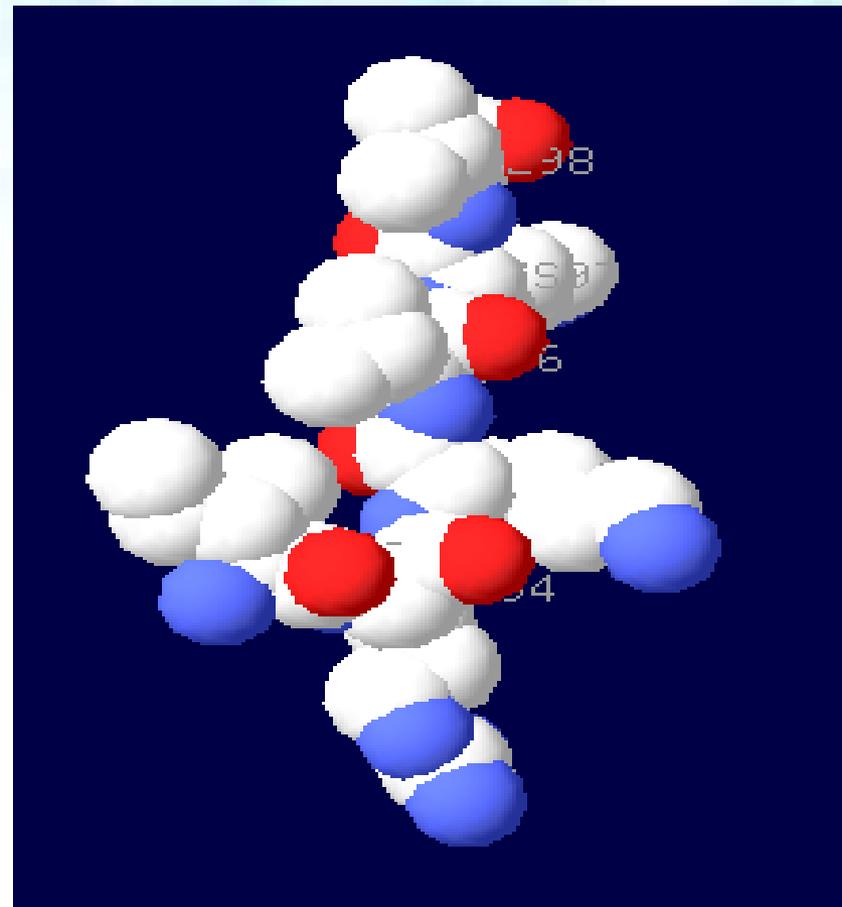
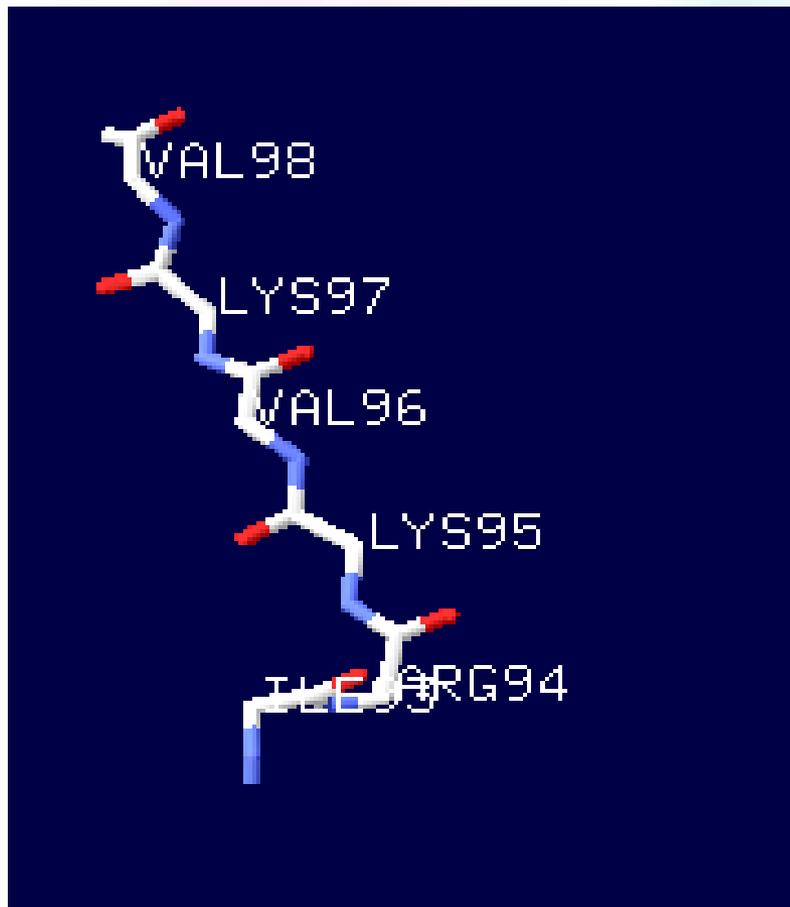
$k = 9/23$

34.8 %: mitochondrial
30.4 %: nuclear
26.1 %: cytoplasmic
4.3 %: cytoskeletal
4.3 %: endoplasmic reticulum

说明Cap存在核定位信号，能通过核定位信号进入细胞内，参与病毒的复制和组装。



3.5 入侵细胞主要位点分析

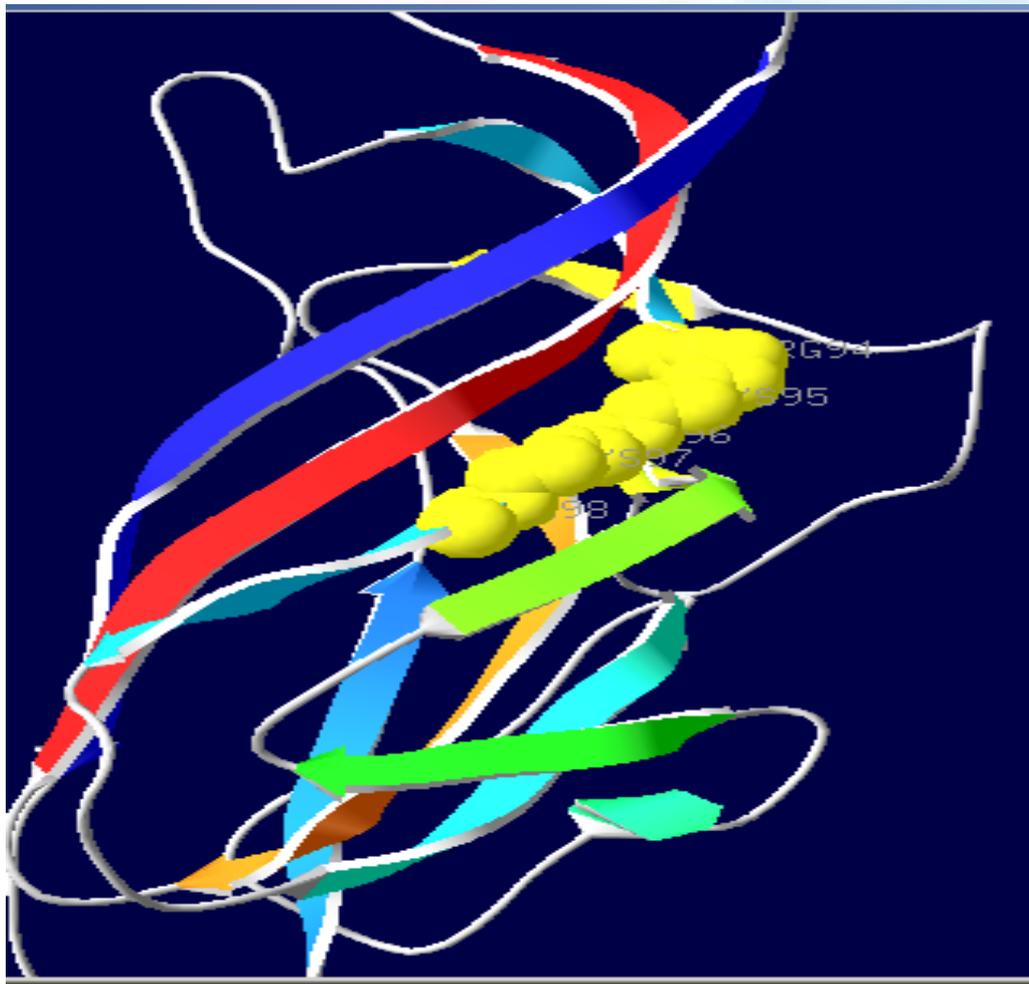


保守位点IRKVKV（属于XBBXB形式），在病毒入侵宿主细胞时有重要作用，能与细胞表面的蛋白聚糖结合，是病毒感染宿主细胞的第一步。



3.5 入侵细胞主要位点分析

SPDBV软件



是B折叠的一部分，
位于蛋白的表面，
利于和细胞表面蛋
白聚糖受体结合



4 总结

1. **Cap**蛋白是PCV2最主要的结构蛋白（非跨膜），它不仅在入侵宿主细胞中起到至关重要的作用，还参与病毒进入细胞核复制，而且对于病毒的组装有重要作用。
2. **Cap**蛋白是现在亚单位疫苗的研究热点，但它在病毒进入宿主细胞一段时间后才合成，这点还有待于进一步研究。
3. **Cap**蛋白的保守区IRKVKV和蛋白聚糖的具体作用还有待于进一步研究。



5 参考文献

- Bernfield, M., M. Gotte, P. W. Park, O. Reizes, M. L. Fitzgerald, J. Lincecum, and M. Zako. 1999. Functions of cell surface heparan sulfate proteoglycans. *Annu. Rev. Biochem.* 68:729–777.
- Cardin, A. D., and H. J. Weintraub. 1989. Molecular modeling of protein-glycosaminoglycan interactions. *Arteriosclerosis* 9:21–32.
- A single mutation affects both N-acetylglucosaminyltransferase and glucuronosyltransferase activities in a Chinese hamster ovary cell mutant defective in heparan sulfate biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:2267–2271.
- Liu, Q., S. K. Tikoo, and L. A. Babiuk. 2001. Nuclear localization of the ORF2 protein encoded by porcine circovirus type 2. *Virology* 285:91–99.
- Meerts, P., G. Misinzo, F. McNeilly, and H. J. Nauwynck. 2005. Replication kinetics of different porcine circovirus 2 strains in PK-15 cells, fetal cardio-myocytes and macrophages. *Arch. Virol.* 150:427–441.



谢谢大家