

动物医学院第二届博士生学术论坛

The 2nd Doctoral Research Forum, College of Veterinary Medicine

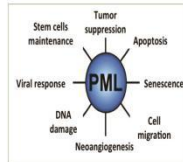
猪 PML 核体在抗伪狂犬病毒感染中的作用

许傲天, 秦超, 张蕊, 唐军

中国农业大学动物医学院基础兽医学系, 农业生物技术国家重点实验室

PML核体及其抗病毒功能

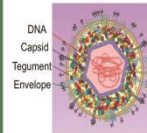
早幼粒细胞白血病蛋白 (promyelocytic leukaemia, PML) 核体是哺乳动物细胞中普遍存在的一种动态的细胞核亚结构, 参与DNA损伤与修复、细胞衰老与凋亡、基因表达调控以及肿瘤发生与抑制等多种重要的细胞活动。研究表明, PML核体还能够通过介导细胞固有免疫反应参与宿主细胞的抗病毒防御活动, 具有广谱的抗病毒能力。多种感染人的DNA病毒和RNA病毒均与PML核体存在着相互斗争关系。但猪PML的抗病毒研究尚未见报道。



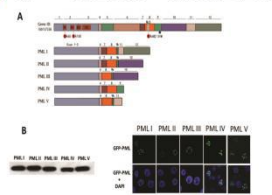
猪伪狂犬病毒

伪狂犬病(Pseudorabies, PR) 是由疱疹病毒科、 α 疱疹病毒亚科中的伪狂犬病毒(PRV)所致的一种急性传染病。引起的家畜和多种野生动物感染。每年对养猪业造成巨大的经济损失。

PRV具有广泛的宿主并与人 α -疱疹病毒间高度同源, 成为该类病毒研究的良好模型。

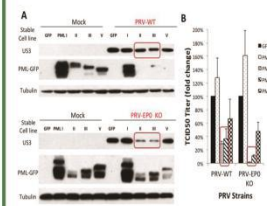


1 猪PML克隆及其亚细胞定位检测



(A) 克隆出的5个不同猪PML亚型的基因结构示意图。
(B) 通过Western Blot和免疫荧光方法, 检测出5个猪PML亚型的体外表达及亚细胞定位情况。每个亚型均形成点状的亚细胞核结构。

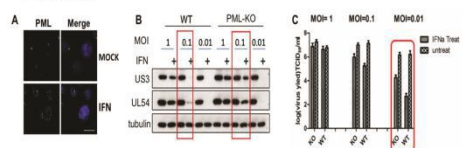
2 过表达猪PML具有抑制PRV的能力, 尤其是对EPO缺失毒株的抑制作用更强



外源表达猪PML的5个亚型, 在PRV感染过程中具有不同的抗病毒活性。通过Western Blot (A) 和组织细胞半数感染量 (TCID50) (B) 检测不同亚型PML过表达对细胞中PRV蛋白表达量和复制情况的影响。

结果表明, PML-II和III两个亚型对PRV具有明显的抑制作用。而在立早期蛋白EPO敲除的PRV病毒 (PRV-EPO KO) 中, PML的抗病毒作用尤其显著。

3 猪PML基因受干扰素上调, 并在干扰素的抗病毒作用中起重要作用



(A) 猪PML基因受干扰素上调。通过免疫荧光检测干扰素处理后PK15细胞中内源性PML的表达情况, 发现干扰素可显著上调内源性猪PML的表达。
(B) 和 (C) 猪PML的缺失减弱了干扰素对PRV蛋白表达及病毒粒子复制的抑制。利用TALEN技术敲出猪PK15细胞中的PML (PML-KO), 通过Western Blot (B) 和组织细胞半数感染量 (TCID50) (C) 检测不同MOI病毒感染后干扰素的抗病毒活性。结果发现, PML缺失细胞中干扰素的抗病毒活性显著降低。

结论

- 猪PML有五个不同的亚型, 每个亚型均形成点状的亚细胞核结构, 并具有不同的抗病毒活性。
- 猪PML基因受干扰素上调, 并在干扰素的抗病毒作用中起重要作用。

基金支持

国家自然科学基金
农业生物技术国家重点实验室