



新城疫病毒 M 蛋白在病毒毒力和复制中的作用研究进展

段志强^{1,2*}, 周磊^{1,2}, 韩一帆^{1,2}, 赵佳福^{1,2}, 嵇辛勤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 贵州大学动物科学学院, 贵州 贵阳 550025

摘要: M 蛋白是新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV)基因组编码的一种非糖基化膜相关蛋白, 主要位于病毒囊膜内表面, 构成病毒囊膜与核衣壳连接的支架。研究表明, M 蛋白是一种细胞核-细胞质穿梭蛋白, 在抑制细胞基因转录和蛋白质合成以及协助病毒粒子组装和出芽方面发挥了重要作用。目前, 国内外对 NDV 毒力和复制的关系研究主要集中在病毒的 F、HN 和 V 蛋白以及 RNP 复合体, 但是近年来研究人员利用反向遗传操作技术研究发现 M 蛋白与 NDV 毒力和复制也存在一定的联系。因此, 本文主要对 NDV M 蛋白的结构特征、M 蛋白对 NDV 毒力和复制的影响及其作用机制进行综述, 以期为 NDV M 蛋白的功能研究提供新的理论参考。

关键词: 新城疫病毒, M 蛋白, 毒力, 病毒复制

新城疫(Newcastle disease, ND)是由新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV)感染禽类引起的一种急性、高度接触性传染病, 给世界各国养禽业造成了巨大的危害和经济损失^[1]。国际病毒分类委员会(International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV)于 2019 年将 NDV 归类在单负链病毒目(Mononegavirales)、副黏病毒科(Paramyxoviridae)、禽腮腺炎病毒亚科(Avulavirinae)、正禽腮腺炎病毒属(Orthoavulavirus)^[2]。NDV 是一种有囊膜、含有单

股负链不分节段基因组的 RNA 病毒, 其基因组结构为 3'-NP-P-M-F-HN-L-5', 可编码 8 种病毒蛋白, 包括核衣壳蛋白(nucleocapsid protein, NP)、磷蛋白(phosphoprotein, P)、基质蛋白(matrix protein, M)、融合蛋白(fusion protein, F)、血凝素-神经氨酸酶(hemagglutinin-neuraminidase protein, HN)、大蛋白(large protein, L)以及由 P 基因通过 RNA 编辑产生的非结构蛋白(V 和 W)^[3]。在以上报道的病毒蛋白中, 研究证实 F 蛋白裂解位点的多碱性氨基酸基序是决定其裂解能力的关键, 裂解后的 F

基金项目: 国家自然科学基金(31960698, 31760732, 31502074); 贵州省科学技术基金(黔科合基础[2020]1Y134 号); 贵州省地方家禽产业联合攻关项目(黔财农[2020]175 号)

*通信作者。Tel/Fax: +86-851-88298005; E-mail: zqduan@gzu.edu.cn

收稿日期: 2020-12-23; 修回日期: 2021-04-20; 网络出版日期: 2021-06-17

蛋白表现出融合活性,从而使病毒具有感染性^[4];而 HN 蛋白通过其血凝素和神经氨酸酶活性正确识别和结合细胞膜受体,并且通过其构象改变与 F 蛋白相互作用,促进 F 蛋白的膜融合功能^[5-6]。因此, F 和 HN 蛋白是 NDV 致病的分子基础,同时也是 NDV 的主要毒力因子。另外,国内外研究人员利用反向遗传操作技术在 NDV 强毒株或中强毒株和弱毒株之间进行基因替换,相继发现 NP、P 和 L 蛋白形成的核糖核蛋白复合体^[7]以及 V 蛋白^[8]和 M 蛋白^[7]也与 NDV 毒力具有一定的关系。

M 蛋白是 NDV 基因组编码的一种非糖基化膜相关蛋白,位于病毒囊膜内表面,构成病毒内膜与核衣壳蛋白连接的支架,因此被认为是病毒囊膜上的第 3 种膜蛋白^[9]。但是与病毒表面糖蛋白 F 和 HN 不同的是, M 蛋白免疫动物后并不能提供免疫保护^[10]。有研究表明, NDV M 蛋白是一种细胞核-细胞质穿梭蛋白^[11]。在病毒感染早期, M 蛋白通过自身携带的核定位信号(nuclear localization signal, NLS)与核转运受体蛋白 importin β 1 相互作用,并在 RanGTP 的帮助下进入细胞核^[12],主要功能是抑制细胞基因的转录和调控细胞质中病毒基因组的复制和转录^[13];在病毒感染后期, M 蛋白则通过携带的 3 个核输出信号(nuclear export signal, NES)以染色体维持蛋白 1(chromosome maintenance protein 1, CRM1)非依赖的方式进入细胞质^[14],然后到达细胞膜内侧与病毒 HN、F 和核衣壳蛋白相互作用促进子代病毒粒子的装配和释放^[15-16]。目前,研究人员在其他副黏病毒和单股负链 RNA 病毒 M 蛋白的功能及其作用机制研究方面已有大量的报道^[17-21],这为 NDV M 蛋白的功能研究提供了重要参考。近年来,国内外对 NDV M 蛋白的功能研究主要集中在 3 个方面:一是利用反向遗传操作技术研究 M 蛋

白全长或部分功能氨基酸基序和位点对 NDV 毒力和复制的影响;二是鉴定与 M 蛋白相互作用的细胞蛋白,研究两者互作在 NDV 复制和致病性中的作用;三是研究 M 蛋白与其他病毒蛋白之间的相互作用如何对病毒粒子进行组装和释放。鉴于 M 蛋白在 NDV 生活史中的重要作用,本文主要从 NDV M 蛋白的结构特征、反向遗传操作技术研究 M 蛋白对 NDV 毒力和复制的影响及其作用机制方面进行综述,以期为 NDV M 蛋白功能的深入研究提供理论基础和参考。

1 NDV M 蛋白及其结构特征

Class I 和 Class II NDV 毒株 M 基因全长均为 1241 nt,开放阅读框长度为 1095 nt,共编码 364 个氨基酸,蛋白质分子量约为 40 kDa。在 NDV M 基因的 382-393 nt 和 737-748 nt 存在 12 个碱基的重复插入,能形成一个碱基对茎/袢,其对 M 基因 mRNA 的二级结构稳定性有重要意义^[22]。M 蛋白中含有 14%碱性氨基酸和 8%酸性氨基酸,但是 M 蛋白碱性氨基酸的分布并不均匀;对 M 蛋白的电荷分布分析发现, M 蛋白在 pH 7.0 时具有一个 +19.5 的净电荷,在组氨酸残基上有一个 +0.5 电荷。因此,根据氨基酸和电荷分布特点分析表明, M 蛋白氨基端前 100 个氨基酸呈酸性,但其整体呈高度碱性^[22]。另外, M 蛋白还具有疏水但不跨膜的特性,这与 M 蛋白仅位于病毒粒子囊膜内侧,并且在子代病毒粒子装配和出芽时镶嵌在细胞膜内侧结果相一致^[23]。

从 GenBank 下载 100 株 NDV M 蛋白氨基酸序列进行比对分析,发现全长 M 蛋白之间的同源性和 M 蛋白氨基端和羧基端的同源性均在 94.0%-100% (表 1)。因此, M 蛋白在

NDV 进化过程中是一个较为保守的病毒蛋白。相反, NDV M 蛋白(以 ZJ1 毒株 M 蛋白为代表, GenBank No. AAL18934.2)与其他副黏病毒如亨德拉病毒(Hendra virus, HeV)、尼帕病毒(Nipah virus, NiV)、麻疹病毒(measles virus, MeV)、腮腺炎病毒(mumps virus, MuV)、仙台病毒(Sendai virus, SeV)、副流感病毒 5 型(parainfluenza virus 5, PIV-5)、小反刍兽疫病毒(peste des petits ruminants virus, PPRV)、人副流感病毒 3 型(human parainfluenza virus 3, HPIV-3)M 蛋白全长蛋白的同源性并不高, 仅为 14.6%–25.8%, 其中与 PIV-5 M 蛋白的同源性最高(为 25.8%); 而 NDV 与 HPIV-3 M 蛋白的氨基端和羧基端同源性最高, 分别为 17.8%和 14.5% (表 1)。但是, NDV M 蛋白却与 SeV 和 MeV M 蛋白 90–190 氨基酸区域的同源性分别达到 25%和 23%^[22]。以上结果说明, 不同副黏病毒 M 蛋白之间的同源性不高, 其高度同源性主要取决于局部氨基酸区域, 并且 NDV 与其他副黏病毒 M 蛋白具有相似的功能可能是通过其高度碱性和疏水性特性。

通过 X-射线晶体衍射(PDB 登录号 4g1g.1.B)分析发现, NDV M 蛋白主要以同源二聚体结构形式存在, 该二聚体表面携带大量的正电荷, 并且形成一个接近正方形的包膜(图 1-A, 左)^[23]。利用空间结构模型展示 M 蛋白表面电荷, 同样可以发现 M 蛋白表面主要带正电荷(蓝色是带正电荷的区域, 红色是带负电荷的区域)(图 1-A, 右)^[23]。对 M 蛋白单体进行分析发现, 每个 M 蛋白单体都包含大量的 α -螺旋和 β -折叠, 并且均有两个相似的折叠结构域, 由 16 个氨基酸连接在一起; 其氨基端和羧基端均包含 1 个 β -三明治样结构, 而各种 α -螺旋位于这些 β -三明治样结构表面(图 1-B 和 C)^[23]。有研究表明, NDV M 蛋白氨基端与病毒核衣壳相互作用, 在病毒粒子组装过程中发挥核心作用; 而羧基端则与细胞脂质双分子膜结合^[24–25], 这个过程主要依赖于 M 蛋白 266–280 氨基酸区域形成特异的折叠结构, 该折叠结构主要由 2 个 α -螺旋(α 12 和 α 13)包裹 2 个反向平行的 β -折叠(β 13 和 β 14)形成。另外, 最近的研究证实, NDV 毒株 LaSota M 蛋白氨基酸残基 ⁷⁷MIDDKP⁸² (位于

表 1. NDV 与其他代表性副黏病毒 M 蛋白同源性比较

Table 1. The homologous comparison of M protein between NDV and other representative paramyxoviruses							
Viral protein	GenBank No.	Protein length/aa	Molecular weight/kDa	Full-length protein homology ^a /%	N-terminal homology ^b /%	C-terminal homology ^c /%	
NDV M	AAL18934	364	39.8	95.3–99.5	94.4–100	94.0–100	
HeV M	AEQ38050	352	39.8	17.9	17.2	14.0	
NiV M	AAF73379	352	39.9	18.5	16.1	13.4	
MeV M	AAB26144	335	37.7	16.4	8.3	7.7	
MuV M	AAF70392	375	41.7	23.1	7.2	8.2	
SeV M	AAC82310	348	38.6	17.2	6.7	8.9	
PIV-5 M	ANE10782	377	42.1	25.8	7.2	6.5	
PPRV M	AEH25642	335	38.0	14.6	8.9	7.7	
HPIV-3 M	AGW51147	353	39.5	19.0	17.8	14.5	

a: the homologous comparison of M protein among different NDV strains or between NDV and other paramyxoviruses; b: the N-terminal (1–180 aa) homologous comparison of M protein among different NDV strains or between NDV and other paramyxoviruses; c: the C-terminal (181 aa to the last aa) homologous comparison of M protein among different NDV strains or between NDV and other paramyxoviruses.

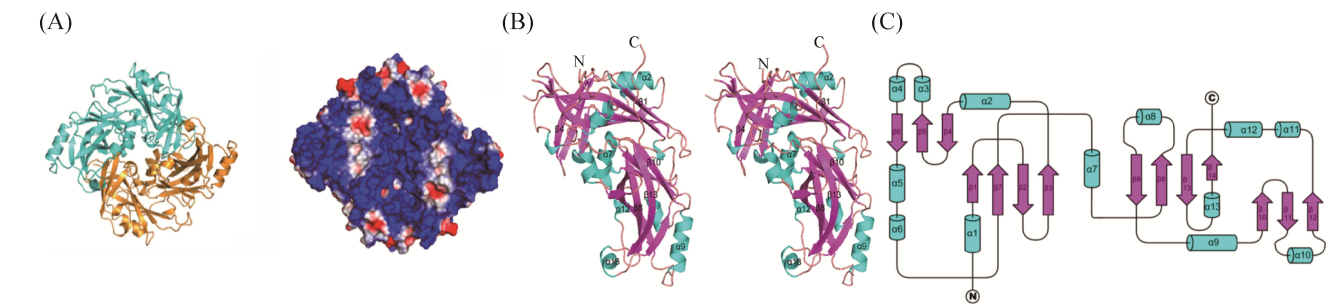


图 1. NDV M 蛋白 X-射线晶体学结构^[23]

Figure 1. The NDV M protein structure from X-ray crystallography^[23]. A: the surface of NDV M protein dimer is positively charged and has a nearly square envelope. The two monomers (blue and gold) are shown as a ribbon diagram (Left). The surface charge is represented on a space-filling model (Right), with the positively charged regions shown in blue and the negatively charged regions in red. B: the ribbon drawing of the monomeric structure of NDV M protein shown as a stereo diagram. The M protein monomer consists of two similarly folded β -sandwich domains (magenta) that are flanked by a number of α -helices (cyan). C: a schematic diagram representing the secondary structure elements of the M protein monomer.

$\alpha 2$ 区域)和 $^{354}\text{HTLAKYNPFK}^{363}$ (位于 $\beta 14$ 区域)是两个线性 B 细胞表位, 可用于与其他基因型重组 NDV 疫苗的血清学鉴别诊断^[26]。

2 NDV M 蛋白全长对病毒毒力和复制的影响

M 蛋白与 NDV 复制关系的研究最早见于对温度敏感的 M 蛋白点突变后导致 F 蛋白不能包裹

到病毒颗粒中, 进而降低了病毒的感染性和溶血活性^[27], 但是后来 M 蛋白与 NDV 毒力和复制的关系研究一直未有较大的进展。直到 NDV 反向遗传操作技术建立以后, 研究人员将 NDV 弱毒株 AV324 M 基因替换到强毒株 Herts/33 中, 结果发现这种替换降低了 Herts/33 的脑内接种致病指数 (intracerebral pathogenicity index, ICPI)值, 但是相反方向的 M 基因替换并没有提高 AV324 的 ICPI 值(表 2)^[7]。另外, Kai 等^[28]对 NDV 强毒株 JS5/05

表 2. NDV M 蛋白全长与病毒毒力
Table 2. The association of full-length M protein with NDV virulence

Virus	Parental virus	ICPI	MDT	References
rHerts/33	Herts/33	1.54	—	[7]
rHerts/33(M) ^{AV324}	Herts/33	1.18	—	[7]
rAV324	AV324	0.10	—	[7]
rAV324(M) ^{Herts/33}	AV324	0.00	—	[7]
rJS5/05	JS5/05	1.88	46 h	[28]
rJS5/05(M+F+HN) ^{Herts/33}	JS5/05	1.80	49 h	[28]
rHerts/33	Herts/33	2.00	48 h	[28]
rHerts/33(M) ^{JS5/05}	Herts/33	1.90	44 h	[28]
rHerts/33(M+F+HN) ^{JS5/05}	Herts/33	1.82	43 h	[28]

—: not detected.

和 Herts/33 进行 *M* 基因或 *M+F+HN* 三基因的相互替换, 结果发现单基因或三基因的替换并没有明显改变重组病毒的 ICPI 值和鸡胚平均死亡时间 (mean death time, MDT) 值 (表 2), 但是将 Herts/33 *M+F+HN* 三基因替换到 JS5/05 却降低了病毒在脾脏和胸腺中的复制效率和诱导的强烈炎性免疫应答水平。分析其原因可能是 *F* 和 *HN* 蛋白是 NDV 主要毒力因子, 也是维持 NDV 复制和致病性的分子基础, 同时 *M* 蛋白与 *F*、*HN* 和 *NP* 蛋白、*NP* 与 *P* 蛋白以及 *P* 蛋白之间^[29]存在复杂的相互作用, 因此, *M* 蛋白需要与同种病毒的其他蛋白协同作用才能更好地发挥其在 NDV 毒力和复制中的功能。

3 NDV M 蛋白氨基端氨基酸基序或位点对病毒毒力和复制的影响

3.1 M 蛋白²³FPIV²⁶基序对病毒毒力和复制的影响

M 蛋白是决定副黏病毒粒子组装和出芽的主要驱动力^[17]。在 *M* 蛋白介导的病毒粒子出芽机制研究方面, 研究人员早期通过对 *M* 蛋白部分氨基酸缺失的 MeV 或 SeV 进行突变体病毒的拯救, 发现这些病毒的出芽能力明显下降^[30-31]。随后的研究证实, PIV-5 *M* 蛋白 FPIV 基序^[32]、SeV *M* 蛋白 YLDL 基序^[33]、MuV *M* 蛋白 FPVI 基序^[34]、NiV *M* 蛋白 YMYL 基序^[35]和 YPLGVG 基序^[36]对病毒出芽起关键作用。通过将 NDV 与其他副黏病毒 *M* 蛋白进行序列比对分析, 结果发现 NDV *M* 蛋白中仅存在与 PIV-5 和 MuV *M* 蛋白相似的 FPIV 基序^[37]。进一步对 NDV *M* 蛋白 FPIV 基序进行逐个点突变, 发现 F23A 或 P24A 突变体 NDV MDT 明显延长 (rZJ1-M.F23A、rZJ1-M.P24A、rZJ1 MDT

值分别为 102、84、54 h), 并且突变体病毒的 ICPI 明显降低 (rZJ1-M.F23A、rZJ1-M.P24A、rZJ1 ICPI 值分别为 1.64、1.70、1.89)^[37]。另外, F23A 或 P24A 突变体病毒在鸡胚以及细胞上的复制能力也显著下降^[37]。病毒出芽效率测定结果显示, F23 或 P24 突变能明显降低 NDV 的出芽能力^[37], 证实 F23 和 P24 在 *M* 蛋白介导的 NDV 出芽过程中起关键作用。此外, 对 NDV *M* 蛋白 FPIV 基序进行联合突变, 未能拯救出病毒, 说明 FPIV 基序对病毒出芽至关重要。以上研究结果表明, *M* 蛋白²³FPIV²⁶基序通过介导 NDV 的出芽而影响病毒的毒力和复制能力。

3.2 M 蛋白 R36 位点对病毒毒力和复制的影响

鸽源 NDV 的主要宿主是鸽子且感染鸽子后造成的发病率和死亡率高, 而对其他禽类的致病性较低, 因此鸽源 NDV 的宿主特异性和致病机制有待研究。有研究表明, *M* 蛋白对于鸽源 NDV 的遗传进化及宿主适应性有重要作用^[38-39]。为进一步研究 *M* 蛋白在鸽源 NDV 宿主适应性和致病性中的作用, 研究人员对 39 株鸽源 NDV 和 106 株禽源 NDV 进行氨基酸序列比对分析, 发现了分别位于 *M*、*F*、*HN* 和 *L* 蛋白上的 7 个特异性氨基酸位点, 其中 R36 是鸽源 NDV *M* 蛋白中的特异性氨基酸位点, 并且该位点属于正向选择位点^[40]。利用反向遗传操作技术在鸽源 NDV Js/07/04/Pi *M* 蛋白 (R36) 和鹅源 NDV ZJ1 *M* 蛋白 (Q36) 进行氨基酸突变, 结果发现 R36Q 突变能够显著降低鸽源 NDV 的毒力 (亲本病毒 ICPI 和 MDT 值分别为 1.2 和 88.2 h, R36Q 突变体病毒 ICPI 和 MDT 值分别为 0.65 和 120 h) 以及在细胞和鸡胚上的复制能力, 而 Q36R 突变对鹅源 NDV 的毒力 (亲本病毒 ICPI 和 MDT 值分别为 1.91 和 52 h, Q36R 突变体病毒

ICPI 和 MDT 值分别为 1.80 和 54 h)和复制能力影响较低^[40]。鸽子攻毒试验结果显示, R36Q 突变导致鸽源 NDV 在排毒时间和排毒量上均显著低于亲本病毒^[40]。因此, M 蛋白 R36 可能是鸽源 NDV 宿主适应性的一个关键性氨基酸位点, 对鸽源 NDV 的毒力、复制能力以及在宿主间的特异性传播具有重要作用。

3.3 M 蛋白 R42 位点对病毒毒力和复制的影响

研究表明, 副黏病毒 M 蛋白具有高度碱性和疏水性, 但无跨膜区的特性^[17]。对 NDV M 蛋白电荷分布的研究发现, M 蛋白氨基端前 100 位氨基酸总体呈酸性, 仅存在几个碱性氨基酸(R5、K34、K35 和 R42)^[22], 但是这些碱性氨基酸在 NDV 复制中的作用未见报道。对上述碱性氨基酸点突变结果显示, 仅有 R42A 突变影响了 M 蛋白的细胞核和核仁定位, 而其他碱性氨基酸位点突变均不影响 M 蛋白亚细胞定位, 但是 R42A 突变并不影响 M 蛋白与 HN 和 NP 蛋白的相互作用^[41]。病毒生物学特性测定结果显示, R42A 突变明显降低了病毒的毒力(亲本病毒 ICPI 和 MDT 值分别为 1.91 和 52 h, R42A 突变体病毒 ICPI 和 MDT 值分别为 1.64 和 115 h)和复制能力^[41]。动物试验结果表明, R42A 突变体病毒对鸡的致病力明显降低(鸡的发病率为 30%, 死亡率为 20%), 并且仅在少数组织中复制(脾脏、肺脏、胸腺和法氏囊)且病毒滴度也显著下降^[41]。因此, M 蛋白 R42 可以通过影响其细胞核定位, 从而促进 NDV 的毒力、复制能力和致病性。

4 NDV M 蛋白羧基端氨基酸基序或位点对病毒毒力和复制的影响

4.1 M 蛋白 NLS 基序对病毒毒力和复制的影响

大多数副黏病毒如 SeV、MeV、HeV、NiV

和 NDV 在感染细胞早期, 其 M 蛋白均具有细胞核定位特征, 这主要依赖于 M 蛋白携带的 NLS 与核转运受体蛋白相互作用进入细胞核^[13,17-18,31]。研究表明, NDV M 蛋白 NLS 由位于羧基端的两对碱性氨基酸簇组成(²⁴⁷KKGKKVTFDKLERKIR²⁶³)^[42]。为了探究 NLS 介导的 M 蛋白细胞核定位在病毒毒力和复制中的作用关系, 本课题组利用反向遗传操作技术拯救了 M 蛋白 NLS 关键碱性氨基酸位点突变(²⁴⁷AAGAAVTFDKLERKIAA²⁶³)的 NDV(rSS1GFP-M/NLSm), 与亲本病毒(rSS1GFP)毒力(ICPI 为 1.88, MDT 为 54 h)相比, M/NLS 突变体病毒的毒力(ICPI 为 1.67, MDT>120 h)明显降低, 在鸡胚上的复制能力以及细胞致病性显著下降^[43]; 同时, 突变体病毒对鸡的致病性也下降(鸡感染亲本病毒和突变体病毒的存活率分别为 0%和 70%), 且鸡免疫器官中细胞因子表达水平明显低于亲本病毒^[44]。进一步的研究发现, 突变体病毒 M 蛋白 NLS 突变后破坏了 M 蛋白细胞核-细胞质穿梭特性, 导致细胞质中病毒基因组的复制和转录水平显著下降^[13]。对病毒感染细胞后的转录组学和蛋白质组学试验结果分析表明: M 蛋白的早期细胞核定位能抑制宿主细胞基因的转录和 mRNA 的核输出, 并且影响核糖体蛋白的表达, 降低了细胞蛋白的合成^[13,45]; 而在病毒感染后期 M 蛋白进入细胞质以后, 与蛋白质翻译后修饰和蛋白质转运相关的蛋白表达水平升高, 同时可以降低 TIFA/TRAF6/NF- κ B 信号通路产生的细胞因子来促进 NDV 复制^[45]。因此, M 蛋白 NLS 基序通过影响 M 蛋白的细胞核-细胞质定位、抑制细胞基因转录和蛋白质合成以及调控与病毒复制和组装相关蛋白质的表达水平, 进而影响病毒的毒力和复制。

4.2 M 蛋白 D255、E258、R262 和 R263 位点对病毒毒力和复制的影响

副黏病毒 M 蛋白在细胞膜内表面能形成网格状的矩阵^[23], 并且通过与 HN 和 F 蛋白的胞质区以及 NP 蛋白之间的相互作用来完成病毒粒子装配和出芽^[15,46-48]。研究表明, NDV M 蛋白二聚体矩阵的形成主要依赖 M 蛋白羧基端 2 个 α 螺旋的相互作用, 而 2 个 α 螺旋相互靠近的作用力则是由 D255 和 R263 以及 E258 和 R262 之间的氢键和静电作用提供^[49]。为了解 M 蛋白羧基端形成二聚体矩阵的氨基酸在 NDV 毒力和复制中的作用, 研究人员对上述氨基酸位点进行单点突变或双点突变, 结果发现只有 R262R263、D255R263 或 E258R262 双突变导致 M 蛋白由细胞核定位变为细胞质定位^[49]。重组病毒的生物学特性测定结果显示, 氨基酸单点突变或双点突变均改变了重组病毒的 ICPI 和 MDT 值(表 3), 并且双点突变的重组病毒在细胞中的早期复制增殖能力和细胞致病性显著下降^[49]。另外, 对四点联合突变的重组病毒未能成功拯救, 说明 4 个氨基酸形成的二聚体矩阵对 M 蛋白发挥正常功能至关重要^[49]。因此,

表 3. M 蛋白 D255、E258、R262 和 R263 位点与 NDV 毒力

Table 3. The association of amino acids D255, E258, R262 and R263 in M protein with NDV virulence

Virus	ICPI	MDT/h	Reference
rZJ1GFP	1.91	52	[49]
rZJ1GFP-M.D255A	1.69	62	[49]
rZJ1GFP-M.E258A	1.70	60	[49]
rZJ1GFP-M.R262A	1.72	64	[49]
rZJ1GFP-M.R263A	1.77	58	[49]
rZJ1GFP-M.DE/AA	1.72	63	[49]
rZJ1GFP-M.RR/AA	1.72	66	[49]
rZJ1GFP-M.DR/AA	1.84	62	[49]
rZJ1GFP-M.ER/AA	1.70	60	[49]

以上结果说明形成 M 蛋白二聚体矩阵的氨基酸位点能够通过影响 M 蛋白的细胞核定位, 从而影响病毒的毒力和早期复制能力以及致病性。

4.3 M 蛋白 G275 P276 位点对病毒毒力和复制的影响

副黏病毒 M 蛋白与细胞膜的结合主要依赖于其羧基端形成特异的折叠结构, 该结构由 2 个 α -螺旋包裹 2 个反向平行的 β -折叠形成^[50], 这个折叠区域对应 NDV M 蛋白 266–280 位氨基酸。研究表明, 犬瘟热病毒(canine distemper virus, CDV)和 MeV M 蛋白双重氨基酸位点 G (对应 NDV M 蛋白 L274 和 G275 氨基酸位点)对 M 蛋白形成 β -折叠极为重要^[50], 而在 NDV M 蛋白 274 位氨基酸不是 G 而是 L。后续研究发现, NDV M 蛋白的 G275 与 P276 形成的 GP 组合对 M 蛋白形成正确的 β -折叠极为重要^[22]。但是, G275P276 突变是否引起 NDV M 蛋白错误折叠, 进而影响病毒的出芽仍不清楚。近年来, 研究人员证实 NDV M 蛋白羧基端的 L274G275P276 基序能够发挥类似 CDV 和 MeV M 蛋白双重氨基酸 G 的作用, 当 G275P276 突变为 A275A276 时, M 蛋白的 β -折叠发生了角度的变化^[51]。对 M 蛋白 GP/AA 突变的 NDV 进行生物学特性测定, 结果表明 GP/AA 突变体病毒的毒力(突变体病毒 ICPI 和 MDT 值分别为 1.10 和 112 h, 亲本病毒 ICPI 和 MDT 值分别为 1.91 和 52 h)和复制能力发生了显著下降, 动物致病性试验结果也说明 GP/AA 突变明显降低了病毒的致病性, 同时突变体病毒的出芽效率大幅度下降^[51]。以上研究结果说明, G275P276 位点对 M 蛋白形成正确的 β -折叠至关重要, 可有效地促进 NDV 毒力、复制能力和出芽效率。

5 总结和展望

M蛋白是NDV基因组编码的6个结构蛋白中分子量最小但却是含量最为丰富的蛋白,其在NDV生活史中扮演着重要角色,由于M蛋白独特的细胞核-细胞质穿梭特征以及在病毒粒子组装和出芽中的关键作用引起了国内外研究人员的广泛关注。自NDV反向遗传操作技术建立以来,研究人员利用该技术对M蛋白在NDV毒力、复制和致病性中的作用有了更多的认识。基于已报道的研究结果可以看出,虽然M蛋白基序或氨基酸位点突变影响了病毒毒力和复制能力,但重组病毒依然是强毒特征(ICPI>1.60),其原因是病毒F和HN蛋白是NDV主要毒力因子,两者维持了重组病毒的强毒特征,这与NP蛋白的研究结果相一致^[52-53]。此外,M蛋白除了通过自身的功能结构域或正确的结构发挥功能以外,与其他病毒蛋白之间的协同作用也在NDV毒力、复制和致病性方面发挥了重要作用^[28]。

目前,国内外研究人员利用反向遗传操作技术对其他副黏病毒或单股负链RNA病毒M蛋白功能研究有了较大的进展,这为NDV M蛋白功能的研究提供了一定的借鉴。例如,研究证实HPIV-3 M蛋白羧基端氨基酸位点L302对M蛋白发生泛素化修饰以及病毒粒子的出芽至关重要^[54];NiV M蛋白核输出信号突变增强了病毒的细胞融合能力,并且能阻止非功能性M蛋白过多地进入细胞质或细胞核,通过使突变体M蛋白大量聚集在核外周包涵体中保证病毒的有效复制^[55];水泡性口炎病毒M蛋白M51R突变不仅可以增强病毒的免疫效力^[56],还能有效地诱导大肠癌细胞的凋亡^[57]。另外,研究还发现泛素化介导的副黏病毒M蛋白细胞核-细胞质穿梭对于病毒粒子的出芽至关重

要^[58];人呼吸道合胞体病毒M蛋白T205位点存在磷酸化修饰,有助于M蛋白自身寡聚化和形成完整的病毒粒子^[59]。NDV M蛋白中也含有类似的氨基酸位点,或丰富的碱性氨基酸和磷酸化位点,但是这些重要氨基酸位点的功能还有待进一步研究。最近姜维雨^[60]研究发现NDV M蛋白K119和K260存在泛素化修饰,有助于病毒的出芽和释放,并且K119发生泛素化修饰减少了与细胞蛋白的相互作用,使M蛋白顺利从细胞膜释放。因此,基于上述研究进展,研究人员在将来可以利用反向遗传操作技术更好地去深入研究和认识M蛋白在NDV毒力、复制和致病性中的功能及其作用机制。

参考文献

- [1] Bello MB, Yusoff K, Ideris A, Hair-Bejo M, Peeters BPH, Omar AR. Diagnostic and vaccination approaches for Newcastle disease virus in poultry: the current and emerging perspectives. *BioMed Research International*, 2018, 2018: 7278459.
- [2] Amarasinghe GK, Ayllón MA, Bào Y, Basler CF, Bavari S, Blasdel KR, Briesse T, Brown PA, Bukreyev A, Balkema-Buschmann A, Buchholz UJ, Chabi-Jesus C, Chandran K, Chiapponi C, Crozier I, de Swart RL, Dietzgen RG, Dolnik O, Drexler JF, Dürrwald R, Dundon WG, Duprex WP, Dye JM, Easton AJ, Fooks AR, Formenty PBH, Fouchier RAM, Freitas-Astúa J, Griffiths A, Hewson R, Horie M, Hyndman TH, Jiāng D, Kitajima EW, Kobinger GP, Kondō H, Kurath G, Kuzmin IV, Lamb RA, Lavazza A, Lee B, Lelli D, Leroy EM, Li J, Maes P, Marzano SL, Moreno A, Mühlberger E, Netesov SV, Nowotny N, Nylund A, Økland AL, Palacios G, Pályi B, Pawęska JT, Payne SL, Prosperi A, Ramos-González PL, Rima BK, Rota P, Rubbenstroth D, Shi M, Simmonds P, Smith SJ, Sozzi E, Spann K, Stenglein MD, Stone DM, Takada A, Tesh RB, Tomonaga K, Tordo N, Towner JS, van den Hoogen B, Vasilakis N, Wahl V, Walker PJ, Wang LF, Whitfield AE, Williams JV, Zerbini FM, Zhāng T, Zhang YZ, Kuhn JH. Taxonomy of the order

- Mononegavirales: update 2019. *Archives of Virology*, 2019, 164(7): 1967–1980.
- [3] Molouki A, Peeters B. Rescue of recombinant Newcastle disease virus: a short history of how it all started. *Archives of Virology*, 2017, 162(7): 1845–1854.
- [4] Chi MM, Xie WY, Liu Y, Zhang C, Liu YQ, Wen HL, Zhao L, Song YY, Liu N, Chi LL, Wang ZY. Conserved amino acids around the DIII-DI linker region of the Newcastle disease virus fusion protein are critical for protein folding and fusion activity. *BioScience Trends*, 2019, 13(3): 225–233.
- [5] Kim SH, Subbiah M, Samuel AS, Collins PL, Samal SK. Roles of the fusion and hemagglutinin-neuraminidase proteins in replication, tropism, and pathogenicity of avian paramyxoviruses. *Journal of Virology*, 2011, 85(17): 8582–8596.
- [6] Liu YQ, Chi MM, Liu Y, Wen HL, Zhao L, Song YY, Liu N, Wang ZY. Roles of the highly conserved amino acids in the second receptor binding site of the Newcastle disease virus HN protein. *Virology Journal*, 2019, 16(1): 1–13.
- [7] 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.
- [8] Wang XL, Dang RY, Yang ZQ. The interferon antagonistic activities of the V proteins of NDV correlated with their virulence. *Virus Genes*, 2019, 55(2): 233–237.
- [9] Shtykova EV, Petoukhov MV, Dadinova LA, Fedorova NV, Tashkin VY, Timofeeva TA, Ksenofontov AL, Loshkarev NA, Baratova LA, Jeffries CM, Svergun DI, Batishchev OV. Solution structure, self-assembly, and membrane interactions of the matrix protein from Newcastle disease virus at neutral and acidic pH. *Journal of Virology*, 2019, 93(6): e01450–e01418.
- [10] Iram N, Shah MS, Ismat F, Habib M, Iqbal M, Hasnain SS, Rahman M. Heterologous expression, characterization and evaluation of the matrix protein from Newcastle disease virus as a target for antiviral therapies. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(4): 1691–1701.
- [11] 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.
- [12] Duan ZQ, Xu HX, Ji XQ, Zhao JF, Xu HQ, Hu Y, Deng SS, Hu SL, Liu XF. Importin $\alpha 5$ negatively regulates importin $\beta 1$ -mediated nuclear import of Newcastle disease virus matrix protein and viral replication and pathogenicity in chicken fibroblasts. *Virulence*, 2018, 9(1): 783–803.
- [13] Duan ZQ, Deng SS, Ji XQ, Zhao JF, Yuan C, Gao HB. Nuclear localization of Newcastle disease virus matrix protein promotes virus replication by affecting viral RNA synthesis and transcription and inhibiting host cell transcription. *Veterinary Research*, 2019, 50(1): 22.
- [14] 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.
- [15] Pantua HD, McGinnes LW, Peebles ME, Morrison TG. Requirements for the assembly and release of Newcastle disease virus-like particles. *Journal of Virology*, 2006, 80(22): 11062–11073.
- [16] Cox RM, Plemper RK. Structure and organization of paramyxovirus particles. *Current Opinion in Virology*, 2017, 24: 105–114.
- [17] 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.
- [18] Watkinson RE, Lee B. Nipah virus matrix protein: expert hacker of cellular machines. *FEBS Letters*, 2016, 590(15): 2494–2511.
- [19] Trevisan M, di Antonio V, Radeghieri A, Palù G, Ghildyal R, Alvisi G. Molecular requirements for self-interaction of the respiratory syncytial virus matrix protein in living mammalian cells. *Viruses*, 2018, 10(3): 109.
- [20] Ray G, Schmitt P, Schmitt A. Angiomotin-like 1 links paramyxovirus M proteins to NEDD4 family ubiquitin ligases. *Viruses*, 2019, 11(2): 128.
- [21] Marquis KA, Becker RL, Weiss AN, Morris MC, Ferran MC. The VSV matrix protein inhibits NF- κ B and the interferon response independently in mouse L929 cells. *Virology*, 2020, 548: 117–123.
- [22] Chambers P, Millar NS, Platt SG, Emmerson PT. Nucleotide sequence of the gene encoding the matrix protein of

- Newcastle disease virus. *Nucleic Acids Research*, 1986, 14(22): 9051–9061.
- [23] 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 the Sciences of the United States of America*, 2012, 109(35): 13996–14000.
- [24] Takimoto T, Portner A. Molecular mechanism of paramyxovirus budding. *Virus Research*, 2004, 106(2): 133–145.
- [25] El Najjar F, Schmitt AP, Dutch RE. Paramyxovirus glycoprotein incorporation, assembly and budding: a three way dance for infectious particle production. *Viruses*, 2014, 6(8): 3019–3054.
- [26] Bi Y, Jin Z, Wang Y, Mou S, Wang W, Wei Q, Huo N, Liu S, Wang X, Yang Z, Chen H, Xiao S. Identification of two distinct linear B cell epitopes of the matrix protein of the Newcastle disease virus vaccine strain LaSota. *Viral Immunology*, 2019, 32(5): 221–229.
- [27] 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.
- [28] 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: 133.
- [29] Jahanshiri F, Eshaghi M, Yusoff K. Identification of phosphoprotein: phosphoprotein and phosphoprotein: nucleocapsid protein interaction domains of the Newcastle disease virus. *Archives of Virology*, 2005, 150(3): 611–618.
- [30] Cathomen T, Mrkic B, Spehner D, Drillien R, Naef R, Pavlovic J, Aguzzi A, Billeter MA, Cattaneo R. A matrix-less measles virus is infectious and elicits extensive cell fusion: consequences for propagation in the brain. *The EMBO Journal*, 1998, 17(14): 3899–3908.
- [31] Inoue M, Tokusumi Y, Ban H, Kanaya T, Shirakura M, Tokusumi T, Hirata T, Nagai Y, Iida A, Hasegawa M. A new Sendai virus vector deficient in the matrix gene does not form virus particles and shows extensive cell-to-cell spreading. *Journal of Virology*, 2003, 77(11): 6419–6429.
- [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] Irie T, Shimazu Y, Yoshida T, Sakaguchi T. The YLDEL 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.
- [34] 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.
- [35] 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.
- [36] Patch JR, Han ZY, McCarthy SE, Yan LY, Wang LF, Hartly RN, Broder CC. The YPLGVG sequence of the Nipah virus matrix protein is required for budding. *Virology Journal*, 2008, 5(1): 1–12.
- [37] 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.
- [38] Zanetti F, Rodríguez M, King DJ, Capua I, Carrillo E, Seal BS, Berinstein A. Matrix protein gene sequence analysis of avian paramyxovirus 1 isolates obtained from pigeons. *Virus Genes*, 2003, 26(2): 199–206.
- [39] He Y, Taylor TL, Dimitrov KM, Butt SL, Stanton JB, Goraichuk IV, Fenton H, Poulson R, Zhang J, Brown CC, Ip HS, Isidoro-Ayza M, Afonso CL. Whole-genome sequencing of genotype VI Newcastle disease viruses from formalin-fixed paraffin-embedded tissues from wild pigeons reveals continuous evolution and previously unrecognized genetic diversity in the US. *Virology Journal*, 2018, 15(1): 9.
- [40] Xu HX, Song QQ, Zhu J, Liu JJ, Cheng X, Hu SL, Wu S, Wang XQ, Liu XW, Liu XF. A single R36Q mutation in the matrix protein of pigeon paramyxovirus type 1 reduces virus replication and shedding in pigeons. *Archives of Virology*, 2016, 161(7): 1949–1955.
- [41] 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. *The Journal of General Virology*, 2014, 95(Pt 5): 1067–1073.
- [42] 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.
- [43] Duan ZQ, Ji XQ, Deng SS, Hu Y, Zhao JF, Ni MM. Nuclear localization signal mutation in the M protein attenuates the virulence and replication of duck-origin Newcastle disease virus. *Acta Microbiologica Sinica*, 2018, 58(10): 1786–1797. (in Chinese)
- 段志强, 嵇辛勤, 邓珊珊, 胡焱, 赵佳福, 倪萌萌. 鸭源新城疫病毒 M 蛋白核定位信号突变影响病毒的毒力和复制能力. *微生物学报*, 2018, 58(10): 1786–1797.
- [44] Duan ZQ, Deng SS, Yuan C, Gao HB, Ji XQ, Zhao JF, Ruan Y. Nuclear localization signal mutation in the M protein attenuates the pathogenicity of Newcastle disease virus. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2018, 49(12): 2690–2697. (in Chinese)
- 段志强, 邓珊珊, 袁超, 高洪波, 嵇辛勤, 赵佳福, 阮涌. 新城疫病毒 M 蛋白核定位信号突变降低病毒的致病性. *畜牧兽医学报*, 2018, 49(12): 2690–2697.
- [45] Duan ZQ, Yuan C, Han YF, Zhou L, Zhao JF, Ruan Y, Chen JQ, Ni MM, Ji XQ. TMT-based quantitative proteomics analysis reveals the attenuated replication mechanism of Newcastle disease virus caused by nuclear localization signal mutation in viral matrix protein. *Virulence*, 2020, 11(1): 607–635.
- [46] Johnston GP, Contreras EM, Dabundo J, Henderson BA, Matz KM, Ortega V, Ramirez A, Park A, Aguilar HC. Cytoplasmic motifs in the nipah virus fusion protein modulate virus particle assembly and egress. *Journal of Virology*, 2017, 91(10): e02150–16.
- [47] Ke ZL, Strauss JD, Hampton CM, Brindley MA, Dillard RS, Leon F, Lamb KM, Plemper RK, Wright ER. Promotion of virus assembly and organization by the measles virus matrix protein. *Nature Communications*, 2018, 9: 1736.
- [48] Sourimant J, Thakkar VD, Cox RM, Plemper RK. Viral evolution identifies a regulatory interface between paramyxovirus polymerase complex and nucleocapsid that controls replication dynamics. *Science Advances*, 2020, 6(10): eaaz1590.
- [49] 许海旭. 新城疫病毒 M 蛋白功能性氨基酸突变和 M 蛋白与膜联蛋白 A6 互作影响病毒复制分子机制. 扬州大学博士学位论文, 2016.
- [50] Bellini WJ, Englund G, Richardson CD, Rozenblatt S, Lazzarini RA. Matrix genes of measles virus and canine distemper virus: cloning, nucleotide sequences, and deduced amino acid sequences. *Journal of Virology*, 1986, 58(2): 408–416.
- [51] Xu HX, Duan ZQ, Chen Y, Liu JJ, Cheng X, Liu JJ, Zhu J, Wang XQ, Liu XW, Hu SL, Liu XF. Simultaneous mutation of G275A and P276A in the matrix protein of Newcastle disease virus decreases virus replication and budding. *Archives of Virology*, 2016, 161(12): 3527–3533.
- [52] Liu JX, Cong YL, Yin RF, Ding C, Yu SQ, Liu XF, Wang CF, Ding Z. The deletion of an extra six nucleotides in the 5'-untranslated region of the nucleoprotein gene of Newcastle disease virus NA-1 decreases virulence. *BMC Veterinary Research*, 2014, 10(1): 1–8.
- [53] Yu XH, Cheng JL, He ZR, Li C, Song Y, Xue J, Yang HM, Zhang R, Zhang GZ. The glutamic residue at position 402 in the C-Terminus of Newcastle disease virus nucleoprotein is critical for the virus. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 17471.
- [54] Zhang GY, Zhang SW, Ding BB, Yang XD, Chen LY, Yan Q, Jiang YL, Zhong Y, Chen MZ. A leucine residue in the C Terminus of human parainfluenza virus type 3 matrix protein is essential for efficient virus-like particle and virion release. *Journal of Virology*, 2014, 88(22): 13173–13188.
- [55] Ringel M, Behner L, Heiner A, Sauerhering L, Maisner A. Replication of a nipah virus encoding a nuclear-retained matrix protein. *The Journal of Infectious Diseases*, 2020, 221(Supplement_4): S389–S394.
- [56] Westcott M, Smedberg J, Jorgensen M, Puckett S, Lyles D. Immunogenicity in African green monkeys of M protein mutant vesicular stomatitis virus vectors and contribution of vector-encoded flagellin. *Vaccines*, 2018, 6(1): 16.
- [57] Gray Z, Tabarraei A, Moradi A, Kalani MR. M51R and Delta-M51 matrix protein of the vesicular stomatitis virus induce apoptosis in colorectal cancer cells. *Molecular Biology Reports*, 2019, 46(3): 3371–3379.
- [58] Pentecost M, Vashisht AA, Lester T, Voros T, Beaty SM, Park A, Wang YE, Yun TE, Freiberg AN, Wohlschlegel JA, Lee B. Evidence for ubiquitin-regulated nuclear and subnuclear trafficking among *Paramyxovirinae* matrix proteins. *PLoS Pathogens*, 2015, 11(3): e1004739.
- [59] 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.
- [60] 姜维雨. 新城疫病毒 M 蛋白 K119 和 K260 泛素化修饰有助于病毒样颗粒的形成. 中国农业科学院硕士学位论文, 2019.

Advances in the role of M protein in the virulence and replication of Newcastle disease virus

Zhiqiang Duan^{1,2*}, Lei Zhou^{1,2}, Yifan Han^{1,2}, Jiafu Zhao^{1,2}, Xinqin Ji²

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 College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou Province, China

Abstract: The Newcastle disease virus (NDV) M protein is a non-glycosylated membrane-associated protein, which locates on the inner surface of NDV envelope and constitutes the bridge between the viral envelope and the nucleocapsid. Previous studies have shown that the NDV M protein is a nucleocytoplasmic shuttling protein, which plays essential roles in inhibiting host gene transcription and protein synthesis, and also facilitating viral assembly and budding. Up to now, numerous studies have mainly focused on viral F, HN, V proteins and RNP complex to reveal the relationship between the virulence and replication of NDV. However, in recent years, several studies using the reverse genetics techniques have indicated that the M protein is also associated with the virulence and replication of NDV. Therefore, this summary reviews the structural features of M protein, and the relationship between M protein and NDV virulence and replication, which will provide a new theoretical reference for further investigating the functions of NDV M protein.

Keywords: Newcastle disease virus, M protein, virulence, viral replication

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31960698, 31760732, 31502074), by the Science and Technology Fund of Guizhou Province (QKHJ-2020-1Y134) and by the Joint Project of Local Poultry Industry in Guizhou Province (QCN-2020-175)

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-851-88298005; E-mail: zqduan@gzu.edu.cn

Received: 23 December 2020; Revised: 20 April 2021; Published online: 17 June 2021