

SIN PV 多角体蛋白基因的序列分析^{*}

魏永杰 龙紫新 陈尚武 王珣章

(中山大学昆虫学研究所 生物防治国家重点实验室, 广州 510275)

摘 要 *SIN PV* 多角体蛋白基因的开放读码框为 750 bp, 编码 249 个氨基酸的蛋白质, 是目前所发现的最长的多角体蛋白基因. *SIN PV* 多角体蛋白 $M_r = 29\,236$, 其氨基酸序列与其它核多角体病毒的多角体蛋白氨基酸序列有高度同源性.

关键词 *SIN PV*, 多角体蛋白基因, DNA 序列分析

分类号 Q 34

斜纹夜蛾核多角体病毒 (*Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus, 简称 *SIN PV*) 属杆状病毒科核多角体病毒属的单核衣壳核多角体病毒亚属, 其基因组为 1.36×10^5 bp 的双链 DNA. 多角体蛋白基因为杆状病毒极晚期超量表达的非必需基因^[1], 它是 NPV 基因工程表达载体系统外源基因最重要的插入区, 也是构建重组 NPV 杀虫剂时颇受重视的领域. 因此对这一基因的研究是杆状病毒分子生物学研究中最重要的工作之一. 本研究首次报道 *SIN PV* 多角体蛋白基因的 DNA 序列, 并对这一序列进行分析.

1 材料与方法

1.1 DNA 片段的酶切及亚克隆

参照文献 [2] 进行.

1.2 DNA 序列测定及分析

DNA 序列测定参照美国 BIOCHEMICAL 公司 SEQUENASE KIT 操作手册; 用 DNASIS (V4.0) 软件分析所测得的序列.

2 结果与讨论

SIN PV 的多角体蛋白基因被杂交定位于基因组 DNA 3.0×10^5 bp 的 *Xba*I - O 片段上, 将该片段克隆到 pUC18 上构建成重组质粒 pP18PH (杂交和克隆结果将另文发表). 分别用 *Sal*I、*Hind*III、*Xba*I 单酶切及双酶切 pP18PH, 构建出 *Xba*I - O 片段的物理图谱 (图 1), 并分别将 *Xba*I - *Sal*I 0.8×10^3 bp 片段、*Sal*I - *Hind*III 1.0×10^3 bp *Hind*III

^{*} 国家自然科学基金重点 (39730030) 资助项目

文中多角体蛋白基因序列已被 GenBank 数据库收录, 收录号为 AF037262

收稿日期: 1998-01-15 魏永杰, 男, 25 岁, 博士

- *Xba*I 1.2×10³ bp 片段亚克隆到质粒 pUC18 上, 得到重组质粒 pP18PH1 pP18PH2 和 pP18PH3. 序列分析结果表明, pP18PH1 所插入的 *Xba*I - *Sal*I 片段长 815 bp, 内含有多角体蛋白基因完整的开放读码框 (open reading frame ORF). 该 ORF 长 750 bp, 编码一 249 氨基酸的蛋白质, *M_r*= 29 236 (图 2). 目前已报道的杆状病毒多角体基因中以 *Spli*NPV (*Spodoptera littoralis*) 多角体蛋白基因最长, 为 750 bp^[3]. 因此, *SIN*NPV 多角体蛋白基因与 *Spli*NPV 多角体蛋白基因为目前所发现的最长的多角体蛋白基因.

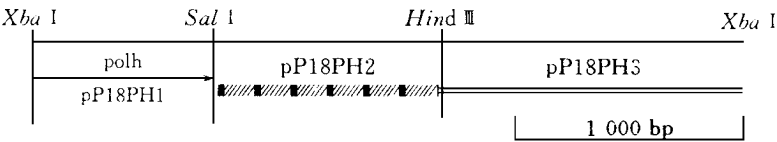


图 1 *SIN*NPV 基因组 DNA *Xba*I - O 片段的酶切位点及亚克隆

Fig. 1 Physical map and subclones of the *Xba*I - O fragment of *SIN*NPV genome

1	TCT	AGA	TAG	TGA	AAA	ATC	AAA	TAT	CCC	ATA	ATG	TAT	AGT	CGT	TAT	AGT	48
1											M	Y	S	R	Y	S	6
49	GCC	TAC	AAT	TAT	AGT	CCC	CAT	CTG	GCC	AAA	ACC	TAT	GTA	TAC	GAT	AAC	96
7	A	Y	N	Y	S	P	H	L	G	K	T	Y	V	Y	D	N	22
97	AAG	TAT	TAC	AAA	AAT	CTA	GGT	CAC	GTG	ATT	AAA	AAT	GCT	AAA	CGC	AAA	144
23	K	Y	Y	K	N	L	G	H	V	I	K	N	A	K	R	K	38
145	CAC	GAT	GCE	CTC	GAA	CGC	GAG	GCC	GAC	GAG	CGT	GAG	CTC	GAT	CAC	CTC	192
39	H	D	A	L	E	R	E	A	D	E	R	E	L	D	H	L	54
193	GAC	AAG	TAT	CTG	GTC	GCA	GAG	GAT	CCG	TTC	ATG	GGT	CCT	GGT	AAA	AAT	240
55	D	K	Y	L	V	A	E	D	P	F	M	G	P	G	K	N	70
241	CAA	AAG	TTG	AGT	CTG	TTC	AAA	GAG	ATT	CGT	AAC	GTG	AAG	CCC	GAC	ACG	288
71	Q	K	L	T	L	F	K	E	I	R	N	V	K	P	D	T	86
289	ATG	AAG	CTG	ATC	GTC	AAT	TGG	AAC	GGT	AAA	GAG	TTT	CTG	CGC	GAG	ACT	336
87	M	K	L	I	V	N	W	N	G	K	E	F	L	R	E	T	102
337	TGG	ACT	CGC	TTT	ATG	GAA	GAC	AGC	TTC	CCC	ATC	GTA	AAC	GAT	CAA	GAA	384
103	W	T	R	F	M	E	D	S	F	P	I	V	N	D	Q	E	118
385	GTG	ATG	GAC	GTG	TTT	TTA	GTG	GTA	AAC	ATG	CGT	CCC	ACT	AGA	CCG	AAC	432
119	V	M	D	V	F	L	V	V	N	M	R	P	T	R	P	N	134
433	CGT	TGC	TTT	AGA	TTT	TTA	GCG	CAG	CAC	GCG	CTC	CGA	TGC	GAT	CCC	GAG	480
135	R	C	F	R	F	L	A	Q	H	A	L	R	C	D	P	E	150
481	TAC	GTT	CCT	CAC	GAC	GTC	ATC	CGT	ATC	GTA	GAA	CCG	TGC	TAC	GTC	GGC	528
151	Y	V	P	H	D	V	I	R	I	V	E	P	S	Y	V	G	166
529	ACC	AAT	AAC	GAA	TAC	CGC	ATC	AGT	CTG	GCT	AAG	AAG	GGC	GGC	GGT	TGT	576
167	T	N	N	E	Y	R	I	S	L	A	K	K	G	G	G	C	182
577	CCC	GTG	ATC	AAC	CTG	CAC	GCC	GAA	TAC	ACC	ACG	TGC	TTC	GAG	AAC	TTC	624
183	P	V	M	N	L	H	A	E	Y	T	T	S	F	E	S	F	198
625	ATC	GAC	AAG	GTG	ATA	TGG	TAC	AAC	TTT	TAC	AAG	CCC	ATC	GTG	TAC	GTG	672
199	I	D	K	V	I	W	Y	N	F	Y	K	P	I	V	Y	V	214
673	GGC	ACC	GAC	TCG	GCT	GAA	GAG	GAG	GAG	ATC	CTT	CTC	GAA	GTG	TCG	CTC	720
215	G	T	D	S	A	E	E	E	I	L	L	E	V	S	L		230
721	GTG	TTC	AAG	ATC	AAA	GAG	TTT	GCT	CCC	GAC	GCG	CCT	CTA	TAC	ACC	GGT	768
231	V	F	K	I	K	E	F	A	P	D	A	P	L	Y	T	G	246
769	CCC	GCG	TAT	TAA	ATT	TGC	GAA	GAG	GAC	AAC	CGA	GAC	AGT	TCG	TCG	AC	815
247	P	A	Y	*													250

图 2 *SIN*NPV 多角体蛋白基因的核苷酸及氨基酸序列

Fig. 2 Nucleotide and predicted amino acid sequence of *SIN*NPV polyhedrin gene
编码的氨基酸名称以大写字母表示; * 表示终止密码子 (TAA)

比较 *SIN*NPV 与 *Autographa californica* (*Ac*) NPV 等 6 种核多角体病毒的多角体蛋白氨基酸序列^[4]的同源性, 结果表明, *SIN*NPV 与其它各核多角体病毒的多角体蛋白氨基酸序列高度同源. 其中, 与 *Spli*NPV 的多角体蛋白氨基酸序列同源性最高, 达 100%. 因此, 本研究也进一步证明 *SIN*NPV 与 *Spli*NPV 有很近的亲源关系^[5]. *SIN*NPV 与其它各核多角体病毒的多角体蛋白氨基酸序列同源性分别为, *Spodoptera exigua* (*Se*) NPV 84%、*Orgyia*

pseudotsugata (*Op*) NPV 83%、*AcNPV* 84%、*Lymantria dispar* (*Ld*) NPV 80%、*Bombyx mori* (*Bm*) NPV 79%。

杆状病毒多角体蛋白基因的上下游为杆状病毒表达载体与病毒 DNA 同源重组的重要区段, 因此, 对杆状病毒多角体蛋白基因上下游序列的测定有其重要意义。 *SINPV* 多角体蛋白基因的上下游序列我们将另文报道。

参 考 文 献

- 1 Miller L K. Baculovirus as gene expression vectors. *Ann Rev Microbio*, 1988, 42: 177~ 199
- 2 Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. *Molecular cloning, a laboratory manual*. New York: CSH, 1989. 1.21~ 1.85
- 3 Croizier L, Croizier G. Nucleotide sequence of the polyhedrin gene of *Spodoptera littooralis* multiple nucleocapsid nuclear polyhedrosis virus. *Biochim Biophys Acta*, 1996, 1218: 457~ 49
- 4 Leisy D J, Rohrmann G F, Beaudreau G S. The nucleotide sequence of the polyhedrin gene region from the multicapsid baculovirus of *Orgyia pseudotsugata*. *Virology*, 1986, 153: 280~ 288
- 5 Maeda S, Mukohara Y, Konrdo A. Characteristically distinct isolates of the nuclear polyhedrosis virus from *Spodoptera litura*. *J Gen Virol*, 1990, 71: 2631~ 2639

Nucleotide Sequence of the Polyhedrin Gene of *Spodoptera litura* Nuclear Polyhedrosis Virus

Wei Yongjie* Long Qixin Chen Shangwu Wang Xunzhang

Abstract The polyhedrin gene of *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus was identified. With a coding sequence of 780 nucleotides, corresponding to a protein of 249 amino acid, the polyhedrin gene of *SINPV* is the longest polyhedrin gene known. This gene codes for a putative protein with a relative molecular mass (M_r) of 29 236 and the predicted amino acid sequence shows high homology with the amino acid sequences of other NPVs.

Keywords *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus, polyhedrin gene, DNA sequence analysis

* State Key Laboratory for Biocontrol, Institute of Entomology, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China