

斜纹夜蛾核多角体病毒 DNA *Xba*I 4.0 kb 片段锌 指蛋白基因及重复序列分析*

胡国栋,王立华,胡晓辉,杨凯,庞义**

(中山大学生物防治国家重点实验室/昆虫学研究所,广东广州 510275)

Nucleotide Sequence of *Spodoptera litura* Nucleopolyhedrovirus DNA *Xba* I 4.0 kb Containing the Zinc Finger Protein Gene and Repetitive Sequence Regions

HU Guo-dong, WANG Li-hua, HU Xiao-hui, YANG Kai¹, PANG Yi^{**},

(State Key Laboratory for Biocontrol and Institute of Entomology, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The complete nucleotide sequence of *Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus (SplNPV) DNA *Xba* I 4.0 kb has been determined. It contains a zinc finger protein gene and three repetitive sequence regions. The open reading frame of this zinc finger gene is 2 196 bp long, encoding a putative protein of 731 amino acids with molecular weight of 83.09 kD and isoelectric point of 4.61. The 5' noncoding region of this gene has one baculovirus early promoter motif (GAGT) and one TATA box. Five polyadenylation signals, AATAAA, are found in the downstream of the translation stop codon. A ring finger motif which is a C3HC4 type of zinc finger protein motif and a nuclear localization signal are present at the amino acid residues 232 ~ 241 and 323 ~ 340 respectively. This protein is probably highly curled. Three repetitive sequence regions (SR1, SR2, SR3) are present in this fragment. SR1 and SR3 contain numerous repetitive sequences, and one of these in SR1 is 41 bp long. SR1 and SR3 possibly act as the transcriptional enhancers or origins of replication.

Key words: *Spodoptera litura*; Nucleopolyhedrovirus; Zinc finger protein gene; Repetitive sequence

摘要: 测定了斜纹夜蛾核多角体病毒 (*Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus, SplNPV) 中山大学分离株基因组 DNA *Xba* I 4.0 kb 片段全序列, 该片段包括一个锌指蛋白基因及三个区域的 DNA 重复序列 (SR1, SR2, SR3)。该锌指蛋白基因读码框为 2 196 个核苷酸, 编码 731 个氨基酸的蛋白质, 分子量为 83.09 kD, 该蛋白的等电点为 4.61。在其 5' 非编码区内有一个杆状病毒早期启动子基序 GAGT 及一个 TATA 盒, 在其终止密码的下游有 5 个真核生物转录 mRNA 时 poly(A) 加尾信号 AATAAA。在 223 ~ 241 氨基酸残基之间有一个锌指蛋白基序, 这一基序属于锌指蛋白基序中的 C3HC4 类, 即环指 (Ring finger) 类基序。在 323 ~ 340 氨基酸残基区域为一个核定位信号。该蛋白可能为一个高度折叠的蛋白质。在该片段中存在三个 DNA 重复序列区域 (SR1, SR2, SR3), 其中 SR1 与 SR3 区域存在更大量的重复序列, SR1 区域其中的一个重复序列长达 41 bp, SR1、SR3 重复序列区域可能作为该病毒转录的增强子, 或者作为 DNA 复制的起始点。

收稿日期: 2000-08-23, 修回日期: 2000-12-01

* 基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (39730030)

作者简介: 胡国栋 (1965-), 男, 浙江临海籍, 博士, 研究方向为杆状病毒分子生物学及基因工程。

** 通讯作者简介: 庞义 (1945-), 男, 广西北海籍, 教授, 博士生导师, 研究方向为杀虫微生物分子生物学及基因工程。Correspondence author. 本文序列已被 GenBank 收录, 接收号为 AF325155

关键词:斜纹夜蛾;核多角体病毒;锌指蛋白基因;重复序列

中图分类号:S433.4 文献标识码:A 文章编号:1003-5125(2001)03-0236-06

斜纹夜蛾是一种严重危害农作物的重要害虫,它危害的农作物达几十种。自从发现了斜纹夜蛾核多角体病毒(*Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus, SpltNPV)以后,防治这一害虫就多了一种有效的手段,这一病毒杀虫剂已经工厂化生产^[1]杆状病毒作为一种生物杀虫剂有其独特的优点,它杀虫专一性高,不伤害天敌,不污染环境。但也有一些缺点,如杀虫谱太窄,杀虫速度较慢等。

在杆状病毒基因组中,已知其中几个基因的编码产物具有锌指结构,如 IE1、IE2、CG30、PE38、IAP1、IAP2、ME53 等,它们都具有重要的调控作用^[2]。在杆状病毒基因组中还有一些同源序列(hr)或重复序列,它们主要是作为病毒转录的增强子,或者作为病毒复制的起始点^[3-5]。已克隆并测序的 SpltNPV 基因有多角体、p10、*egt*、p74、*pk* 等^[6-13],关于该病毒基因组其它基因或序列的分析则未见报道。本文报道了 SpltNPV DNA *Xba*I 4.0 kb 片段的全序列及其所包含的一个锌指蛋白基因和三个区域的 DNA 重复序列,为进一步研究这种病毒基因组结构及通过基因工程途径改良该病毒杀虫剂打下基础。

1 材料和方法

1.1 病毒、质粒及菌种

斜纹夜蛾核多角体病毒为本所分离的中山大学分离株,质粒 pBluescript 及受体菌 DH5 α 为本实验室保存。

1.2 试剂、材料

限制性内切酶、DNA 分子量标准、T4 DNA 连接酶、限制性内切酶等为保灵曼公司产品,其它试剂均为国产分析纯试剂。

1.3 病毒 DNA 的提取与酶切

提取 SpltNPV DNA 进行酶切,低电压电泳过夜,回收其中 *Xba*I 4.0 kb 片段,随后进行分子克隆及序列测定。

1.4 分子生物学基本操作

按文献^[14]方法进行。

1.5 DNA 序列测定及序列分析

用 Qiagen 公司质粒提取及纯化试剂盒纯化含目的片段的重组质粒 DNA,用自动测序仪及人工合成引物接驳的方法不断延长测定的序列,直至测完

全序列,对有些区域作反复测定。对测得的序列用 DNASIS、PROSIS 软件进行 ORF、氨基酸序列、DNA 重复序列、蛋白质二级结构等分析,用 Motif Finder、ProfileScan 等软件进行特征性基序的搜索,用 BLAST 软件搜索 GenBank database 中的同源序列。

2 结果

2.1 SpltNPV DNA *Xba*I 4.0 kb 片段全序列及锌指蛋白基因的特征

SpltNPV DNA *Xba*I 4.0 kb 片段经全序列分析显示,该片段全长为 4 051bp,它包含一个 2 196bp 的读码框(ORF)及三个区域的 DNA 重复序列(SR1、SR2、SR3)。该 ORF 可编码 731 个氨基酸的蛋白质,其分子量为 83.09kD,等电点为 4.61。在这一读码框的上下游未发现大于可编码 70 个氨基酸以上的读码框。但在其起始密码上游有一个杆状病毒早期启动子基序 CAGT 及一个 TATA 盒,在其终止密码的下游有 5 个真核生物转录 mRNA 时 poly(A)加尾信号 AATAAA(图 1)。用 Motif Finder 软件搜索该 ORF 编码的氨基酸序列的特征性基序,发现它在 232~241 氨基酸残基之间有一个锌指蛋白基序,这一基序属于锌指蛋白基序中的 C3HC4 类,即环指(Ring finger)基序。用 ProfileScan 软件分析还发现 323~340 氨基酸残基区域为一个核定位信号(nuclear localization signal)。用 BLAST 软件分析发现该锌指蛋白基因氨基酸序列与一个美洲棉铃虫(*Helicoverpa zea*, Hz)NPV 的 *hoar* 基因(未知功能)及中国棉铃虫(*Helicoverpa ornigera*, HaNPV)四个分离株(E17、AE20、F29、A6)的部分锌指蛋白基因(未知功能)有 14%~18% 同源性。在 SpltNPV 锌指蛋白基因氨基酸序列 462~479 范围内两个氨基酸残基 EP 几乎连续重复 9 次(只有其中的一个重复 P 被 L 所取代),在序列 543~550 范围内为连续的 8 个 D(图 1)。在氨基酸组成中 Asp(D)占 8.48mol%、Glu(E)占 8.34mol%、Ser(S)占 9.03mol%,这三种氨基酸占的比例最高,而前二种为强酸性氨基酸;另外易形成 β -转角的 Pro(P)也较多,共 34 个,占 4.65mol%;可形成二硫键的氨基酸 Cys(C)共 19 个,占 2.60mol%;该蛋白不含 Trp(W)。

在 SpltNPV 锌指蛋白二级结构中, α -螺旋占

```

1 7C7AGACCGTCAAATTTAAACATTTTCTCGAGACGAATCAATTTCACAAAATCAATCTCGCTATACAGTTTAGATTAAACGTCACAGTTTGGTCATCAACAAATTTATTA
2 1AACAAATAAGTACAACAGCAATGTACTGACAAAATAATGGCAATTTTGTAAATATCAGTCATGTTAACAAAGTACACGCAACCAATTCACCACGTCAAAACATTCACAT
3 27CGTAAATAATGTTTGTATAGTATATATACTCGGAAAAACAATGCTCATTAGAAAATAACGGTFTTAAATAAACTGTATCAAAATCGGTGGCCAAATCCATAAAATTCATAAAGA
334 ATATTATTGCAATCATTACAGACCAATGTACAAGTTATAATATTTATGATCAGAAAATAAATTAACAGGTAAACACCAATTTTACAGCCCCCCCCAGCAACAGCCT
44 139CAAGTGGCAACACCGCCGCAAGCCGCAACATCGGACGATCAAAAGCCACGGCAACGCAACGCAACGTCACCCGACCAATCAGUAGCCACCAAGCCAGCCGAGT
55 59CTUAGCAGCGTCAGCGGCAACGTCACCATCGGTAGGGGTLATCGCCGACGGAAGCTACAACATCATCACCGGCAAAAGATCTCCGGGGCGTCTGATGACAGTCAATATCC
66 77GAAGTAGGATGACTAATCGTTTTTATGATTACCCACATCAACGGACGGTCATCAAAAATCAACGGGAAGTTTTTGAGAGCATCTATAAGAAAATTTGTTTTGTTGAAAATTG
77 83CACCTAATCACATACACACATACACTAATAAAATATAAALTAIAAAAATAAALTCACCTTTGATAATCCACAAAATTTAAATTTGTACACTTGGCACACTCGGAAAAGCG
89 95GTACAGACAGAGTTGAGAGCCGAAAGCGTTGTGGCCAGATCACGAAACATGTTCCGTCTTTTATATCGGGCCGATCACAGTGTGTCCGTCCGTGTTATCGTCTCCGGATT
100 106TAGATATCAATTTTTTTTGGCAGTGCAAAATAATCCGCTATCCGACAGTACTATATACAGTACAAAAATTCGAATTGTAGACTATTTATCTAGCAAAAGCTACACTGTAT
111 117ATATLGAATCTATATACATACGAAATAGAGTATATTTTTGCACTGCAAAAAGGTGCATCGGGGCTACGCTGACCCGACCAATCTAATCGCATCCATATCCGTCAGGCA
122 128TTCGGGGCTACGTCAGTGGTATATCTAATCGAGTACGGCATTCGGGCATCTTATCGCATCCGTAATCCGGTACGGCATCCGTTCTTATCGAATCCAGCCAGGCATC
137 143CGTTGATTTGGTACGGCATCCGGACTCGTAGCTGACCGGAATACCGTGGGTAAACATCGATCTCGCCGACTATAAAAAGCCGAACTGTTCCGGTTCCAGGCAACAG
144 150TCTAALCTGTAGTACCGCCGTTAGCACATCACGATCGTGTCCAATTTATATATCGTTTGAAGAGTCAAAAGTCGATCGACTGCATTAACGCTATTTTTAGTCCCGCC
151 157zinc finger protein gene> M L S N Y Y I A F E E S K S M Q C I N V F L Y P A
1574 ACTAATAAAGTGCACACCGCCAAACAACCGCGTCCGTCATCTCGACCTACAATCGAACACGTTTCGTTTTAACGTGACAAAGACTCAGTACAATGTGTATAGTACTACTTA
26 32T N K V Q Q R N N R V G H I D L Q S N T F R F N V T K T Q Y N V Y S D T L
265 271GTTCAATTTAAACAAAATTTGTCGCGTGTTCGGTTCCGAGGCAAAAGTTAAACAAAACCTTAACCAACCTTTAAACGATCTGACCCGTTTTAAGATTGTCCAGATACTCTTG
31 37V Q F K V L C R R A C P A K L N K K L N D L L T D L T R F K V I L I Y Q
376 382ATAAAATGAGCAATTCGCAAAAAGCAATGAGAAATACCACTGACGACAGCGAGTATTACTGTTTGGTACGTAATTTCTTAAACACCGTCGACAATGCAACTAATCAC
390 396V K M D E L Q K E H E N T T Y D D S E Y Y C L V R N F I N T V D N A T N H
407 413A A A C A T A C T A T T C C C C A C T G A G T T G G G C G T A A T T T A T G G A A A A T G D C A G T C A A A C G A T T A T T C T C A C T T T T A A V D T A C A M T T C C A A C G A A I T
419 425K E I T T A A T E L G V N I M E K C A G Q I Y Y S H G L N C T T I R N E I
1998 2004TALATTTGAAAGCAAAAATTTAAACCGCCGCTCAATCGCCGCAAAATATAGAGGCAAAAATCAATCTGTCTATTAATGAAAGCCGTTAFACTGTGTATCCAG
174 180Y I M K E K L K P A V L N A R V L N A R V L E A K I N L S I N E L K P V I L I Y Q
2109 2115ITGGCCATCGATGCGATTATGTCGCAATCTGCAATGAAAAATCAACCTCTCAACTCATGACGTGGGACATAGATTTTGTGTCGACTCTATATACGAAAAGATTGTACAG
21 27L R I D A I M C E S C N E K S A S Q L M T C G H R F C V D C T Y E K I V Q
220 226GAGATCAAAGATTTGAAAATTTATCATGTATCATTTCCGAAAATAAGACTATTTTATATCGTTGAAACCGTCTCCCATGAAACCGCTATATGAATGATTTTTATATACAG
238 244E I K D F E N Y S C I I C E K M N Y F I S L N A A P M V A Y M N D F Y N Q
240 246T A G G T A A C C G T A C C A C G A A T G C T A A T A A A T T G C G A T T A C T A C C G A T G A C C G T G A T T C G G C G T G G C C C A C C A C A T C A G A C T C T C C A A C T G C T A A A C C A A G
285 291L R V A T T N A A A N K I G J T T D D A D D S G V A A T T S D S S T A K A K
243 249AGCAGAAAACGATCTGCATCAACCGCTACTAACAAATCAACAAGTCAADTAAGTGTGTGTATCGAAAATTCGCAATTCATCTGTTTGTCTTCTGATGATAGCUATGAT
312 318S R K R S A S T A T N K S T K S R K L L S S K L R N S S V C S S D D S D D
255 261GATTCGTTCCGACTGATAATTTTCAGTTGTAATATAGACAAGTAAAAAAGTTAAAAATCATCTACCATCACTACTAAGTGTCTGTACAACCTAATAGCGATGAA
274 280D S V P T D N I S V V V I D K L K L K S S S T I T T N C S V Q L N S D E
2664 2720T T A C G G A T T P A T G T C T A C T A T G A T A A T T C C A C C G A A C C A G G A G C T T T G T T C A A C A G C A G A A A A A A T C G G C G A C C G C A G C T C G A T G A T C A G C A C C C G T C
296 302S T D Y D A D Y D D N I P P N Q E A F V Q Q Q K K S G E P Q L D D Q Q P V
2775 2831G A A C C C G A T G A A C A C C C C G A T G A A C C G T C C C A C C T C G C A T T G A T T A I G I C C T G A C C A G C G G A A T C C G A G T C T G A G T C T C T G A G C C G A C C G A C C C G A C C C
305 311E P D E Q Q P D E R S A P R I D Y V P E Q R E S E S E S A E P E P E P E P
2855 2911M P C G A A C T C G A G C C G A A C C G A A C C C G A C A C C G T C C A A G T C A C A G T I G C A G C T C T C A G G T A L C A T G A T G T I T G T C T T G T A C A A G A G C C C G T G A T T T G G A T
290 296E P E L E P E P E P E P E P E P E P E P E P E P E P E P E P E P E P E P
2907 2963G A T A A C G A T G A A T C A T I A A A A A G A G A T T A T A T C C G A I C C G A I C T G A T C G A T C A A T T A A A A C T A A A T T A A T C A G C C C G T I G C C G C A C C G C A A A T G A A T G A T
307 313D N D V I I K K E I I S D P D V I D Q Y Y K T K F N Q A V A A A A N E N D
310 316G A T C A G C A G A T G A C G A T A T T G A A T T A T A G T C C A C C G A I A A G C A C C A A A G A T T G C A G T T R O C C A C A A A A G T C C A A A G C C A A A G C C T T T G A A T C T T G T A C A G A
324 330D D D D D D D I E F I S C T D K D G K F L D V R D I K L H K G F E C L Y R
29 305T A C C G G C A C A A A C A G T T T A C C G C C G T C A T C A T G A A A A A G T A T T G A T T A A A G A T U A A A A A A A T G A A G C T A A T G G T G T U C C X C T T T A T T T G A T C T A T A T C G A T A C
381 387I P G T N E F Q P V I M E K V I I K D E K N E A N G V P A L F D S I D R Y
330 336A D I G T A A G L A C T A A C A T A C A T T A T A C G C G A C G T A T C G A A C G T C C A G A G T A T C G C A G A A A A C A T A A T T A T G A A T G A C T T T C A G C A G C A G G A C A A C A C C A G C A G C A G
348 354N I Q A R V I H Y T R R I E R S R G I D E N I I M N C L Q Q Q E Q Q Q Q Q
3131 3187C A G C A L C C C G A T G T C T C T T C C C G T G A G A C T T C A A C C G A T A C C G T G I C T T C A T T T C T G A G C T G A G T C T A C T T C G A C T C L O G T G T C T A A G T T A C T T C C C G T G T C T
355 361Q P P P M S P S A E T S T D D V V S P I S E A E S T S T A V S K S T A V S
352 358T G C A T T C A A G T C T A C T G C C G T T A A G T C T A A A T C T T C A A A A G T A C A C A G C G C C A C A A T A T C G A A T G T A A C A C A C C G C G I C T G T A T C C T G A T G A A A A G T A A G T T T
392 398S I S K S T A V K S K S S K K Y R Q A T I S E C N T T R L Y P D G R Y K F
363 369T T C A T C A G T A A T C G T G A G C T C C G T C G T C T T C C A C T T C C T G A A T T G T C T C I A C C A A C G A A T G G A A G A C A C G A C T T G A T A T C C G A T T C A T T T C G T C G A T G A A
374 380L T Q *
374 380AAATGTATTTAATAAATGATAATGTATTTTAAATAATGTTTATTGATTTTAAATAAATGATAAATGATAAATATTAATAAATGATTATAAATAATGATTAATTA
385 391poly(A) poly(A) poly(A) poly(A) poly(A)
385 391AAAAATGATAAAGTGTGTTAAACTTGCATTTTATTTTGTGTATAGTAAAAATTTTTGCGTATAGTAAAAACACACACACACTATAAAGCTTATAATTAATAATL
396 402TATAATTTGAAACAAAAATCATGAACAGCTATATATTTAAATTAACAAGTCAAT

```

图 1 SplNPV DNA *Xba*I 4.0 kb 片段核苷酸序列

Fig.1 Nucleotide sequence of SplNPV DNA *Xba*I 4.0 kb fragment

The nucleotide sequence of SplNPV DNA *Xba*I 4.0 kb fragment containing a zinc finger protein gene is presented with the predicted amino acid sequence in one letter code. The CAGT motif, TATA box, poly(A) signals, EP repeats and 8 consecutive D are indicated.

29.41%, β -折叠占 19.70%, β -转角占 45.14%,无规卷曲占 5.75%。最大的 α -螺旋区位于 176~217 位。 β -转角占的比例很高,而无规卷曲占的比例很低,这可能说明该蛋白为一个高度折叠的蛋白。SpliNPV 锌指蛋白基序(232~241)位于 β -转角区与 β -折叠区,核定位基序(323~340)及 EP 连续重复区(462~

479)也几乎都位于 β -转角区(图略)。用 BLAST 软件搜索 GenBank 核苷酸序列数据库,发现 SpliNPV DNA *Xba*I 4.0 kb 的一段序列与海灰翅夜蛾核多角体病毒(*Spodoptera littoralis* multicapsid nucleopolyhedrovirus, SpliMNPV)在蛋白激酶基因(*pk*)下游的-1 链序列(互补链)有高达 86%的同源性^[5](图 2)。

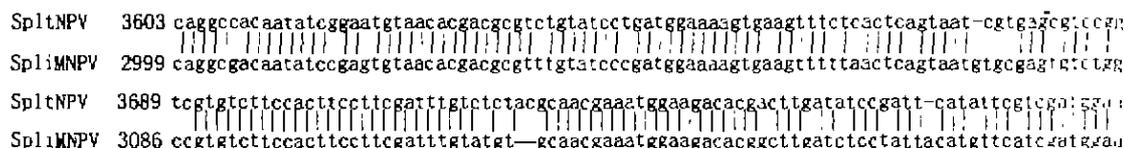


图 2 SpliNPV DNA *Xba*I 4.0 kb 在锌指蛋白基因下游一段序列为 SpliMNPV *pk* 基因下游一段序列的联配比较

Fig. 2 Sequence alignment downstream of SpliNPV DNA *Xba*I 4.0 kb zinc finger protein gene and SpliMNPV *pk* gene

2.2 SpliNPV DNA *Xba*I 4.0 kb 片段重复序列分析

SpliNPV DNA *Xba*I 4.0 kb 片段存在三个重复序列区域,这三个重复序列区域分别为 SR1、SR2、

SR3,各区域内大于 10bp 的不同的重复序列依次以小写英文字母加以区分(表 1)。其中 SR1 与 SR3 区域存在大量高度重复的序列,SR2 区域内较长的重

表 1 斜纹夜蛾核多角体病毒 DNA *Xba*I 4.0kb 包含的重复序列

Table 1 Repeated motifs SpliNPV DNA *Xba*I 4.0kb fragment

Name	Sequence	Length*	Location
SR1a	GCAGCATCAGC	11	432, 480
SR1b	CAGCATCAGCAACGCCAGCGCA	23(2)	481, 531
SR1c	CAACGTCACC	10	513, 574
SR1d	CACTAATAAA	10	800, 1553
SR1e	ACTAATAAAAATATAA	15	801, 816
SR1f	AATAAAATATAAACT	15	804, 819
SR1g	CGGCGGCTACGTGAC	16	1170, 1224
SR1h	TACGTGACCG	10	1178, 1363
SR1i	CCGACCATACTAATCGCATCCAAATCCGGTCAGGCATCCG	41(2)	1185, 1266
SR1j	CATATCTAATCG	12	1190, 1244
SR1k	CTAATCCGGTCAGGCATCCGGC	22(2)	1206, 1249
SR1l	GTCAGGCATC	10	1214, 1257, 1295, 1344
SR1m	GTCAGGCATCCG	12	1214, 1257, 1295
SR1n	AGGCATCCGG	10	1217, 1260, 1326
SR1o	CATATCTTATCG	12	1271, 1310
SR1p	TGTTCCGGTTCGAGGCAA	18(1)	1423, 1691
SR1q	TTAAACAAA	10	1672, 1710
SR2a	AGCCCGTGAT	10	2086, 2980
SR2b	GATTATGTGC	10	2123, 2820
SR2c	TGATGATTCGG	11	2387, 2549
SR2d	ATAGCGATGA	10	2542, 2653
SR2e	TGATAATATT	10	2567, 2690
SR2f	CAGCAGCCCG	10	2763, 2787
SR2g	GAGCCCGAGCCCGAGCCCGAGCCCGA	26(3)	2862, 2886
SR3a	GCAGCAGCAG	10	3413, 3434
SR3b	GTCGTGTCTT	10	3486, 3688
SR3c	TCGACTGCCGTGTCT	15(1)	3519, 3537
SR3d	TCTAAGTCTACTGCCGT	17	3531, 3558
SR3e	CGTGTCTTCCATTTC	15(1)	3545, 3690
SR3f	AAAATGTATT	10	3773, 3858, 3871
SR3g	AATGTATTTTAAATAAATGTAT	22(2)	3775, 3797
SR3h	TGTATTTTAAAJAAATGTATAATG	24	3777, 3821
SR3i	TATTAATAAATG	13	3851, 3864
SR3j	TATTAATAAAT	12(1)	3851, 3864, 3877
SR3k	AATAAATGTATTAAT	15(1)	3856, 3868
SR3l	TAATTAATAAT	10	3880, 3985
SR3m	ATTTTGTGATAGTAAA	19	3921, 3940

* The length of each motif is shown in bases, with the number of allowed mismatches, gaps, and insertions in parentheses

复序列主要存在于编码 EP 氨基酸重复序列的那一段 DNA 内。SR1 区域的 SR1i 重复序列长达 41bp, 而在 SR3 区域内, 大量的重复序列存在于一段不到 600bp 的 DNA 片段内。SR3 区具有较高的 A、T 含量, 达 64.0%。这三个区域内的重复序列与其它杆状病毒重复序列之间不存在同源关系, 而且这三个区域内的重复序列彼此之间也无同源性。

3 讨论

从 SpltNPV 锌指蛋白基因启动子区含有杆状病毒早期启动子基序来看, 该锌指蛋白基因可能为一个早期表达的基因。杆状病毒有许多重要的锌指蛋白基因都是早期基因, 如 *ie-1*、*ie-2* 等基因^[12]。而该蛋白结构中的一个最重要的特征就有含有一个环指基序 (C3HC4 类基序)。而含有这一基序的大量真核生物及病毒的蛋白质可参与蛋白质与蛋白质之间的相互作用^[13]。又由于该蛋白含有核定位基序, 因此很有可能在细胞核内发挥作用。在杆状病毒中含有锌指蛋白基序的几个基因, 如 IE1、IE2、CG30、PE38、IAP1、IAP2 等都为转录调节因子, 通过反式作用调节病毒甚至细胞基因的表达, 因此具有重要的调控作用^[2]。从这一角度看, 这一 SpltNPV 锌指蛋白基因很有可能是核内一个重要的调控基因, 其编码的锌指蛋白参与多种核酸与蛋白质及蛋白质与蛋白质之间的相互作用, 因而在病毒的侵染周期中发挥着重要的作用。

由于 SpltNPV DNA *Xba* I 4.0 kb 的一段序列, 即重复序列 SR3 所在区域与 SpliMNPV *pk* 基因下游的一段序列 (互补链) 有高达 86% 的同源性, 以及已测定的 SpltNPV 基因 (包括 3' 端不完整的 *pk* 基因) 与对应的 SpliMNPV 基因都有很高的同源性^[6-10], 推测该锌指蛋白基因下游的互补序列可能就是 SpltNPV *pk* 基因的下游序列。已报道 SpliMNPV 与苜蓿丫纹夜蛾核多角体病毒 (*Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus, AcMNPV) *pk* 基因的下游也存在重复序列区域, 分别为 SpliMNPV 的 SR4 及 AcMNPV 的 *hrla*^[5], 而且后者已被证明具有转录增强子及复制起始点的功能^[4]。

在 SpltNPV DNA *Xba* I 4.0 kb 中的这三个区域的重复序列与其它杆状病毒重复序列之间不存在同源关系, 而且这三个区域内的重复序列彼此之间也无同源性。这种某一病毒独有的且重复序列区域之间不存在同源关系的现象在一些杆状病毒重复序列区

也存在, 而且这些重复区有的也具有转录的增强子功能^[5]。

在其它许多杆状病毒基因组中发现有同源区 (*hr*) 序列或重复序列, 而且已经证实其中的许多序列可作为转录的增强子 (enhancer), 或者作为病毒 DNA 复制的起始点^[3-5]。SpltNPV DNA *Xba* I 4.0 kb 这三个重复序列区, 尤其是 SR1 与 SR3 很有可能也有类似的功能, 这需今后进一步的研究。同源区或重复序列区往往存在于杆状病毒基因组的可变区, SpltNPV DNA *Xba* I 4.0 kb 序列是否处于其基因组 DNA 序列的变异区, 也有待基因组更多序列测定完以后才能作出较准确的回答。

参考文献

- [1] 庞义. 昆虫病毒病 [A]. 见《昆虫病理学》(蒲蛰龙主编). 广州: 广东科技出版社, 1994, 85-216.
- [2] Thiem S M, Miller L K. A baculovirus gene with a novel transcription pattern encodes a polypeptide with a zinc finger and a leucine zipper [J]. *J. Virology*, 1989, 63: 4489-4497.
- [3] Theilmann D A, Stewart S. Tandemly repeated sequence at the 3' end of the IE-2 gene of the baculovirus *Orgyia pseudotsugata* multicapsid nuclear polyhedrosis virus is an enhancer element [J]. *Virology*, 1992, 187: 97-106.
- [4] Leisy D J, Rasmussen C, Kim H T, et al. The *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus homologous region 1A-identical sequences are essential for DNA replication activity and transcriptional enhancer function [J]. *Virology*, 1995, 208: 742-752.
- [5] Factor O, Toister-Achituv M, Nahum O. Enhancer element, repetitive sequences and gene organization in an 8-kb region containing the polyhedrin gene of the *Spodoptera litoralis* nucleopolyhedrovirus [J]. *Arch Virol*, 1997, 142: 1-15.
- [6] 魏永杰, 龙繁新, 陈尚武, 等. SINPV 多角体蛋白基因的序列分析 [J]. 中山大学学报 (自然科学版), 2000, 37(6): 91-93.
- [7] 胡国栋, 庞义, 杨凯, 等. 斜纹夜蛾几丁质酶基因的克隆及序列分析 [J]. 生物化学与生物物理学报, 2000, 32(5): 537-540.
- [8] 胡国栋, 庞义, 李充璧, 等. 斜纹夜蛾核多角体病毒基因组 DNA *Xba*I 2.0 kb 片段序列分析 [J]. 农业生物技术学报, 2000, 8(4): 315-319.
- [9] 胡国栋, 庞义, 杨凯, 等. 斜纹夜蛾核多角体病毒几丁质酶基因上游 4.0 kb 的序列分析 [J]. 中国病毒学, 2001, 16(2): 161-165.
- [10] 魏永杰, 龙繁新, 陈尚武, 等. SINPV *p10* 基因簇的序列及结构特征分析 [J]. 生物化学与生物物理学报, 1998, 30(6): 550-555.
- [11] 同庆生, 庞义, 杨洁, 等. 斜纹夜蛾核多角体病毒 *egt* 基因的核苷酸全序列分析及同源比较 [J]. 生物工程学报, 1999, 15(2): 176-182.
- [12] 杨洁, 龙繁新, 吴文言, 等. 斜纹夜蛾核多角体病毒 *p74* 基因的克隆和序列分析 [J]. 中国病毒学, 2000, 15(1): 45-51.
- [13] 魏永杰, 龙繁新, 陈尚武, 等. SINPV PK 基因的部分序列分析

- [J]. 中山大学学报(自然科学版), 1998, 37(5): 119-121.
- [14] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual[M]. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- [15] Ayres M D, Howard S C, Kuzio J, et al. The complete DNA sequence of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus[J]. Virology, 1994, 202: 586 ~ 605.
- [16] Struhl K. Helix-turn-helix, zinc-finger, and leucine zipper motifs for eukaryotic transcriptional regulatory proteins[J]. Trends Biochem Sci, 1989, 14: 137-140.
- [17] Loebler G, Stenger J E, Ray S, et al. The zinc finger region of simian virus 40 large T antigen is needed for hexamer assembly and origin melting[J]. J Virol, 1991, 65: 3167-3174.

安徽《中医临床杂志》2002 年征订启事

《安徽中医临床杂志》创刊于1988年,是国家科委和新闻出版署正式批准出版的中医综合性学术期刊,内容丰富,格调活泼,设有专家论坛、专题研究、专病政治、临床研究、名老中医之路、医学经验、临床报道、医案医话、病案讨论、病例报告、方药运用、学术探讨、歧黄论坛、新安医学研究、华佗学术研究、针灸推拿、中医护理、综述讲座、中医药研究进展、百家园等栏目。在2000年国家中医药管理局主办的第2届全国中医药优秀科技期刊评选中,荣获二等奖,为临床不可多得良师益友,适宜各级中西医疗单位订阅,更适合广大中医、中西医结合临床医生个人订阅。本刊为双月刊,80页,国内统一刊号CN34-1132/R,国际标准刊号ISSN1005-7331。国内订阅:全国各地邮局,邮发代号:26-131。国内定价:4.00元/册,全年24.00元。国外发行:中国国际图书贸易总公司(北京399信箱),国外代号:BM6656,国外定价:4.00美元/册,全年24.00美元。您可以到当地邮局办理订阅,错过订阅时间者,也可以直接与本刊联系订阅。地址:合肥市大通路明光小区5幢,邮编:230011,电话:0551-4475775。