

研究简报

对虾白斑综合症病毒一个基因的序列分析

祝海燕^{1,2} 石正丽² 赵以军¹

(1. 华中师范大学生命科学院, 武汉 430078;

2. 中国科学院武汉病毒所, 武汉 430071)

ANALYSIS OF ONE GENE FROM WHITE SPOT SYNDROME VIRUS OF SHRIMP

ZHU Haiyan^{1,2}, SHI Zhengli² and ZHAO Yijun¹

(1. School of Life Sciences, Central China Normal University, Wuhan 430078;

2. Wuhan Institute of Virology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430071)

关键词: 白斑综合症病毒; 序列分析

Key words: White Spot Syndrome Virus; Sequence analysis

中图分类号: S945.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2002)05-0560-04

对虾白斑综合症病毒(White Spot Syndrome Virus, WSSV)是一种无包涵体、具囊膜、杆状的双链 DNA 病毒,其全基因组序列为 300 kb 左右,是目前已知的基因组最大的动物病毒之一^[1,2]。该病毒的基因组结构非常特殊,与已知的病毒的基因组相差很远,拥有许多该病毒特有的基因,很可能为一种新的病毒科成员,其分类地位待于进一步研究。从已经登记到 GenBank^[1]的对虾白斑综合症病毒全序列知道,该病毒存在着至少两种不同的分离株,但基因组序列非常保守。本文报道该病毒的一个基因序列的分析结果以及三个不同的白斑综合症病毒分离株的同源基因片段序列的比较结果。

1 材料与方法

1.1 毒株 斑节对虾白斑综合症病毒分离株由亚利桑那大学 Dr. Lightner 赠送(暂名为 WSSV-mon)。日本对虾白斑综合症病毒分离株的一个 *Eco*RI 序列片段发表在日本的鱼病杂志^[3]。中国对虾白斑综合症病毒的一个 *Eco*RI 序列来自 GenBank(GenBank 注册号: AB021155, 暂命名为 WSSV-chin)。

1.2 基因组文库的构建 斑节对虾白斑综合症病毒分离株的提纯,核酸提取和基因文库的构建参照文献^[4]。序列分析用 DNASTar 和 Genedoc 处理。

收稿日期: 2001-10-21; 修订日期: 2001-11-30

基金项目: 中国科学院重点项目(KY99-JE-308)资助

作者简介: 祝海燕(1977—),女,湖北省武汉市人;研究生;从事对虾病毒研究

通讯作者: 石正丽

2 结果与讨论

2.1 基因组文库的构建 用 puc18 和 pbluescript KS+ 构建了 WSSV-mon 分离株的 *Eco*RI, *Hind*III, *Bam*HI 基因组文库, 分别获得了 44 个, 19 个和 3 个片段, 总长度分别为 100 kbp, 195 kbp, 和 46.3 kbp。用 Southern blot, PCR 和序列比较构建了总长度 113 kbp 的物理图谱。

2.2 序列分析 在构建的一段 26 kbp 的片段上, 测定了 14380 bp 的序列, 该序列包含有 8 个可能的开放阅读(图 1), 该基因组片段的分析结果表明, 对虾白斑综合症病毒的基因组结构特殊(文章待发表)。该基因组片段的第 4 个阅读框编码 358 个氨基酸(图 2), 其编码蛋白的理论分子量为 41 kD。阅读框的上游含有典型的 TATA 和启动子序列, 阅读的下游含有典型的 polyA 终止序列, 并且该基因的起始密码子符合 Kozak 规律, 因此认为该阅读框是对虾白斑综合症病毒的基因。该基因的氨基酸序列富含天冬氨酸、丝氨酸和谷氨酸。和基因库(GenBank)的已知基因比较, 没有显示明显的同源性。但该序列与 WSSV-jap 和 WSSV-chin 的同源序列有微小的差异(图 3)。

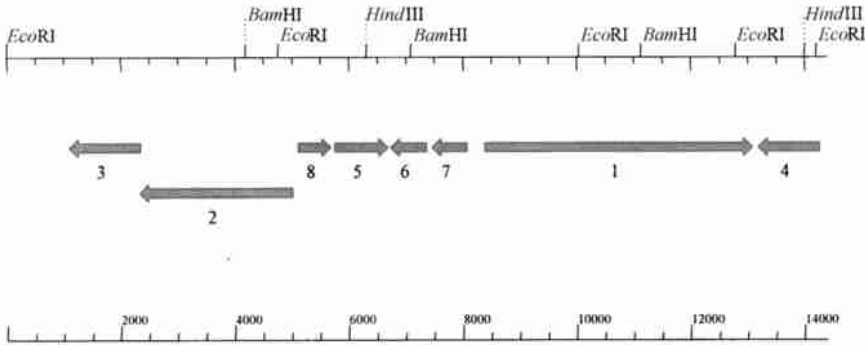


图 1 对虾白斑综合症病毒一段 14kbp 基因组序列的开放阅读框预测
Fig. 1 Predicted open reading frames of a 14 kbp fragment from WSSV genome

2.3 讨论 对虾白斑综合症病毒是最大的动物病毒之一。已知的基因组序列分析结果表明, 该基因组拥有许多独特的未知基因, 并且有的基因相当长。已经报道的功能基因的序列分析结果表明, 对虾白斑综合症病毒的基因组与已知的病毒的基因组相距很远, 该病毒只有 6% 的基因在 GenBank 中找到了同源基因, 而且基因发育树的结果也表明, 对虾白斑综合症病毒应属于一种新的病毒科的成员。^[1] 本文报道的编码 358 个氨基酸的基因同样属于该病毒的独特基因。同时也发现该基因的不同分离株同源基因序列之间有细小的差异, 这种差异既表现在核苷酸序列上, 也表现在氨基酸序列上。也可以用这种基因序列的差异设计特异的引物, 用 PCR 的方法来检测其它分离株在该基因序列上的变异, 从而从分子水平上研究不同分离株的变异及其与功能的关系。除和 Van Hulten 等报道的序列之间相差 12kbp, 这种差异表明对虾白斑综合症病毒存在着不同的分离株。但这种差异是否与病毒的宿主特异性相关, 需要进一步探讨。

AAC TTT GCA AAC AAC AAA CTC GAG TGC TAT AAT GAA CGT CAC GGA ATT GAA GAA GTT
ACT TCC TCA CAA ACG GTC AAC GCC AAG GAA GCA CTT GAG GAT ATT ACA AAA ATT AAA
ATG AAG AGA GGG GAT GAT ATT ATA GAT GTT GTG AAG AGT AAA GGA CTT TCT TTG 54
M K R G D D I I D V V K S K G L S L 18
AGG GAA TTC TCT AAG AAG GTT AGT AAG ATT GTG AGA AGG TTT AAT GAG ATC ACA 108
R E F S K K V S K I V R R F N E I T 36
AAC CAA CTC TGC AAC AAC TGC AAC GTT AAC TCT TCT AAT GGA GAT GTG GAT TTC 162
N Q L C N N C N V N S S N G D V D F 54
CAC GTC TTT ACT TCT GTG TGT GTC TAC ATC CAC AAC ATT ATT CCT GTG CTC GAA 216
H V F T S V C V Y I H N I I P V L E 72
GAT ATC TCC ATT TTT GCA GAA TTG GGT GAA GAA TTG ACC AAG CTT GTT AAG GAG 270
D I S I F A E L G E E L T K L V K E 90
TGT AGA GAC GTG GCT GGA GAG GAC AAG ACA TAT GAT GAT ATG GGC CGC AAT TAC 324
C R D V A G E D K T Y D D M G R N Y 108
GAA ATT ACT GTA AAG TAC TTT AAG CTC TTT AAT GCA CTC GTT AAA TTC TGT CAC 378
E I T V K Y F K L F N A L V K F C H 126
AGG AAT TAT AAT GTG GCA GTA ACC TCT GCC ATT AAC AGG AGA GGG TAC ATG TGC 432
R N Y N V A V T S A I N R R G Y M C 144
ATG GTG AGC AAC CTT GTC GGG TAT TAT TGT AAG CTG TCT GAT AAC GCT ATC CAG 486
M V S N L V G Y Y C K L S D N A I Q 162
TAT CAC GAA TCA CTA TGC TCT TTG CAC TCT AGC ATC TCT TAT GCA GAC TAT TAT 540
Y H E S L C S L H S S I S Y A D Y Y 180
ACG TCT CGC AAT AAC AAT TCT GAA GAT GGA GGA GGA AAC TCT TCT TCA GAA AAG 594
T S R N N N S E D G G G N S S S E K 198
AGC AAT GCA GAT GTA GCC AAG ACT ATG GCC TCT TTC TAT GAC CAG TTC GAT AAG 648
S N A D V A K T M A S F Y D Q F D K 216
AGT GAA GAC AGC AAG AAA AAT AAG AAC AAA ACT TCA AAT GAG ATC CTT ATA AAA 702
S E D S K K N K N K T S N E I L I K 234
ATG TTC CAA ATG GAT AGG GTT TTG GAT GGC ATG GAT GAT GAT GAT GAT GAA GAT 756
M F Q M D R V L D G M D D D D D E D 252
AGT GAT AGT AGT AGC AGT GAG AAT GAA GAG GAG GAG GAA GAG GAG GAA ATT GTA 810
S D S S S S E N E E E E E E E E I V 270
AAG AAA CCA GCA AAG AAG AGG AAA GTG GAA GAT GTT GAT AGC AAT AAG AAG ACA 864
K K P A K K R K V E D V D S N K K T 288
CTG CCA AAG GAA CCT GCC GTT AAG AAG GTG AAG CAG GAA GAA GAT GTG GAG ATG 918
L P K E P A V K K V K Q E E D V E M 306
GAG GAA GTG AAG GAA GCA GCA GCA GAA GAA GAA AAG AAA GAG GAA CAG GAG GCG 972
E E V K E A A A E E E K K E E Q E A 324
AAG GAG GAA GAC GCT ACT GAG TAT GAC GAC GAT ACA GAA GAG GAC GAG AAA GCA 1026
K E E D A T E Y D D D T E E D E K A 342
GTA GCA TCT GAT GAA GAT GAA GAT GAT GAA GAT TCT AAA GCT ATT TTC TAA 1077
V A S D E D E D D E D S K A I F * 359
GAT GAA GAT TCT AAA GCT ATT TTC TAA ATA TCA TGT GTA TAA AAT GTA GTA TTT TAA
AGG TAT AAA TAA ACA CAA TAT AAA GTT AAA CAT

图2 对虾白斑综合症病毒一个编码358个氨基酸的基因序列。划线部分为TATA盒和PolyA序列, 黑体显示富含天冬氨酸、丝氨酸和谷氨酸的序列

Fig. 2 Gene sequence coding 358 amino acid residues of WSSV. The typical TATA-box and PolyA sequence were underlined, amino acid residues rich in aspartic acid, serine and glutamic acid were in black letter

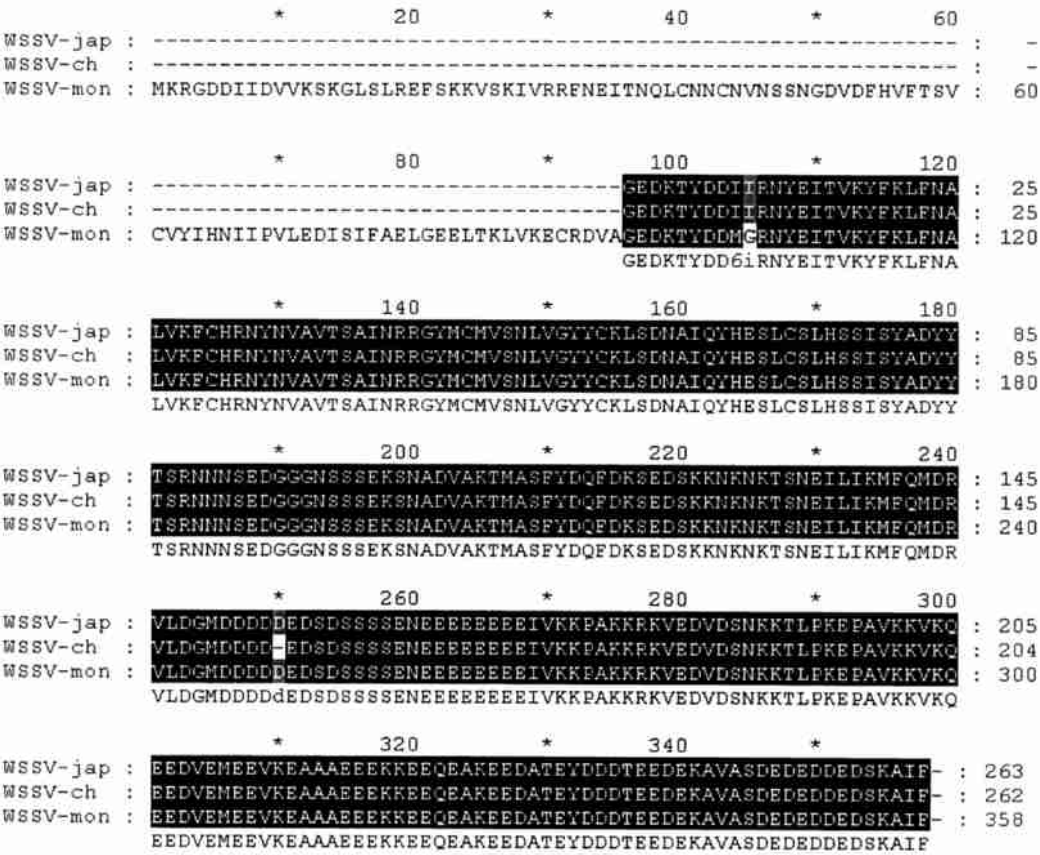


图 3 三株对虾白斑综合症病毒同源基因序列比较。(黑色表示 100%)

Fig 3 Homologous comparison among three WSSV isolates. Black repret 100 identity

参考文献:

[1] Van Hulten MC, Witteveldt J, Peters S, et al. The white spot syndrome virus dna genome sequence [J]. *Virology* 2001, **286**: 7—22

[2] Xu X, Genomic analysis of prawn white spot baculovirus. CEBN workshop on aquaculture biotechnology [R]. 2000.

[3] Kimura T, Yamano K, Nakano H, et al. Detection of penaeid rod shaped DNA virus (PRDV) by PCR [J]. *Fish Pathol*, 1996, **31**: 93—98

[4] 石正丽 黄灿华 陈棣华, 等. 中国对虾杆状病毒基因克隆及探针制备与检测[J]. *中国病毒学*, 1998. **13**(3): 263—267