

# 大豆花叶病毒3'-端基因组的克隆和序列分析

刘俊君 彭学贤 莽克强

(中国科学院微生物研究所, 北京)

大豆花叶病毒(Soybean Mosaic Virus)是马铃薯Y病毒组的重要成员之一。SMV基因组是单一正链RNA, 长约 10kb, 病毒外壳蛋白基因位于基因组的 3' 端。SMV在我国大豆主要产区普遍流行, 严重影响大豆生产, 常年导致 10—

30%的减产, 同时引起大豆种子斑驳, 降低大豆质量。我们从中国科学院遗传所试验场采集典型的花叶型病叶, 以病毒RNA为模板, 寡 dT 为引物, 反转录合成 cDNA。按照 SMV-N 株系<sup>[1]</sup>已发表的序列, 设计并合成了多聚酶连锁

```

M S G K E K E G D M D A D K D P K
ccccatg GCA GGC AAG GAG AAG GAA GGA GAC ATG GAT GCA GGT AAG GAT CCA AAG
K N T S S S K G A G T S S K D V N V
AAG AAC ACC AGC AGT AGC AAA GGG GCT GGT ACA AGC AGC AAA GAT GTA AAT GTT
G S K G K V V P R L Q K I T R K H N
GGA TCA AAA GGA AAG GTG GTT CCG CGT TTG CAG AAG ATT ACA AGA AAG ATG AAT
L P M V E G K I I L S L D H L L E Y
CTT CCA ATG GTT GAA GGA AAG ATT ATT CTT AGC TTA GAC CAC TTG CTT GAG TAC
K P N Q V D L F N T R A T R T Q F E
AAA CCT AAT CAG GTT GAT TTA TTC AAC ACT CGA GCA ACA AGA ACA CAG TTT GAA
A W Y N A V K D E Y E L D D E Q M G
GCG TGG TAC AAT GCA GTT AAG GAT GAA TAT GAG CTT GAT GAT GAA CAA ATG GGT
V V M N G F M V W C I D N G T S P D
GTG GTT ATG AAT GGT TTT ATG GTT TGG TGT ATA GAC AAT GGC ACA TCT CCA GAT
A N G V W V M M D G E E Q I E Y P L
GCC AAT GGC GTG TGG GTG ATG GAT GGA GAG GAA CAG ATT GAA TAT CCG CTG
X P I V E N A K P T L R Q I M H H F
AAA CCC ATT GTT GAA AAT GCA AAA CCA ACT TTG AGA CAA ATC ATG CAT CAT TTT
S D A A E A Y I E M R N S E S P Y M
TCA GAT GCA GCA GAA GCT TAC ATT GAG ATG AGA AAT TCT GAA AGT CCA TAT ATG
P R Y G L L R N L R D R E L A R Y A
CCT AGA TAT GGA CTA CTG AGG AAT TTG AGA GAT AGG GAG TTA GCC CGT TAT GCC
F D F Y E V T S K T P N R A R E A I
TTC GAT TTC TAT GAG GTC ACC TCC AAA ACA CCG AAT AGG GCA AGA GAG GCA ATA
A Q M K A A A L S G V N N K L F G L
GCA CAA ATG AAG GCT GCA GCT CTC TCG GGA GTT AAC AAC AAG CTG TTT GGG CTT
D G N I S T N S E N T E R H T A R D
GAT GGA AAC ATC TCG ACC AAC TCC GAA AAT ACT GAA AGG CAC ACT GCA AGA GAT
V N Q N M H S L L G M G P Q Q
GTG AAT CAA AAC ATG CAT TCT CTT TTG GGC ATG GGC CCA CAG CAG TAA aggctagg
taantcgggcccacggitaaatcatttgggtcgcctttatagtttactatagtagtagtgcacttcccttaag
tatagttgattgcatccaccfaantantacitttgtttagagtggtcaccacccttagtgggtttatatta
tagttatgaatagcaggagaaaccattgcaatgccggagcccttttcouagagtatttatcatgtatag
gsccgaggttcggcnaigtgtttgttcgaca(b)
    
```

图 1 SMV (北京株) 3' 端基因组核苷酸序列及其外壳蛋白的氨基酸顺序 (下有横线的部分是 PCR 引物的设计部位)

反应 (PCR) 的 3' 和 5' 端两个引物。通过 PCR 技术从 ss-cDNA 中扩增出了一个 1061pb 的片段, 其中包含有完整的外壳蛋白基因和整个 3' 端非编码序列。将该片段克隆于 pBluescript K S 载体的 EcoRV 位点, 并且通过 BamH I 和 Pst I 酶

切后, 做两个亚克隆, 完成其全部序列分析 (如图所示)。通过 SDS-PAGE 分析, SMV 外壳蛋白分子量为 30kDa, 由基因组序列所推导出的外

本文于 1991 年 12 月 25 日收到。

壳蛋白理论分子量为29.8kDa,两者基本一致。比较SMV(北京株)和SMV-N株的序列发现:外壳蛋白基因的核苷酸序列同源性达93.4%,其氨基酸序列的同源性高达98.9%。在外壳蛋白的265个氨基酸中,仅改变3个氨基酸。值得注意的是,马铃薯Y病毒组成员的株系差异,一般表现在外壳蛋白的N-端<sup>[2]</sup>,而SMV(北京株)和SMV-N株外壳蛋白的氨基酸差异有两个

发生在C端,分别为第257位和第264位。就其3'端非编码序列而言,其同源性达88.8%。值得一提的是SMV-N株有两个TAA终止密码,而SMV(北京株)仅有一个TAA终止密码。这些证据表明:SMV(北京株)和SMV-N株系是近缘的两个不同株系。该工作为获得抗SMV转基因大豆打下了基础。

### 参 考 文 献

- [1] A.L.Eggenbergr et al.,*J.gen.Virol*,70:1853-1860,1989.  
 [2] R.F.Allisor et al.,*Nature*,521:446-449,1986.

## Molecular Cloning and Sequence Analysis of Soybean Mosaic Virus 3'-Genome

Liu Junjun Peng Xuexian Mang Keqiang  
*(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing)*

The 3'-terminal genomic region of the Beijing isolate of soybean mosaic virus (SMV) has been cloned through technique of polymerase chain reaction (PCR). We have analyzed the nucleotide sequence of SMV 3'-genome (Beijing isolate). Comparisons of the nucleotide and deduced amino acid sequences of SMV (Beijing isolate) coat protein gene with those of SMV-N strain show 93.4% and 98.9% identity between them, respectively. Alignments of the 3'-non-coding sequence in pair with that of SMV-N strain show homology of 88.8%. These data indicate that SMV (Beijing isolate) is very close to SMV-N strain.

### Key words

Soybean mosaic virus; sequence analysis