

林锋强, 陈少莺, 王劭, 等. 番鸭呼肠孤病毒 M (M1~M3) 基因序列克隆及特性分析 [J]. 福建农业学报, 2012, 27 (9): 951~956.  
LIN F-Q, CHEN S-Y, WANG S, et al. Cloning and Characteristic Analysis of M Class Genome Segments in Muscovy Duck Reovirus MW9710 [J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2012, 27 (9): 951-956.

## 番鸭呼肠孤病毒 M (M1~M3) 基因序列克隆及特性分析

林锋强<sup>1,2</sup>, 陈少莺<sup>1,2</sup>, 王劭<sup>1,2</sup>, 陈仕龙<sup>1,2</sup>, 程晓霞<sup>1,2</sup>, 朱小丽<sup>1,2</sup>, 李兆龙<sup>1,2</sup>

(1. 福建省农业科学院畜牧兽医研究所, 福建 福州 350013;

2. 福建省畜禽疫病防治工程技术研究中心, 福建 福州 350013)

**摘要:** 参考 Genbank 番鸭呼肠孤病毒 (muscovy duck reovirus, MDRV) 中片段基因序列设计合成引物, 对 MDRV MW9710 株中片段 M 基因 RT-PCR 扩增后, 进行测序和特性分析。结果显示 MW9710 株 M1 基因全长 2 283 bp, 与 MDRV S14 株同源性为 99.9%, 与 ARV 同源性小于 74%。M1 基因仅有 1 个编码框 13~2 211 bp, 编码  $\mu$ A 蛋白, 含 732 个氨基酸。M2 基因序列全长 2 155 bp, 与 MDRV S14 株同源性为 99.9%, 与 ARV 同源性小于 69%。M2 基因仅有 1 个编码框 28~2 058 bp, 编码外壳  $\mu$ B 蛋白。M3 基因序列全长 1 997 bp, 而 ARV M3 基因全长 1 996 bp。M3 基因仅有 1 个编码框 25~1 683 bp, 编码  $\mu$ NS 蛋白。MDRV MW9710 株 M3 基因核苷酸序列与 MDRV 89330 株的同源性为 87.2%, 与 ARV 同源性小于 74%。MDRV MW9710 株 5'末端序列不保守: M1 为 5'-ACUUUUU, M2 为 5'-UCUUUUU, M3 为 5'-GCUUUUU, MDRV MW9710 株 3'末端序列 UCAUC-3'保守。

**关键词:** 番鸭呼肠孤病毒; M 基因; 克隆; 特性分析

**中图分类号:** S 852.659.4

**文献标识码:** A

### Cloning and Characteristic Analysis of M Class Genome Segments in Muscovy Duck Reovirus MW9710

LIN Feng-qiang<sup>1,2</sup>, CHEN Shao-ying<sup>1,2</sup>, WANG Shao<sup>1,2</sup>, CHEN Shi-long<sup>1,2</sup>, CHENG Xiao-xia<sup>1,2</sup>,  
ZHU Xiao-li<sup>1,2</sup>, LI Zhao-long<sup>1,2</sup>

(1. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Fujian Academy of Agriculture Sciences, Fuzhou, Fujian 350013, China; 2. Fujian Animal Diseases Control Technology Development Center, Fuzhou, Fujian 350013, China)

**Abstract:** The primers were designed and synthesized according to the reported muscovy duck reovirus (MDRV) M gene in Genbank. M gene in muscovy duck reovirus MW9710 strain were amplified by RT-PCR and went on sequencing and characteristic analysis. M1 genome segment was 2283bp in length, the nucleotide sequence had 99.9% homology with MDRV S14 strain and no more than 74.0% homology with ARV. M1 gene contained only one ORF (13bp~2211bp) that was predicted to encode  $\mu$ A protein of 732 amino acid. M2 genome segment was 2155bp in length, the nucleotide sequence had 99.9% homology with MDRV S14 strain and no more than 69.0% homology with ARV. M2 gene contained only one ORF (28~2058bp) that was predicted to encode  $\mu$ B protein of 676 amino acid. M3 genome segment was 1997bp in length and the sequence had 95.3% homology compared to MDRV 89330, but at most 74% homology with ARV. M3 gene in muscovy duck reovirus contained an ORF (25~1683bp) that encoded a protein of 552 amino acids with a molecular mass of 60.0Kd. but ARV lacked a nucleotide C in 1169bp, that made the ORF (25~1932bp) encode 635 amino acids. The 3' terminal conserved motif was UCAUC-3', but 5' terminal conserved motif was 5'-ACUUUUU, 5'-UCUUUUU, 5'-GCUUUUU in M1, M2, M3 genome segment respectively.

**Key words:** muscovy duck reovirus; M class genome; cloning; characteristic analysis

收稿日期: 2012-07-16 初稿; 2012-08-16 修改稿

作者简介: 林锋强 (1976-), 男, 副研究员, 硕士, 主要从事畜禽传染病和分子生物研究 (E-mail: lfq1976@163.com)

通讯作者: 陈少莺 (1962-), 女, 研究员, 主要从事动物传染病病原与防治研究 (E-mail: chensy58@163.com)

基金项目: 福建省科技厅重大专项 (2006NZ003-2); 福建省科技计划项目——省属公益类科研院所基本科研专项 (2011R1025-7)

番鸭呼肠孤病毒病主要发生于 40 日龄以内的番鸭, 临床症状主要表现软脚, 剖检以肝脏大量针尖状小白点以及脾脏肿大且大量小白点为主要病理变化的高发病率(30%~90%)和高死亡率(60%~80%)的传染病<sup>[1~2]</sup>。该病病原是番鸭呼肠孤病毒(MDRV)。在电镜下病毒呈球形、正二十面体、立体对称、无囊膜, 有双层衣壳, 直径为 60~73 nm<sup>[3~4]</sup>。病毒核酸型为 dsRNA, 病毒核酸具有禽呼肠孤病毒的特征: 有 10 条带, 按迁移率大小分成 3 组: L 基因(L1~L3)、M 基因(M1~M3)和 S 基因(S1~S4); 共计编码 12 个蛋白, 即 10 个结构蛋白和 2 个非结构蛋白<sup>[2~3]</sup>。MDRV 小片段 S1~S4 基因序列分析已见报道<sup>[5]</sup>, 而对 M 基因研究在国内未见报道。本研究通过对 MDRV MW9710 株 M 基因序列测定及其结构特点分析, 为分子流行病学研究、基因编码蛋白的结构和功能研究提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 病毒

MDRV MW9710 株由福建省畜禽疫病防治工程技术研究中心分离、鉴定并保存<sup>[2]</sup>。

### 1.2 菌种和质粒

*E. coli* 感受态 DH5 $\alpha$ , pMD-18T 载体购自大连宝生物工程有限公司。

### 1.3 试剂及其他

TRIZOL 试剂购自 invitrogen 公司, RT-PCR 试剂盒购自 Fermentus 公司, 质粒提取试剂盒、胶回收试剂盒、连接试剂盒和 DL 2000 marker 购于 Omega 公司; 胰蛋白胨、酵母提取物, 琼脂糖购于 OXOID 公司。

### 1.4 引物设计和合成

根据已发表的 MDRV 的 M 基因序列, 设计引物进行 RT-PCR 扩增(见表 1), 引物由上海生物工程公司合成。

### 1.5 病毒 RNA 提取

MDRV MW9710 株用 TRIZOL 试剂提取病毒 RNA, 溶解于无 RNase 水中, -70°C 冻存。

### 1.6 RT-PCR 扩增

按照 RT-PCR 试剂盒说明进行扩增, 取 PCR 产物在 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定。

### 1.7 基因克隆和鉴定

PCR 产物回收纯化后, 与 pMD-18T 载体连接, 转化到 *E. coli* 感受态 DH5, 培养后挑取菌落进行扩大培养, 提取质粒后用限制性内切酶 Hind III 和 Bam HI 进行酶切鉴定, 阳性重组质粒送广州英韦创津生物科技有限公司进行序列测定。

### 1.8 基因序列比较分析

应用 DNASTAR 软件对 MDRV M 基因的核苷酸序列和推导的氨基酸序列进行分析和比较。

表 1 RT-PCR 扩增 M 基因所用引物序列和扩增长度

Table 1 The sequence and length of primers that were used to amplify M gene by RT-PCR

扩增基因	引物名称	引物位置	引物序列	扩增长度 /bp
M1 基因	M11	1~22	5'-ACTTTCTCGACATGGCCTATC-3'	878
	M12	857~878	5'-TGAATGATGGAGGTATTAATAC-3'	
	M13	631~651	5'-TCTGCTCGTGAGCGTTGGAAC-3'	802
	M14	1410~1432	5'-CAGTTGAAGTAGCTAACTTATC-3'	
	M15	1282~1302	5'-ATCTGTGGCACTCGTGTGATG-3'	1002
	M16	2259~2283	5'-AATGAATATCTCAAGACGGCTAAC-3'	
M2 基因	M21	1~22	5'-TCTTTTGAAGCTCGGACGCAC-3'	871
	M22	859~871	5'-GAAGTGGACTTATCGTAGAGTG-3'	
	M23	821~838	5'-TCGTCGCTTCAACAACTG-3'	1335
	M24	2138~2155	5'-GATGAATAATGGCCGGAC-3'	
M3 基因	M31	1~24	5'-GCTTTTGAGTCCTAGCGTGGATC-3'	1997
	M32	1975~1997	5'-GATGAGTAACCGAGTCCGCCGTG-3'	

## 2 结果与分析

### 2.1 MDRV MW9710 株 M1 基因特性分析

MDRV MW9710 株 M1 基因核苷酸序列 (Genbank 登入号: GU480805) 全长 2 283 bp, 其与 MDRV S14 株同源性为 99.9%, 与 ARV 同源性小于 74%。M1 基因仅有 1 个编码框 13~2 211 bp, 编码  $\mu$ A 蛋白, 含 732 个氨基酸 (图 1)。 $\mu$ A

蛋白分子量为 81.84 kD, 等电点为 8.39; 其氨基酸序列与 ARV 同源性 74%。富含亮氨酸 (12.8%)、丝氨酸 (10.5%)、苏氨酸 (7.7%)、精氨酸 (7.5%)。101~110 碱性氨基酸残基序列与病毒在细胞核的定位信号有关; 在 591~593 为潜在信号肽断裂位点, 两端为 2 个疏水区 (576~592 和 593~600); 残基 458~464 是 DNA 腺苷酸甲基化酶特异性位点。

MDRV MW9710	1	MAYLATPVLGWSRITALDRTIDALTSKPRALHDVYTVDPSLTLRQIELISSGTSMDDIARGLLHRDWR	70
MDRV S14	1	-----	70
ARV S1133	1	-----I-L---ID-Q---I-T-----	70
MDRV MW9710	71	RQTVVTLPSRRRALDYLLSNPSACPDGLDRSRLKSFKKRPNDFRISDFFSPLITESTAIGTYSRWLNAH	140
MDRV S14	71	-----	140
ARV S1133	71	-STII-----S-----V-----G-Q-----VQ-----D-S-A-----	140
MDRV MW9710	141	PVIFSVTHKIVGARLRLFGPAKLYTLPSPDVLRELSILKSTDRLVTPTSRVYVSCFPSASTSNCVLSARE	210
MDRV S14	141	-----	210
ARV S1133	141	-IVY-T-Y-VA--V-----I-----A-----F-V-A-G-----T-----	210
MDRV MW9710	211	RWNAPDVHPVVKAIQLAYDHQYRVTARYLSDPLASALLGTQSVRSLKVPPIEARAARSVGVRVQAMTPP	280
MDRV S14	211	-----	280
ARV S1133	211	-----I-----NR-KT-----Q-V-----I-----	280
MDRV MW9710	281	RGINTSIIQVIDLRLQCRHSLIPVERFPVTLVGLPSCLLQYLELTLSDSWTPIRDSTGMFEMWFMVTL	350
MDRV S14	281	-----	350
ARV S1133	281	-V-K-----T-----L-FI-----H-D-----D-V-----H-----I-----	350
MDRV MW9710	351	TCDKIIDGRGNNAVFLTPGSTATSSINHVQLVSTSSPRQSLASNASGRIDSVGLCMPKGSFKSTMKFLT	420
MDRV S14	351	-----	420
ARV S1133	351	-L-----S-NAL-V-Y---T-V-----A-----W-----I-----	420
MDRV MW9710	421	GLEICGTRVMSDVVMDSDVGDSLNPFTETALYDELMSLDPPFDLDDKLASSDLVNQSYVASHMYPTFL	490
MDRV S14	421	-----	490
ARV S1133	421	-----A-D-----A-LA-----V-----P-----D-E-----	490
MDRV MW9710	491	RLVNELLTPRASELYSEHSAEFRSLTYAHADSEFLNACWTARLMRCFINYYEEQNILLRPGRVGGVLFQV	560
MDRV S14	491	-----	560
ARV S1133	491	-K-----R-V-----H-----	560
MDRV MW9710	561	ALSRCYKMFATSTPSVPLSLFLKSLFVPIEAPLLAPLTPNESSRVLAWYIPDSYWTIENGWCMEKHRH	630
MDRV S14	561	-----	630
ARV S1133	561	-----AS-----S-----S-----S-----SD-----T-DT-----	630
MDRV MW9710	631	VTFSFIRGLPADLSVLDLFDWSRFRATIGVDTILLELTGIRAVRVSVFWTSQKPTVDVFDNRALFTPQ	700
MDRV S14	631	-----	700
ARV S1133	631	-----N-----S-V-----AD-----K-----H-----	700
MDRV MW9710	701	HYHLSLHCRCALGRIFTAKNMKLHLSTVGDE S	732
MDRV S14	701	-----	732
ARV S1133	701	-----N-----P-----P-F-----Y-----G-H-----	732

图 1 MDRV MW9710 株  $\mu$ A 蛋白氨基酸序列同源性分析

Fig. 1 The homology analysis of  $\mu$ A protein in MDRV MW9710 strain

### 2.2 MDRV MW9710 株 M2 基因特性分析

MDRV MW9710 株 M2 基因核苷酸序列, 全长 2 155 bp, 与 MDRV S14 株同源性为 99.9%, 与 ARV 同源性小于 69%。M2 基因仅有 1 个编码

框 28~2 058 bp, 编码外壳  $\mu$ B 蛋白。该蛋白分子量为 73.26 kD, 等电点为 5.56, 含有 3 个  $\alpha$  螺旋结构域, 有 9 个亮氨酸基序; 裂解位点主要发生在 Asn42 和 Pro43 两个氨基酸 (所有 MRV、ARV、

水生呼肠孤病毒中都发生了这种 Asn-Pro 氨基酸对(图 2), 可能在病毒复制过程中起重要作用。该蛋白含量大约是整个病毒总蛋白的一半, 主要维

持病毒的稳定性以及在病毒进入感染过程中特殊作用。MDRV MW9710 株  $\mu$ B 蛋白氨基酸序列与 ARV 同源性小于 76%。

MDRV MW9710	1	MGNATSVVQNFNITGDGNQFPSAETTSSAVPSLQLSPGVLPNGKAWTLIDPILSTDDPASLRLMTRD	70
MDRV S14	1	-----	70
ARV S1133	1	-----Q-H-A-----S-N-L-----V-----SS-NAS-S-----SA-	70
MDRV MW9710	71	VPSSLTSTTAAGTGFLPNNDGMYALSPVETLTVMTDHAISQFEKLQMACELDRS YLDARGVSPESVNINHNY	140
MDRV S14	71	-----	140
ARV S1133	71	LSTLSQ-AIGNS-----TS-----VTAK-----S-I-E-----D-----D-----	140
MDRV MW9710	141	LVHVRCFVGVSARQASRNYYCDDVPVISKSRTMFMITSVQNVLQVLGPWDKDVRELLTFLPSSITAGRLNC	210
MDRV S14	141	-----	210
ARV S1133	141	I-Y-D-----AS-FRQH-----T-----Q-----A-----ER-----P-I-T-----KIT-	210
MDRV MW9710	211	DMRSVVKFIDDNLSDSLCLRYPEAAASSVACRNGGIRWRSRDSDDAPSLAVNDVVAITGGLANITPLY	280
MDRV S14	211	-----	280
ARV S1133	211	-----T-----Q-----T-----M-----C-----AA-----R-----KTPET-E-----T-----A-----M-----A-----A	280
MDRV MW9710	281	DKSSSGEESMRLIGDAGVDIACSRAPISASVWSRTVEPRDYNIRILRVEEALWLRECQTMTGFDVEYQLP	350
MDRV S14	281	-----	350
ARV S1133	281	E-N-----VN-----V-----S-----S-----AT-----Q-T	350
MDRV MW9710	351	DGTTKKHFWIDRGTKVVNLEQTGSMMFSVNVTGKDYKKGSFDPNGKHLVLLMQSKIPFESWTSHEQIMG	420
MDRV S14	351	-----	420
ARV S1133	351	-QA-H-----LQK-SV-I-----D-----I-----A-----T-----N-----DNRK-----V-----P-----VAS-----T	420
MDRV MW9710	421	IAQVADVPPIYAADSSTPNRKIIGETSLSYLFERETVITANTEINTYLLCTWQLDSKQSDATNAWFDAWDA	490
MDRV S14	421	-----	490
ARV S1133	421	-----E-----TVH-----Q-----SD-----D-----NDA-----V-----P-----G	490
MDRV MW9710	491	ITITLPLTSGITVTKGASVSSVPTDLVGAYTPEAMAAALPNDAGLILAKKAALIADAIIKKEDDSVIDES	560
MDRV S14	491	-----	560
ARV S1133	491	-----T-----D-----V-----S-----SL-----N-----TKL-----V	560
MDRV MW9710	561	SPFSVPIQGVLTVQQLETTGVRGVRVIHPPSFLKKLASRAMHMFLGDPASILKQATPVLSDPAVWTGFIQ	630
MDRV S14	561	-----	630
ARV S1133	561	-----T-----A-----D-----V-----T-----A-----ALQ-----I-----RI-----L-----R-----I-----R-----D-----V	630
MDRV MW9710	631	GVRDGIRSKSLAGIRSVYSHVTAQQSVQSWKQGFLSKVQTFKPS	676
MDRV S14	631	-----	676
ARV S1133	631	-----T-----V-----NN-----T-----T-----T-----I-----L-----	676

图 2 MDRV MW9710 株  $\mu$ B 蛋白氨基酸序列同源性分析  
Fig. 2 The homology analysis of  $\mu$ B protein in MDRV MW9710 strain

### 2.3 M3 基因核苷酸序列分析

MDRV MW9710 株 M3 基因序列全长 1 997 bp, 而 ARV M3 基因全长 1 996 bp。MDRV MW9710 株 M3 基因核苷酸序列与 MDRV 89330 株的同源性为 87.2%, 与 ARV 同源性小于 74%。MDRV MW9710 株 M3 基因保守碱基序列与 MDRV 89330 株和 ARV 相同, 5' 末端序列 GCTTTTT, 3' 末端序列 TCATC, 而且 5' 末端非

编码区 24 bp, GC 含量约为 52.5%。M3 基因仅有 1 个编码框, 编码  $\mu$ NS 蛋白 (25~1 683 bp), 该蛋白分子量为 61.27 kD, 等电点为 7.08;  $\mu$ NS 蛋白氨基酸序列与 MDRV 89330 株的同源性为 95.3%, 与 ARV 同源性小于 82% (图 3)。由于 ARV 在 1 169 位为碱基 C, 而 MDRV 缺失了这个碱基, 导致编码框发生变化, ARV  $\mu$ NS 蛋白全长 635 个氨基酸, 而 MDRV 仅有 552 个氨基酸。

DRV MW9710	1	MSSTKKGDKPMSLSMSHDGSSIRSAASQFLSVPLSHSTPIPPQRKTVLLKFMLGEDLVTVQGTLAPFDDYWFDNQPLLSQAVELLASEDR	90
DRV 89330	1	.....	90
ARV 918	1	..... *D.....E..Y.....	90
DRV MW9710	91	LRGFEHYBKFLKKGHQIPEIMNRLRLFFSDVLKVVKMEADNLPSLAGYLMAGTMDAVSTGHLPAGASVDPDKVVAKQQTISKSPGRLOEE	180
DRV 89330	91	..S..H.....T.....P.....V.....	180
ARV 918	91	..Q..H.....IS.....N.....A.....AV+E+D+C+VT.....A.....	180
DRV MW9710	181	EYNVIRSRFLTHEVFDLSSDLPGVQPFLOMYATIPRADAAGWCASRRKGLLVHAPGERFEDLTIFATNTALPNELILTAGDVTVARFDL	270
DRV 89330	181	.....V.....T.....	270
ARV 918	181	..T.....T.....M.....V.....ST.....VY.....D+QYS.....T+RLTAAR+Q+V+E+V+C+.....	270
DRV MW9710	271	LDVSGIAPQHHASVQEDRTVGTSRYSNITANDHPLVFFTPSAIRWAIDHSCTDSLSPRNIRVCGVIDPLVTRWTRGQDAAILMDOKL	360
DRV 89330	271	.....E.....S.....	360
ARV 918	271	M+I+D+S+*E+SL+*K+*V+*S+N+L+*A+*T+*E+*.....	360
DRV MW9710	361	PSVGRARMALRTLTLARRSPLASPMIGALKHSGGQLMEHYRCDAANRYGSPTVPSHPPPCDKPELREQITRLSAQPALTPQPLAGPVA	450
DRV 89330	361	.....M.....A.....A.....A.....S.....S.....A.....	450
ARV 918	361	**A+*L+*MT+*LL+*Q+*V+*S+*K+*SA+TPK+DSS+*AV	450
DRV MW9710	451	LLSKISELQLRNRELSLKLADQPAREDHLLAYLNEHVGVNAKDHEDOLLARCNSSDSISAVISQRAKNDRFEARLRQEANABEPRV	540
DRV 89330	451	.....G+VN.....	540
ARV 918	451	***VA+*V+*G+*V+*VAS+LG+L+E+T+*H+*G+*.....	540
DRV MW9710	541	TALNQELTQCAR	552
DRV 89330	541	D+*SP+.....	552
ARV 918	541	E+*AKA+*EQQDMMTQSLQYLNERDEI+HEVDEIKRELAALRSA+VRLNA+NR+LSRATRVGDFVPSDVP+PPGLPG+SKPS+EE+VDDL	635

图 3 MDRV MW9710 株  $\mu$ NS 蛋白氨基酸序列同源性分析Fig. 3 The homology analysis of  $\mu$ NS protein in MDRV MW9710 strain

### 3 讨 论

MDRV 中片段 M 基因序列共同特点为 3' 末端保守序列为 UCAUC3, 与 ARV 一致, 这个保守序列在病毒复制过程中起重要作用。MDRV 除了 M1 基因长度与 ARV 一致, M2 基因序列长度比 ARV 少 3 个核苷酸, M3 基因比 ARV 多 1 个核苷酸。通过 M 基因编码蛋白比较分析可知 MDRV  $\mu$ B 蛋白与 ARV 的同源性最低, 可能是  $\mu$ B 蛋白位于外衣壳上, 在病毒进化过程中受到了宿主免疫应答的选择性压力, 导致了变异最大。

MDRV M 基因 3 个片段编码的  $\mu$  蛋白在病毒结构和复制过程中发挥不同的作用。呼肠孤病毒基因组 M3 片段编码的  $\mu$ NS 蛋白不构成病毒结构蛋白组分, 仅在病毒复制时出现<sup>[6]</sup>。 $\mu$ NS 蛋白能够结合细胞内蛋白,  $\mu$ NS 蛋白或寡聚体与结合细胞内蛋白作为的桥梁, 形成包涵体基质;  $\mu$ NS 蛋白也能与非结构蛋白  $\sigma$ NS、RNA 依赖性 RNA 聚合酶  $\lambda$ 3、微管结合核心蛋白  $\lambda$ 1、 $\lambda$ 2、 $\sigma$ 2 结合; 而且

$\mu$ NS 蛋白能够结合单链 RNA, 在包涵体中富集病毒负链 RNA。因此  $\mu$ NS 蛋白主要功能就是构建包涵体, 并将病毒复制所需成分聚集, 进行病毒组装和复制<sup>[7-8]</sup>。

M1 基因编码的  $\mu$ A 蛋白为病毒复制中的一种调节蛋白, 在病毒颗粒中含量很低 (20 拷贝), 在病毒转录与复制过程中协同  $\lambda$ 1 共同决定 NPT 酶活性<sup>[9]</sup>。

M2 基因编码的  $\mu$ B 蛋白是病毒外衣壳蛋白, 具有介导病毒粒子进入宿主细胞质的功能。病毒粒子感染细胞时,  $\mu$ B 蛋白以  $\mu$ 1N (4 kD) 和  $\mu$ 1C (72 kD) 片段形式存在,  $\mu$ B 片段的裂解释放出  $\mu$ 1N 豆蔻酰基的位点, 这一残基是病毒穿过细胞膜屏障的必需部分<sup>[10]</sup>。 $\mu$ B 蛋白多肽链可折叠成 4 种不同的结构域保证病毒膜穿透<sup>[11]</sup>。

虽然对 MDRV M 基因序列和蛋白功能有了一定程度的了解, 但仍无法明确病毒感染时病毒蛋白的功能以及病毒蛋白各组分之间的相互关系, 以及病毒转录复制与翻译调控机理。因此获得病毒的全

基因组序列, 对 MDRV 基因和蛋白结构更多的了解, 将逐一阐明病毒侵染与复制的大分子动态过程。

#### 参考文献:

- [1] 郑腾, 曹治云, 张志灯. 我国番鸭呼肠孤病毒病的研究现状 [J]. 畜牧与兽医, 2005, 37 (8): 52—54.
- [2] 胡奇林, 陈少莺, 林锋强, 等. 番鸭呼肠孤病毒的鉴定 [J]. 病毒学报, 2004, 20 (3): 241—248.
- [3] KUNTZ-SIMON G, BASDLKLANCHARD P, CHERBONNEL M, et al. Bachulovirus-expressed muscovy duck reovirus  $\sigma$ C protein induces serum neutralizing antibodies and protection against challenge [J]. Vaccine, 2002, 20: 3113—3122.
- [4] KUNTZ-SIMON G, LE GALL-RECULE G, DE BOISSESON C, et al. Muscovy duck reovirus sigma C protein is atypically encoded by the smallest genome segment [J]. J Gen Virol, 2002, 83 (5): 1189—1200.
- [5] 耿宏伟, 郭东春, 刘明, 等. 番鸭呼肠孤病毒 S 基因组的克隆与序列分析 [J]. 中国兽医学报, 2007, 37 (4): 305—311.
- [6] MICHELLE M B, TIMOTHY R P, TERENCE S D. Reovirus  $\mu$ NS and  $\sigma$ NS Proteins Form Cytoplasmic Inclusion Structures in the Absence of Viral Infection [J]. Journal of virology, 2003, 77 (10): 5948—5963.
- [7] TERESA J B, JONGHWA K, CATHY L M, et al. Reovirus Nonstructural Protein  $\mu$ NS Recruits Viral Core Surface Proteins and Entering Core Particles to Factory-Like Inclusions [J]. Journal of virology, 2004, 78 (4): 1882—1892.
- [8] TERESA J B, AIMEEM M M, VICTORIA E C, et al. Reovirus Nonstructural Protein mNS Binds to Core Particles but Does Not Inhibit Their Transcription and Capping Activities [J]. Journal of virology, 2000, 74 (12): 5516—5524.
- [9] 宋宇, 周洁, 高诚, 等. 哺乳动物呼肠孤病毒外壳蛋白和受体研究进展 [J]. 实验动物与比较医学, 2010, 30 (1): 68—72.
- [10] 方勤, 丁清泉. 呼肠孤病毒内源性转录的结构基础 [J]. 中国病毒学, 2004, 19 (5): 535—539.
- [11] LIEMANN S, CHANDRAN K, BAKER T S, et al. Structure of the reovirus membrane-penetration protein,  $\mu$ l, in a complex with is protector protein, Sigma 3 [J]. Cell, 2002, 108 (2): 283—295.

(责任编辑: 黄爱萍)