维普资讯 http://www.cqvip.com

6776(7)

309—316

第10卷 第4期 中国病毒学 Vol. 10 No. 4
1995年12月 VIROLOGICA SINICA Dec. 1995

编码人疱疹病毒-6型核糖核苷酸还原酶和P41蛋白基因的克隆和序列测定*

钱利生
（上海医科大学微生物学教研组、上海 200032）
山西弘一
（日本大阪大学医学部微生物学教室、日本）

R373.9

A 提要 本文报道人疱疹病毒-6型(HHV-6)pSTY28 DNA 片段的序列测定。应用分子克隆、缺损突变体(Deletion mutant)制备和序列测定等技术，完成了3.9kb HHV-6 pSTY28 DNA 片段的全序列测定。经 DNASIS 核酸蛋白软件分析，该片段含有两个开读框架(ORF)核糖核苷酸还原酶(RIR) ORF 有2414个核苷酸，可编码805个氨基酸；P41蛋白由1100个核苷酸组成。与其他疱疹病毒作氨基酸同源性比较，HHV-6 RiR 与人巨细胞病毒(HCMV) 有高度同源性，最适记分(Optimized score)达459。实验结果支持 Esftathiou 提出的论点，HHV-6属于β-疱疹病毒。

关键词 HHV-6，核糖核苷酸还原酶，P41蛋白，基因克隆，序列测定

人疱疹病毒6，

人疱疹病毒-6型(HHV-6)为 T 细胞嗜性病毒，由 Salahuddin 等[1]从淋巴细胞增生性疾病和 AIDS 病人中首先分离成功，1988年 Yamanishi[2]等证实为幼儿急疹病原体。对该病毒作超微结构研究显示，HHV-6颗粒约为200 nm 大小伴有包膜的病毒，具有162个子粒组成的立体对称核衣壳。Martin 等报道[3]HHV-6为 dsDNA，长约170 kb。部分 DNA 序列分析显示，该病毒与人巨细胞病毒(HCMV)密切相关。本研究应用缺损突变体，对编码 HHV-6核糖核苷酸还原酶(RiR)和 P41蛋白的 DNA 作序列测定，并用 DNASIS 系统对该段基因与其他疱疹病毒作同源性分析。

材料与方法

1 HHV-6 DNA 基因库的组建 HHV-6 HST 株(日本株)DNA 用 Pst I内切酶消化，与载体 pUC19连结后转化大肠杆菌(E. coli)JM109株，用同位素标记的 HHV-6DNA 探针筛选 DNA-质粒重组体，获是系列 DNA 克隆[4]。选择 pSTY28-克隆作 DNA 序列测定。

2 缺损突变体的制备[5] 30 μg HHV-6 pSTY28 DNA-质粒重组体，经核酸外切酶Ⅲ消化，用绿豆芽(Mung bean)核酸酶(购自日本 Nippongene 株式社)切割形成平头末端，通过 T4 DNA 连接酶(由日本 Takara 株式社提供)连接后转化 E. coli JM109，用琼脂糖电泳筛选，按 DNA 电泳位置获得系列缺损突变体，根据 DNA 片段的互相衔接，选择缺损突变体 B7、D36等共13株菌株，采用 裂解法[6]提取缺损突变体 DNA 用作序列测定。

本文于1995年1月9日收到、4月20日修回
* 在日本大阪大学进修基期间进行该项目研究

维普资讯 http://www.cqvip.com

3 **聚合酶链反应(PCR)**[5] 对未能用缺损突变体连接的DNA区段，根据已测出的核酸序列，设计2段寡核苷酸作为引物，以HHV-6 DNA为模板，用PCR扩增后作DNA序列测定。

4 **DNA序列测定** 用双脱氧链末端法[7]。缺损突变体DNA经荧光染料标记的引物延伸(测序试剂盒由日本Applied Biosystems公司提供)，用373A DNA测序系统(ABI系统，日本)作DNA序列测定，荧光染料标记的引物序列与pUC19 3′端序列一致，该引物序列为5′TGTAAAACGACGGCCAGT 3′。

5 **核酸序列的计算机分析** 使用Hitachi公司的核酸蛋白分析软件DNASIS系统，在IBM-PC微机上进行测序结果分析，并与其他疱疹病毒作同源性比较。

结 果

1 缺损突变体和特异性PCR引物

为作DNA序列测定，用外切酶Ⅲ消化的pSTY28-质粒重组体DNA片段，经自身连接后转化*E. coli* JM109，成功地获得13株缺损突变体(图1，B7—B3)。在pSTY28 DNA片段的0.92—1.22和1.794—2.094 kb区段，分别设计合成特异性引物A和B。引物A序列为3′CTCGACAAAATATTTGGAGTTT 5′；引物B序列为3′GTCACTTCGGTTTATTCGTCAG 5′。各突变体DNA和引物扩增的DNA区段相互衔接，复盖全部pSTY28 DNA片段(图1)。

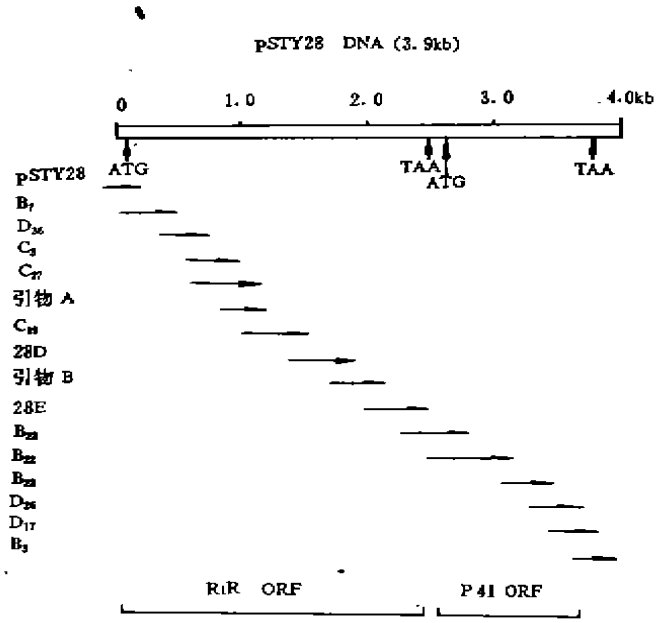

图1 pSTY28 DNA的缺损突变体
→表示缺损突变体，→表示HHV—6 DNA的特异性引物
RiR ORF从107 bp延伸到2521 bp；P41从2637至3737 bp
Fig. 1 Deletion mutants of pSTY28 DNA. →Deletion mutants
→Specific primer of HHV-6 DNA. RiR ORF extending from 107 bp to 2521 bp; P41 ORF from 2637 bp to 3737 bp

2 HHV-6 pSTY28 DNA序列

图2核苷酸序列显示pSTY28 DNA片段共有3971个核苷酸。用DNASIS系统作分析，发现含有2个开读框架(ORF)，一为RiR ORF，推测性起始密码ATG位于核苷酸107—109，终止密码TAA位于核苷酸2519—2521，全长为2414个核苷酸，可编码805个氨基酸的蛋白质，估

维普资讯 http://www.cqvip.com

计该蛋白约为93.34×10³道尔顿；二为P41 ORF，起始密码ATG位于核苷酸2637—2639，终止密码TGA位于核苷酸3735—3737。

3　HHV-6 RiR　与其他疱疹病毒RiR氨基酸顺序的同源性比较

DNASIS系统分析结果见表1，HHV-6 RiR更接近HCMV RiR，两者之间氨基酸同源性的最适记分(Optimized score)为459，起始记分(Initial score)为159。与*E. coli* JM109 RiR作比较，未发现同源性，起始记分小于50。

表1　HHV-6 RiR与其它疱疹病毒RiR氨基酸序列的同源性比较

Table1　Amino acid homology between HHV-6 RiR and other herpesvirus

分组	病毒	HHV-6	HCMV	HSV-1	EBV	Vacc.	*E. coli*
β	HHV-6		22.4	24.0	26.8	18.7	2.08
β	HCMV	459(156)		32.7	23.0	19.2	21.6
α	HSV-1	275(113)	237(72)		38.0	30.0	23.4
γ	EBV	169(86)	157(94)	506(141)		29.7	21.2
α	Vacc.	186(75)	175(75)	710(191)	328(191)		27.1
	E. Coli	150(33)	171(75)	117(34)	50(34)	666(135)	

* 上半部为氨基酸配对百分值；下半部为最适记分；括号内为起始记分

Upper part for precent amino acid match; Lower part for optimized score; Initial score in the brachet

讨　论

HHV-6 HST株为幼儿急疹病原体[2]，理化特性研究表明，该病毒类似疱疹病毒，部分核酸进行分子生物学研究，发现与HCMV密切相关[8,11]。Nicholas[16]等分析HHV-6 U1102株38.5 kb的核苷酸序列，发现其中的P2LF2和EPLF1与HCMV UL38和UL44 DNA片段同源，分别编码RiR和P41蛋白。对HST株DNA内切酶图谱分析，发现pSTY28 DNA片段位于HHV-6 U1102株的P2LF2和EPLF1区段，由此选择pSTY28作测序研究，成功地完成了该片段DNA全序列测定。图2显示pSTY28片段的DNA序列，全长为3971个核苷酸，包含两个ORF，其中RiR ORF的DAN序列测定在国内外尚未报道。

HHV-6对淋巴细胞有嗜性，在体外培养时主要感染T淋巴细胞，HCMV的感染则以纤维母细胞为主，因而曾将该病毒列为γ-疱疹病毒[9,10]。但分子生物学研究及DNA序列分析表明，该病毒与HCMV类似，应归属于β-疱疹病毒[11,12]。我们利用DNASIS系统，分析HHV-6 RiR，并与其他疱疹病毒作同源性比较，发现HHV-6 RiR氨基酸与HCMV有较高同源性，最适记分达459。分子生物学分析发现，在*E. coli*、HSV-2、EBV和鼠细胞RiR中，都含有1个由2个胱氨酸之间插有2个其他氨基酸所组成的硫氧化还原蛋白活化部位[13]，但在HCMV和HHV-6 RiR中则未见有该特殊结构。上述实验结果支持Esftathiou提出的论点[14]，HHV-6隶属于β-疱疹病毒。RiR能催化4种核苷酸还原为脱氧核糖核苷酸，在病毒复制中起重要作用。Cohen[17]等研究单纯疱疹病毒(HSV)，发现用模仿RiR C端的9个氨基酸合成的9肽，能抑制病毒的增殖。Swain[13]等亦证明，RiR基因缺损，可使HSV-2丧失致病力，均提示RiR基因与病毒的致病作

维普资讯 http://www.cqvip.com


```
5' CTGCAGTATCGTGGAATTACCCTGCCGGTGATAAAGCTAGAGAACATATTCGTTGACCTT    60
   TCTGAGAAAAAAGTGTTCGTATAGCTTCTGAGCCTTCTGTCTGAAGATGAAGAGAAAGGA   120
5                                                   M  K  R  K  E
   GCGTCGTATTAATAAAGATTTTGGCTACAACAGAAAATGCGTTTGTCATTACGAAGCGTC   180
25  R  R  I  N  K  D  F  G  Y  N  R  X  C  V  C  H  Y  E  A  S
   GCAAAAACGTTTTTGTTATTCTCAATATTCATGCGCTTCTGTTTTGTATGAACGGGTTCG   240
45  Q  K  R  F  C  Y  S  Q  Y  S  C  A  S  V  L  Y  E  R  V  R
   TGACATCGCTAAG TAATGGATCGGCTCGACTCAGGTTTAGATGCTTGGTGTTTGCGGGA   300
65  D  I  A  X  :  M  D     L  D  S  G  L  D  A  W  C  L  R  D
   TGCCATAATCTCTGTTTTGAGAGCTACACATTGCGTTCCACGAGTGGATCGAATGCTAGG   360
85  A  I  I  S  V  L  R  A  T  H  C  V  P  R  V  D  R  M  L  G
   AAGATGGTATCTAAAGACGAGTATTTTTTACGACTTTTGTCCGGACGATTTAATTTTATC   420
105 R  W  Y  L  K  T  S  I  F  Y  D  F  C  P  D  D  L  I  L  S
   ATGCCCTAATGTGATTATGCCAAATGTATTGAACTTTGTAAAGAAGTATCGAGATTTTAT   480
125 C  P  N  V  I  M  P  N  Y  L  N  F  V  K  K  Y  R  D  F  I
   TCGTAGCGTCCTCTATAAAGTAAGTGTGAGTTGGAAAAACCAATATGCCGGGAGTTTT    540
145 R  S  V  L  Y  K  V  S  V  S  W  X  N  Q  Y  M  P  G  V  L
   GGGTGCATCTCGCTTTTTAGAGGAGATTTCCAATTCTTTAAACGGTGTCGAAGAGAGTAT   600
165 G  A  S  R  F  L  E  E  I  S  N  S  L  N  G  V  E  E  S  I
   TCCATGCATCTATCTTCGTATGTGTGCTACTTTGACAGAGATCGTGTTAAGAAATGGTTA   660
185 P  C  I  Y  L  R  M  C  A  T  L  T  E  I  V  L  R  N  G  Y
   TCTGCGGGAGATATATCAGGAGAATCCTTACGTGATATTCGAAGAATTGGCGTTTTCCCT   720
205 L  R  E  I  Y  Q  E  N  P  Y  V  I  F  E  E  L  A  F  S  L
   TTTTACTCAAAAATGGGTTTTACCGTTTTCTTGTATGACAAATTTGGGCCTCGTGGAAAA   780
225 F  T  Q  X  W  V  L  P  F  S  C  M  T  N  L  G  L  V  E  X
   GGCTAATAGTACGGTTTTCGACGTGGCGATTTACAATACATGTTTATATTCGCTTGCGGA   840
245 A  N  S  T  V  F  D  V  A  I  Y  N  T  C  L  Y  S  L  A  D
   TTTTATAACAGTAAACGGCGAGCATCTTTTTCCGGCTTTGTTAAACGGTTCAAATATAAG   900
265 F  I  T  V  N  G  E  H  L  F  P  A  L  L  N  G  S  N  I  S
   CATGAATGTGACTCGTTATCAACAGGAAGCCAAGAATATTTTTGAGATATTACTGTCTCA   960
285 M  N  V  T  R  Y  Q  Q  E  A  K  N  I  F  E  I  L  L  S  Q
   AATTCAGGTGGTGGAACGTGATACTGATAAGACGGTTCAGTTGACAGTCTATGTGGAAGT  1020
305 I  Q  V  V  E  R  D  T  D  X  T  V  Q  L  T  V  Y  V  E  V
   CTGGCATGTGTCCGACCTAACGTGGCTGGACTTGTATCAAGTTCTACCTGAGACTTCTCG  1080
325 W  H  V  S  D  L  T  W  L  D  L  Y  Q  V  L  P  E  T  S  R
   GGTCACATTTTGCTTGATCATTCCTGGGATTTTCATGGATACGTACGAGCTAAAAAGAGC  1140
345 V  T  F  C  L  I  I  P  G  I  F  M  D  R  Y  E  L  K  R  A
   GCAGTGGTCTCTTTTTCATAAAAATATAGCTTTTGAACTGGGAAAGTGTGACGAAGTTAC  1200
365 Q  W  S  L  F  H  X  N  I  A  F  E  L  G  K  C  D  E  V  T
   TTTCTCGACAAAATATTTGGAGTTTGAGCGGACAACAGATCATGCAAAAATTACTATGGC  1260
385 F  S  T  K  Y  L  E  F  E  R  T  T  D  H  A  K  I  T  M  A
   TAGTTTTGTGGAAAAAATTTGCCGTTGTTTAAAAAGGGGCAGAATGGGACTTATTTTCCG  1320
405 S  F  V  E  K  I  C  R  C  L  K  R  G  R  M  G  L  I  F  R
   AAAAAACGTATATCAGTATTCTATGATTCCTCATGTGCCTTTGTATTGCGGGGGTGATTT  1380
425 K  N  V  Y  Q  Y  S  M  I  P  H  V  P  L  Y  C  G  G  D  F
   TTTGGATGTTTTACCTGTCAGAGACGGTATTAACACTTGTTTGAGAATGTTGCTTAATGT  1440
445 L  D  V  L  P  V  R  D  G  I  N  T  C  L  R  M  L  L  N  V
   GGTGCATTTCTTGGGTGACGAAGTAAGCGATGAGCTAACCGAGGAGATTGATTTTGTGCG  1500
465 V  H  F  L  G  D  E  V  S  D  E  L  T  E  E  I  D  F  V  R
   TTTGCAGTGTAAATTTTTTATGTTTAATGAATTAAGGCGGGTGGTTCGAAAAATGGTGTT  1560
485 L  Q  C  K  F  F  M  F  N  E  L  R  R  V  V  R  X  M  V  L
   GGTCGCTAATGCTGTAATTGATTATGCTGTAGAGAATAAAGATTTTCTGCGTGAGGGAAT  1620
505 V  A  N  A  V  I  D  Y  A  V  E  N  X  D  F  L  R  E  G  I
   TGTAGATGGACGAAGTCTAGGTATCTGTATTACGGGTCTTCATTCCGTTTTCATGACCGT  1680
525 V  D  G  R  S  L  G  J  C  I  T  G  L  H  S  V  F  M  T  V
```

维普资讯 http://www.cqvip.com


```
     CGGGTTATCCTATGCACATCCAGATGCTTGTCGATTATATCGAATGATGTGTGAACACAT   1740
545   G  L  S  Y  A  H  P  D  A  C  R  L  Y  R  M  M  C  E  H  I
     TTATTATACTTGTGTTCGAACGAGTGTGGATTGTTGCATGAAAGGAGCAGAGCCATGCAA   1800
565   Y  Y  T  C  V  R  T  S  V  D  C  C  M  K  G  A  E  P  C  N
     TTTATTTGACAGGTCAAAATACGCACTGGGGATGTTATACTTTGATCAATTCGATAATGT   1860
585   L  F  D  R  S  K  Y  A  L  G  M  L  Y  F  D  Q  F  D  N  V
     CGAATGCACGCTTCCGGAGGAATTGTGGACAACGCTAAGGAAAGATGTGCTGATGCACGG   1920
605   E  C  T  L  P  E  E  L  W  T  T  L  R  K  D  V  L  M  H  G
     AGTTCGCAATATTCATTTCACTGCCGGTACTGCCATGCAGAAAGAATTCGATATCATCAA   1980
625   V  R  N  I  H  F  T  A  G  T  A  M  Q  K  E  F  D  I  I  N
     CTCTTCTGAATCGTTCTGGCCGATGGAAGACAATAAAATTCTCAGGCGGTCAAACATCAA   2040
645   S  S  E  S  F  W  P  M  E  D  N  K  I  L  R  R  S  N  I  K
     AGTCGTAATTGGAAAAGACGGTTTAAATGATGTCACTTCGGTTTATTCGTCAGAATTAAA   2100
665   V  V  I  G  K  D  G  L  N  D  V  T  S  V  Y  S  S  E  L  K
     ATCGTTATATATTCCCGTGTATAACAATCTGTTGCTCAACAGATTTAATAAGCATCAGCA   2160
685   S  L  Y  I  P  V  Y  N  N  L  L  L  N  R  F  K  K  H  Q  Q
     ATATTTGAAGACTGTGGGATATAGGGTTTTAAACGTGGACACGAATCTATTTACGGACAA   2220
705   Y  L  K  T  V  G  Y  R  V  L  N  V  D  T  N  L  F  T  D  K
     GGAGTTGGATGATTTAGCTGTTTTCAAAGATGGTTTTAGTTATCCTTTGAATGATTTGAT   2280
725   E  L  D  D  L  A  V  F  K  D  G  F  S  Y  P  L  N  D  L  I
     TGAGATGTATAAGAGTGGGTTGCCTTTTTTGGATCAGGGGCAGGCAAATGTATTTTATTT   2340
745   E  M  Y  K  S  G  L  P  F  L  D  Q  G  Q  A  N  V  F  Y  F
     CAACGATACTGTGAGTTTGAAACACTTGCTACCGTTGCTGTATAAAACTGGATTCAAAGT   2400
765   N  D  T  V  S  L  K  H  L  L  P  L  L  Y  K  T  G  F  K  V
     CGCTATGTATAAGGTTTTGTGTAGTTCTGAGATGTATAAACACCTTGATTTATCAAATCC   2460
785   A  M  Y  K  V  L  C  S  S  E  M  Y  K  H  L  D  L  S  N  P
     GTTACCGTTGATCGGGAAATGCTCGGATGGTGTGGTTATGCACGTAAAGAACATTTTATA   2520
804   L  P  L  I  G  K  C  S  D  G  V  V  M  H  V  K  N  I  L  *
     ATGATGTAATAAAATGTTGGCGCCAAAAAAATACAGTATATAATGTGTTGGTCATTTCAT   2580
     TTGTTTTTAAAGCACAGAAGGCGCGAGTTGGTGCTAGGACTTCGTTCTTGACAGAGATGG   2640
  2                                                            M  E
     AGCGCGGTAGTCGAGATCATCATCGTGATCACCGTGATCATCGGGAACATAGAGAACTGA   2700
 22   R  G  S  R  D  H  H  R  D  H  R  D  H  R  E  H  R  E  L  R
     GAGAACCGCCGACCCTAGCTTTTCATATGAAAAGCTGGAAAACTATTAATAAACCGCTTA   2760
 42   E  P  P  T  L  A  F  H  M  K  S  W  K  T  I  N  K  P  L  K
     AAGCGTTTACAAAACTGTTAAAAGAGAATACTACAGTGACTTTCACTCCGCAGCCTTCGA   2820
 62   A  F  T  K  L  L  K  E  N  T  T  Y  T  P  T  P  Q  P  S  I
     TAATAATTCAGTCTGCTAAAAATCATCTCGTGCAAAAGCTGACCATTCAGGCGGAATGTT   2880
 82   I  I  Q  S  A  K  N  H  L  V  Q  K  L  T  I  Q  A  E  C  L
     TGTTTTTATCAGATACGGAGCACTTTTTAACGAAAACCATTAATAATCATATTCCACTCT   2940
102   F  L  S  D  T  E  H  F  L  T  K  T  I  N  N  H  I  P  L  F
     TTGAAAGTTTTATGAACATCATCTCGAATCCTGAGGTTACGAAGATGTACATTCAGCATG   3000
122   E  S  F  M  N  I  I  S  N  P  E  V  T  K  M  Y  I  Q  H  D
     ATAGTGATTTGTATACGAGGGTTTTGGTGACGGCTTCCGATATATGTACACAGGCGTCGG   3060
142   S  D  L  Y  T  R  V  L  V  T  A  S  D  I  C  T  Q  A  S  V
     TTCCCTGTGTGCATGGACAAGAAGTGGTGCGAGACAGCGGGAAATCGCCGTTGAGGATTG   3120
162   P  C  V  H  G  Q  E  V  V  R  D  S  G  K  S  P  L  R  I  E
     ACCTTGATCATTCGACCGTTTCCGAGGTGTTAAAATGGCTTTCGCCCGTAACTAAAACTA   3180
182   L  D  H  S  T  V  S  E  V  L  K  W  L  S  P  V  T  K  T  K
     AACGCTCTGGTAAATCTGACGCTTTCATGGCGCACATTATAGTACAGGTTAACCCCCCGA   3240
202   R  S  G  K  S  D  A  F  M  A  H  I  I  V  Q  V  N  P  P  T
     CTATAAAATTCGTGACAGAGATGAATGAACTGGAGTTTTCAAACAGCAATAAGGTTATAT   3300
222   I  X  F  V  T  E  M  N  E  L  E  F  S  N  S  S  X  V  I  F
```

维普资讯 http://www.cqvip.com


```
     TTTACGATGTTAAGAACATGCGATTTAATTTATCTGCCAAAAATTTACAGCAGGCTTTAA   3360
242    Y  D  V  K  N  M  R  F  N  L  S  A  K  N  L  Q  Q  A  L  S
     GTATGTGTGCTGTAATCAAGACGTCGTGTAGTTTACGTACGGTAGCCGCTAAAGACTGTA   3420
262    M  C  A  V  I  K  T  S  C  S  L  R  T  V  A  A  K  D  C  K
     AATTGATCTTAACTTCCAAAAGCACGTTGTTGACGGTGGAAGCATTTTTAACTCAGGAGC   3480
282    L  I  L  T  S  K  S  T  L  L  T  V  E  A  F  L  T  Q  E  Q
     AGCTTAAAGAGGAATCTCGCTTTGAACGAATGGGTAAACAAGATGACGGAAAAGGGGATA   3540
302    L  K  E  E  S  R  F  E  R  M  G  K  Q  D  D  G  K  G  D  R
     GGAATCATAAGAACGAAGACGGAAGTGCGTTGGCATCAAAACAGGAAACGCAATATAAAA   3600
322    N  H  K  N  E  D  G  S  A  L  A  S  K  Q  E  T  Q  Y  X  I
     TAACCAACTACATGGTTCCCACTAAAAACGGGACTGCGGGCTCTAGCTTATTTAATGAGA   3660
342    T  N  Y  M  V  P  T  K  N  G  T  A  G  S  S  L  F  N  E  K
     AAGAAGATAGCGAGAGCGACGATTCCATGCATTTTGAATACAGCTCCAATCCTAAGAGAC   3720
362    E  D  S  E  S  D  D  S  M  H  F  E  Y  S  S  N  P  K  R  Q
     AGAGATGCGTCGTCTGACAGATAGTTTTATTCTCGGTCTTGCTAAGGGTGCCGTTATTCC   3780
368    R  C  V  V  *
     AGGGCTGTATCCGTTTAGAATGACAGAGGGGAGGTCCTCCCTCGAACAGATAGGCGTTGT   3840
     GATAACCGTTGCGATTTCCTTTTTGTTGACTTTTAAAAAATTTGAACCACGCTTTTATAA   3900
     ACCCATAGGTGATTTCAAGATTGTGTTTCTGTCTTTAATGGCGGCGAAACTGCCATCATT   3960
     CTTGTCTGCAG 3'                                                 3971
```

图2 HIV-6 pSTY28核苷酸序列

左边为核苷酸编号；右边为氨基酸编号。RiR ATG 起始于107，TAA 终止于2521位核苷酸。P41蛋白 ATG 起始于2637、TGA 终止于3737位核苷酸。划线部位为引物 A 和引物 B 的核苷酸位置。

Fig. 2 Nucleotide sequence of the pSTY28 DNA

Nucleotide position numbers are located on the left and amino acid position number on the right. RiR ATG is at position 107 and TAA at position 2521. ATG is at position 2637 and TGA at position 3737 for p41. The position of the primers used for PCR (Primer A and Primer B) are underlined.

用及与抗病毒治疗有关。对HHV-6 RiR DNA 序列的测定，为研究 HHV-6、致病性和抗病毒治疗提供新的途径。

Agulnich 研究 HHV-6 GS 株 P41蛋白、DNA 序列测定及蛋白质功能分析表明，P41蛋白具有刺激多聚酶活性的功能。本研究发现 HHV-6 HST 株编码 P41蛋白的 DNA，起始密码 ATG 位于 RiR 终止密码后，相隔115个核苷酸，与 HHV-6 GS 株相比，DNA 序列完全相同，但在37207-37211 核苷酸间，则少了 TAATCC 6个核苷酸，其意义有待更一步探讨。

维普资讯 http://www.cqvip.com

参 考 文 献

1 Slahuddin SZ, Ablashi DV, Markham PD, *et al*. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. Science, 1986; 234:596—600

2 Yamanishi K, Okuno T, Shiraki K, *et al*. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. Lancet, 1988; i:1065

3 Martin MED, Thomoson BJ, Honess RW, *et al*. The genome of human herpesvirus 6: Maps of unit—length and concatemeric genomes for nine restriction endonucleases. J General Virology, 1991; 72:157

4 Henikoff S. Unidirectional digestion with exonuclease creates targeted breakpoints for DNA sequencing. Gene, 1984; 28:351—359

5 Iseqawa Y, Sheng J, Sokana Y, *et al*. Selective amplification of cDNA sequence from total RNA by casseteligation mediated polymerase chain reaction (PCR): Application to sequencing 6.5 kb genome segment of hantavirus strain B1. Molecular and Cellular Probes, 1992; 6:467—475

6 Sambrook, J, Fritch EF, Maniatis T. Extraction and purification of plasmid DNA. Molecular Cloning, 1989; 1.21—1.52

7 Sanger F, Nickler Sand Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitor. Proc. Natl Acad Sci USA, 1977; 74:5463

8 Ablashi DV, Luss OP, Hung C1, *et al*. Utilization of Human hema topietic cell lines for the propagation and characterization of HBLV. Int J Cancer, 1988; 42:787—781

9 Chee MS, Lawrence GL and Barrell BG. Alpha-beta-and gamma-herpes virus encode a putative phosphotransferase. J Gen Virol, 1989; 70:1151—1160

10 Lawrence GL, chee M, Craxton MA, *et al*. Human herpesvirus 6 is closely related to human cytomegalovirus. J of Virology, 1989; 64:287—299

11 Jones MD and Teo LA. Identification and analysis of the transpart/capsid assembly protein (tp/cap) gene of human herpesvirus 6(HHV-6). Virology, 1993; 449—454

12 Josepgs SF, Ablashi DV, Salahuddin SZ, *et al*. Identification of the human herpesvirus 6 glycoprotein H and putative large tegument protein genes. J Virology, 1991; 5597—5604

13 Swain MA and galloway DA. Herpes Simplex Virus Specifies two subunits of ribonucleotide reductase encoded by 3'-coterminal transcripts. J Virology, 1986; 57:802—808

14 Efstathiou S, Gompels UA, Craxton MA, *et al*. DNA homology between a novel human herpesvirus (HHV-6) and human cytomegalovirus. Lancet, 1988; i:63—64

15 Agulniek AD, Thompson JR, Iyengar S, *et al*. Identification of a DNA-binding protein of human herpesvirus 6, a putative DNA polymerase stimulatory facter. J Genergl Virology, 1993; 74:1003—1009

16 Nicholas J, Martin MD. Nucleotide sequence analysis of a 385-Kilobase-pair regeon of the genome of human herpesvirus 6 encoding human cytomegalovirus immediate-early gene homologs and transactivating functions. J. Virology, 1994; 2:579—610

17 Cohen EA, Charron J, Perret . J. *et al*. Herpes simplex virus ribonucleotide reductase induced in infecte BHK-21/C13 cells: biochemical evidence for the existence of two non-identical subunits, H1 and H2. J. Gen Virol, 1985; 66:733—745

Cloning and Sequencing of pSTY28 DNA Fragment of Human Herpesvirus-6

Qian Lisheng

(*Department of Microbiology, Shanghai Medical Unversity, Shanghai* 200032)

Koichi Yamanishi

(*Department of Microbiology, Medical School, Osaka University Japan*)

This report confirms the sequence of pSTY28 fragment of HHV-6. We have determined the complete nucleotide sequence. The sequence data have revealed open reading frame (ORF) of 2414 nucleotides encoding a ribonucleotide reductase (RiR) protein of 805 amino acids and 1100

维普资讯 http://www.cqvip.com

nucleotides encoding a P_{41} protein. To examine the relatedness of RiR protein with those of other herpesvirus, we compared their amino acid sequence in pairwise combination. Interestingly, RiR ORF of HHV-6 has shown to have the highest amino acid homology with the RiR of HCMV. The optimized score reaches 475. Biochemical analysis of RiR has indicated the active site of thioredoxin containing two cysteins separated by two amino acids. This sequence was found only once in the *E. coli*, HSV-2, EBV and mouse RiR protein, but we did not find it in the HHV-6 and HCMV RiR protein. Those data support Esftathiou's view that HHV-6 belongs to betaherpes viruses.

Key words HHV-6, Ribonucleotide reductase, P41 protein, Cloning, Sequencing