维普资讯 http://www.cqvip.com

第15卷第1期 中国病毒学 Vol.15 No.1
2000年3月 VIROLOGICA SINICA Mar. 2000

家蚕核型多角体病毒中国株和日本株 vp39 基因的比较研究*

齐义鹏**，刘德立，孙晓洁#
（武汉大学病毒研究所，武汉 430072）

摘要：以苜蓿丫纹夜蛾核型多角体病毒（AcNPV）的核衣壳蛋白基因 vp39 设计引物，用 PCR 技术扩增了家蚕核型多角体病毒中国株（BmNPV-Ch）－1.3 kb 片段，并测定了其全序列长 1 230 bp。推导的氨基酸 351 个，其与 BmNPV 日本株（BmNPV-Ja）vp39 基因核苷酸序列同源性达 97.5%，氨基酸同源性达 97.1%。该片段在 *E. coli* BL21 中诱导表达能产生分子量约为 38 kD 的特征性蛋白带，证明所扩增片段为 BmNPV-Ch 的 vp39 基因。经与 BmNPV-Ja 比较，其 625 位有 3 个核苷酸（CGA），985～910 位有 6 个核苷酸（GTCGGC）的插入，未造成码组移动。有 17 处点突变，但取代突变（replacement mutation）仅 7 处，对两株病毒 VP39 蛋白的亲疏水性和酸碱性质未产生显著影响。由于点突变带来氨基酸改变，使 BmNPV-Ch 的 vp39 蛋白的 α-螺旋由 13.2% 增加到 15.4%，无规卷曲由 7.2% 减少到 5.8%，β-折叠和 β-转角维持不变，约为 79.6%，仍保持以 β-折叠为主要二级结构单元的片层状折叠结构。

关键词：核衣壳蛋白基因；克隆；家蚕核型多角体病毒；点突变；二级结构
中图分类号：Q753 **文献标识码**：A **文章编号**：1003－5125(2000)01－0052－07

杆状病毒的分子生物学是近来十分活跃的研究领域之一，其模型种苜蓿丫纹夜蛾核型多角体病毒（*Autographa californica* Nuclear Polyhedrosis Virus, AcNPV）的研究已取得了重大进展。1994 年，Ayers 等人[1]公布了 AcNPV DNA 134 kb 全序列。已鉴定的重要基因有 50 多个，包括核衣壳蛋白 vp39 基因。Blissard 等[2]研究了黄杉毒蛾核型多角体病毒（*Orgyia pseudotsugata* NPV, OpNPV）vp39 基因的结构及瞬时表达。最近的研究发现：AcNPV 的 vp39 基因与侵染密切相关。在侵染过程中，VP39 蛋白与宿主的肌动蛋白结合，使其重排形成缆索（cable），导致细胞骨架发生变化有利于病毒编码的蛋白酶的水解，最后，子代病毒颗粒大量形成，宿主昆虫体全部液化成为脓水[3,4]。可见，vp39 基因是杆状病毒的一个十分重要的基因。由于家蚕（*Bombyx mori*）表达系统的独特优点，因此，家蚕 NPV（BmNPV）亦是研究得比较深入的一种杆状病毒。Maeda 等[5]测定 BmNPV 日本株（BmNPV-Ja）的基因组全序列。我国学者[6]也有不少关于 BmNPV 分子生物学的报道。他们使用的毒株多为从日本引进，也有从我国罹病的家蚕幼虫中分离。这两种地理分离物是同一毒株，还是有所差别，未引起任何重视。本研究克隆表达了 BmNPV 中国分离物（BmNPV-Ch）的 vp39 基因，并测定了其全序列。经与 BmNPV-Ja 比较，发现它们的序列和结构有某些差异，但其基本性质不变。本研究结果不仅对 vp39 基因的研究有重要理论意义，也为我国病毒资源的开发利用提出了新的命题。

收稿日期：1998－12－30，修回日期：1999－04－05
* 国家自然科学基金和国家教委博士点基金资助
** 通讯作者：齐义鹏（1937－），男，教授，博士导师，主要从事分子病毒学研究
\# 华中师范大学生命科学院 96 级研究生

维普资讯 http://www.cqvip.com

1 材料与方法

1.1 试剂，质粒及菌株

限制性内切酶，T4 DNA 连接酶，Taq DNA 聚合酶，SIVER-SEQUENCE™等购自 Promega 公司和华美生物技术公司。BmNPV 中国分离物由南京军区军事医学研究所邓小昭博士赠送。质粒 pGEM3zf，表达质粒 pRSET-A，大肠杆菌 TG1 和 BL21 等由本室保存。

1.2 病毒 DNA 的提取

用 BmNPV-Ch 感染家蚕细胞。当 50% 左右的细胞中形成多角体后，2000 r/min 离心除去细胞，40 000 g 离心 40 min 收集病毒粒子。加入蛋白酶 K（终浓度 100 μg/mL）和 1% SDS 裂解病毒粒子，释放 DNA。按常规方法以酚、氯仿抽提，乙醇沉淀 DNA。

1.3 重组质粒的构建和筛选

参照 AcNPV vp39 基因序列设计 PCR 引物，正向引物 P1：GCCGGATCCAACAATATGGCGCTAGT；反向引物 P2：CCGGAGCTCGTTTTCTAATCTTGCGT。以 BmNPV-Ch DNA 为模板扩增回收 PCR 产物，并克隆到 pGEM3zf 中，转化大肠杆菌 TG1，加入 X-gal/IPTG 诱导，经兰白斑筛选，得到阳性重组质粒 pGEM-39，经 BamHI/EcoRI 酶切重组质粒 pGEM-39 DNA，回收小片段，将其插入到原核表达载体 pRSET-A 中，构建重组表达质粒 pRSET-39。质粒 DNA 的制备、酶切、连接和转化按文献[7]进行。

1.4 BmNPV 1.3 kb PCR 片段的序列测定

大量制备重组质粒 pGEM-39，并经 PEG8000 纯化后，用 ddNPV/PCR/银染测序法。参照文献[8]和试剂盒说明书测定 3′、5′两侧末端序列，全序列测定由加拿大 GendaTech Co. 完成。

1.5 vp39 基因的同源性比较及推导的囊膜蛋白的二级结构分析

采用 DNASIS 软件和 PROSIS 软件分析 BmNPV-Ch 与日本株 BmNPV-Ja vp39 基因的序列和氨基酸同源性。分析两株病毒 VP39 蛋白的亲疏水性、酸碱性和二级结构并进行详细比较研究。

2 结果

2.1 BmNPV-Ch 1.3 kb 片段的克隆及序列测定

根据我们[9]以前的报道，将 BmNPV-Ch～1.3 kb 的 PCR 扩增片段定向克隆到 pGEM3Zf 的 BamHI/SacI 位点，阳性重组质粒命名为 pGEM-39，用于序列测定。同时用 BamHI/EcoRI 回收 PCR 片段，亚克隆到表达质粒 pRSET-A 的同一位点，构建表达载体 pRSET-39（图 1）。用双脱氧末端终止法测定了 pGEM-39 中 PCR 片段的序列，发现一长 1 053 bp 的 ORF（该序列已储存美国 GenBank，编号：AF063104）。

2.2 BmNPV-Ch～1.3 kb 片段的序列及其同 BmNPV-Ja vp39 基因的比较

图 2 是 BmNPV-Ch vp39 与 BmNPV-Ja vp39 基因序列[6]的比较，它们的核苷酸同源性达 97.5%。证明此 ORF 应为 BmNPV-Ch 的 vp39 基因，它比 BmNPV-Ja vp39 基因序列长 9 bp，其中第 625～627 位增加了 CGA，985～990 位增加了 GTCGGC。表明 BmNPV-Ch vp39 基因有两处插入突变，插入碱基分别是 1×3 和 2×3。因此，并未造成码组移动（图 2）。此外，BmNPV-Ch vp39 基因中还有 17 处点突变（图 2，表 1）。从表 1 看出，BmNPV-Ch 的 vp39 基因 17 处点突变的主要类型是转换（10 处），有意突变 7 个，大部分是沉默突变。

2.3 推导的 BmNPV-Ch vp39 基因编码的氨基酸序列

BmNPV-Ch vp39 基因编码一个由 350 个氨基酸组成的分子量 39 107 Da 的囊膜蛋白，它比 BmNPV-Ja 的 VP39 蛋白多 3 个氨基酸，同源性 97.1%（图 3）。全部氨基酸有 20 种，含量

维普资讯 http://www.cqvip.com

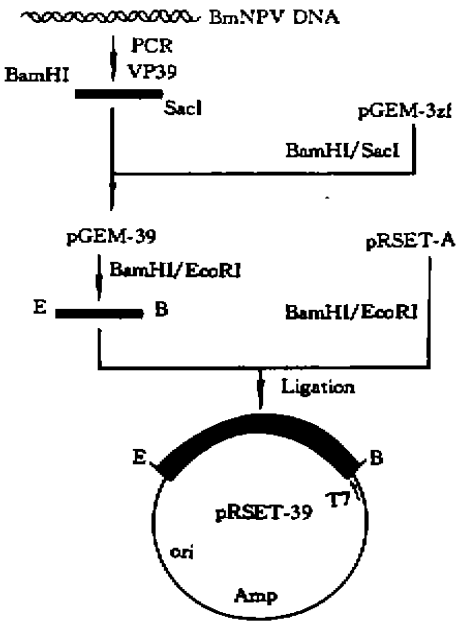

图1 重组表达载体 pRSET-39 的构建

Fig.1 Construction of recombinant expression plasmid pRSET-39

表1 BmNPV-Ch vp39 基因的点突变及其对蛋白质性质和结构的影响

Table 1 The site mutations of BmNPV-Ch vp39 and their effect on the structure of VP39 protein

序号 No.	核苷酸 Nucleotide		突变类型 Mutation	序号 No.	氨基酸 Amino acid		亲水区 HYPL	疏水区 HYPB	二级结构 2nd structure	
	日本株 BmV-J	中国株 BmV-C			日本株 BmV-J	中国株 BmV-C			日本株 BmV-J	中国株 BmV-C
10	ATG	GTG	转换 TS	4	Met	Val			T	S
34	AAA	CAA	颠换 TV	12	Lys	Gln			C	T
61	GCG	TCG	颠换 TV	21	Lys	Ser				
102	TCG	TCA	转换 TS		沉默突变	SM				
132	GAC	GAT	转换 TS		沉默突变	SM				
162	ATC	ATA	颠换 TV		沉默突变	SM				
264	AGA	AGG	转换 TS		沉默突变	SM				
295	ACC	GCC	转换 TS	99	Thr	Ala			S	H
345	CAA	CAG	转换 TS		沉默突变	SM				
434	AAG	ACG	颠换 TV	145	Lys	Thr	−1	−1		
477	ATT	ATC	转换 TS		沉默突变	SM				
513	CGT	CGG	颠换 TV		沉默突变	SM				
540	TTC	TTT	转换 TS		沉默突变	SM				
562	CGT	GGT	颠换 TV	188	Arg	Gly				
628		CGC	插入 IS			Arg	−1	+2	S	H
711	ATG	ACG	转换 TS							
858	AGG	AGC	颠换 TV	286	Arg	Ser			S	H
984	GGT	GGC	转换 TS		沉默突变	SM				
985		GTC	插入 IS			Val				
990		GGC	插入 IS			Gly			C	H

注：H：α-螺旋(α-helix) S：β-折叠(β-sheet) T：β-转角(β-turn) C：无规卷曲(random coil) TS：转换(transition) TV：颠换(transversion) SM：沉默突变(silent mutation) HYPL：亲水区(hydrophilic area) HYPB：疏水区(hydrophobic area) BmV-J：BmNPV Japanese isolate BmV-C：BmNPV Chinese isolate

维普资讯 http://www.cqvip.com


```
BMVP39-C   ATGGCGCTAGTGCCCGTGGGTATGGCGCCGCGACAAATGAGAGTTAACCGCTGCATTTTC   60
BMVP39-J   .........A.......................A.........................   60

BMVP39-C   GCGTCCATCGTGTCGTTCGACGCGTGCATAACATACAAGTCACCGTGTTCGCCCGACGCG  120
BMVP39-J   ........................................G..................  120

BMVP39-C   TATCATGACGATGGATGGTTTATCTGCAACAGCCACCTCATAAAACGTTTTAAAATGTCA  180
BMVP39-J   ...........C.............................C.................  180

BMVP39-C   AAAATGGTTTTGCCCATTTTCGACGAAGACGACAATCAATTCAAAATGACGATCGCTAGG  240
BMVP39-J   ............................................................  240

BMVP39-C   CATTTAGTTGGAAATAAAGAAAGGGGTATCAAGCGAATTTTAATTCCAAGCGCAGCCAAT  300
BMVP39-J   .......................A.............................A.....  300

BMVP39-C   TACCAAGAGGTGTTTAATCTAAACAGTATGATGCAAGCCGAACAGCTAATCTTTCATTTG  360
BMVP39-J   ...........................................A................  360

BMVP39-C   ATATATAACAACGAAGCGGCGGTTAACGTTATATGCGACAATCTAAAATATACCGAAGGT  420
BMVP39-J   .. .........................................................  420

BMVP39-C   TTCACAAGCGGCACGCAACGCGTTATACACAGCGTTTACGCAACTACAAGAAGCATCCTA  480
BMVP39-J   .............A.........................................T...  480

BMVP39-C   GACACCACAAACCCGAACACGTTTTGTTCGCGGGTGTCGCGCGACGAATTGCGTTTTTTT  540
BMVP39-J   ...............................T..........................C  540

BMVP39-C   GACGTGACCAACGCCCGAACGGGTCGAGGTGGTGTTGGCGATCAATTATTTAACAATTAC  600
BMVP39-J   ......................C.....................................  600

BMVP39-C   AGTGGATTTTTGCAAAATTTGATTCGACGCGCAGTAGCGCCCGAGTACTTGCAAATCGAC  657
BMVP39-J   ..........................---...............................  660

BMVP39-C   ACGGAGGAATTGAGATTTAGAAATAGCGCCACGTGTATAATTGACGAAACGGGCCTGGTG  717
BMVP39-J   ...................................................T......  720

BMVP39-C   GCGTCTGTGCCCGACGGCCCCGAGTTGTACAACCCGATAAGAAGCAGTGACATCATGAAA  777
BMVP39-J   ............................................................  780

BMVP39-C   AGTCAACCCAATCGTTTGCAAATTAGAAACGTTTTGAAATTTGAAGGCGACACACGTGAG  837
BMVP39-J   ............................................................  840

BMVP39-C   CTGGACAGAACGCTTAGCGGATACGAAGAATACCCGACGTACGTTCCGCTGTTTTTGGGA  897
BMVP39-J   ................G...........................................  900

BMVP39-C   TACCAAATAATTAATTCAGAAAACAACTTTTTGCGAAACGACTTTATATCAAGAGCAAAT  957
BMVP39-J   ............................................................  960

BMVP39-C   CCGAACGCTACTTTGGGCGGCGGCGTCGGCTGCACTGGCAGGTCCTGCGCCTGGTGTTGTT  1011
BMVP39-J   ......................-------................................  1020

BMVP39-C   CTCGGCGAAGCAAGTGGAAGTGTAGCCGCCTAA   1044
BMVP39-J   ...............................    1053
```

维普资讯 http://www.cqvip.com

图2 BmNPV-Ch与BmNPV-Ja vp39基因的核苷酸序列比较

Fig.2 Comparison of nucleotide sequences of vp39 from BmNPV-Ch and BmNPV-Ja

最高的氨基酸依次为:Leu(28),Asn(27), ILe(25),Ser(25), Arg(25),Gly(24),Ala(24),Val(23);含量最少的氨基酸有Trp(1),His(5), Cys(7)。其中Asp+Glu为37个;Arg+Lys有35个。因此,VP39蛋白的酸性和碱性氨基酸基本平衡。

```
BmVP39-Ch  MALVPVGMAPRQMRVNRCIFSSIVSFDACITYKSPCSPDAYHDDGWFICNSHLIKRFKMSKMVLPIFDED  70
BmVP39-Ja  ...M.......K........A.............................................  70

BmVP39-Ch  DNQFKMTIARHLVGNKERGIKRILIPSAANYQEVFNLNSMMQAEQLIFHLIYNNEAAVNVICDNLKYTEG  140
BmVP39-Ja  ............................T.......................................  140

BmVP39-Ch  FTSGTQRVIHSVYATTRSILDTTNPNTFCSRVSRDELRFFDVTNARTGRGGVGDQLFNNYSGFLQNLIRR  209
BmVP39-Ja  ....K.......................................R.....................-  210

BmVP39-Ch  AVAPEYLQIDTEELRFRNSATCIIDETGLVASVPDGPELYNPIRSSDIMKSQPNRLQIRNVLKFEGDTRE  279
BmVP39-Ja  ..............................................................  280

BmVP39-Ch  LDRTLSGYEEYPTYVPLFLGYQIINSENNFLRNDFISRANPNATLGGGVGALAGPAPGVVLGEASGSVAA*  347
BmVP39-Ja  .....R.......................................--.................  350
```

图3 BmNPV-Ch与BmNPV-Ja VP39蛋白的氨基酸序列比较

Fig.3 Comparison of amino acid sequences about VP39 from BmNPV-Ch and BmNPV-Ja

以上分析指出,尽管BmNPV-Ch的vp39基因存在17个点突变,但有意突变只有7个,而其中只有一个点突变对该蛋白的疏水性和酸碱性带来小的改变。两种VP39蛋白的亲疏水性和酸碱性图谱基本一致,估计其蛋白质的电荷载量,亲疏水性质和抗原特性不会有改变。

2.4 两株BmNPV VP39蛋白的二级结构及其比较

BmNPV-Ja和BmNPV-Ch VP39蛋白的二级结构列于图4和表2。从图4看出,两株BmNPV的VP39蛋白的二级结构基本相似,它们都存在大量的β-转角,其次是β-折迭,α-螺旋含量较少。

表2 两株BmNPV VP39蛋白二级结构单元的含量

Table 2 Comparison of the secondary structure units of VP39 from BmNPV-Ch and BmNPV-Ja

二级结构单元 Secondary structure element	BmNPV-Ja		BmNPV-Ch	
	%	氨基酸数 Amino acid	%	氨基酸数 Amino acid
α-螺旋 α-helix	13.2	46	15.4	54
β-折叠 β-sheet	34.6	120	34.2	120
β-转角 β-turn	45.0	156	44.7	156
无规卷曲 random coil	7.2	25	5.8	20

从表2看出,两株BmNPV的VP39蛋白有相同数量的β-折叠和β-转角,其差别主要在α-螺旋和无规卷曲的数量上。BmNPV-Ch的α-螺旋比BmNPV-Ja增加了7个氨基酸,无规卷曲减少了5个氨基酸。它们的β-折叠主要分布在N端的12～32和54～66位处,一个大的α-螺

维普资讯 http://www.cqvip.com


```
BmVP39-Ch  SSSSSSSSTTTTSSSSSSSSSSSSSSSSSSTTTTTTTTTCTTTTTSSTTTTTSSSSSSSSSSSSSHTTT  70
BmVP39-Ja  ...TTTT.....CC.............H.......................................  70

BmVP39-Ch  TTTTTHHHHHHHTTTTCCCSSSSSTTTTHHHHHHHTTTTHHHHHHHHHHHHTTTTHHSSSHTTTTSTTTT  140
BmVP39-Ja  ............................SSS.......................................  140

BmVP39-Ch  TTTTTSSSSSSSSSTTTTSSTTTTTTTSSSSHTTTTSSSSSHSTTTTTTTTTTTSTTTTTTTSSSSSSH  209
BmVP39-Ja  .........H.......................................................-  210

BmVP39-Ch  HHHHHSSSSSHHHHHTTTTTTTSSTTTTSSSSTTTTTTTSSSSTTTTTSSSTTTTSSSSSSSSHHCCCCS  279
BmVP39-Ja  S...............................................................  280

BmVP39-Ch  SSSSTTTTCCTTTTSSSSSSSHSSTTTTTCTTTTCCCCCTTTTCTTTTTHHHHHHTTTTSHHTTTTTCCC  347
BmVP39-Ja  ....SSSS.......................................--TCCC...............  350
```

图4　BmNPV 中国株和日本株 VP39 蛋白的二级结构分析

Fig.4　Analysis of the secondary structures about VP39 from BmNPV-Ch and BmNPV-Ja

旋主要分布在β-折叠之后 102～121 位处。大量的β-转角(31 个)均匀分布在整个蛋白分子中,其中一半以上位于β-折叠之间,而使整个蛋白的分子形成片层状折叠结构。

尽管如此,由于 BmNPV-Ch vp39 基因的 4 个点突变带来了蛋白质二级结构的变化(图4),致使 BmNPV-Ch VP39 蛋白的 N 端增加了一个β-折叠,C 端增加了一个α-螺旋,但二级结构的总和仍保持相对平衡状态。由于β-折叠和β-转角是 BmNPV 囊膜蛋白的主要结构单元,因此两株 BmNPV VP39 蛋白的二级结构基本一致。

3　讨论

vp39 基因又称核衣壳蛋白基因,它不仅是杆状病毒的与装配核衣壳有关的必需结构蛋白基因,而且是与宿主细胞的裂解和宿主机体液化密切相关的基因[10,11]。本研究在对 BmNPV-Ch vp39 基因 PCR 扩增基础上进行了序列测定和在大肠杆菌中的克隆表达,证明所扩增的片段为 BmNPV-Ch 株的 vp39 基因。杆状病毒的命名均以其天然宿主昆虫的学名为依据,但是同一种昆虫往往被几种不同的杆状病毒感染,而从不同地区和不同生态环境(但从同一宿主)分离的病毒也有血清型、生态型和株型的差别。几乎所有的医学病毒都证明了这一点。不同血清型、株型的同一病毒不仅在基因型上有差异,也是临床诊断,预防治疗的分子基础。因此,研究同一病毒不同地理分离物之间基因型和表型的差异是一个很重要的命题,但这一领域恰恰在昆虫病毒学中被忽视。从日本引进的 BmNPV 和我国分离的 BmNPV 应该是不同的。本研究以这两株 BmNPV 的 vp39 基因为对象,从核苷酸序列、氨基酸序列、亲疏水性质、酸碱性质、蛋白质二级结构等多个方面进行了比较,发现它们在各自的生态环境中经过长期突变的累积,产生了基因序列的 17 处点突变带来了 7 个氨基酸的改变,相应于氨基酸的改变带来了亲疏水性的微小变化、α-螺旋微弱增加、无规卷曲稍有减少,但是 vp39 蛋白的亲疏水性和酸碱性图谱并未改变,总体二级结构特点仍维持不变,保持 VP39 蛋白均是以β-折叠和β-转角为主要结构单元的片层状折叠结构。这些微小变异对 VP39 蛋白的功能有什么影响现在还不清楚。

参　考　文　献

[1]　Ayers MD, Howard SC, Kuail J. The complete DNA sequence of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus [J]. *Virol*, 1994, 202: 586～605

维普资讯 http://www.cqvip.com

[2] Blissard GW, Quant-russell RL, Rohrmann GF *et al*. Nucleotide sequence, transcriptonal mapping and temporal expression of the gene encoding p39, a major structural protein of the multicapsid nuclear polyhedrosis virus of *Orgyia pseucotsugata* [J]. Virol, 1989, 169:354～362

[3] Chariton CA, Volkman LZ. Pentration of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus nucleocapsids into IPLB Sf21 cells induces actin cable formation [J]. Virol, 1993, 197:245～254

[4] Slack JM, Kuzio J, Faulkner P. Characterization of V-cath, a cathepsin L-like proteinase expressed by the baculovirus *Autographa califrnica* nuclear polyhedrsis virus [J]. J Gen Virol, 1995, 76:1091～1098

[5] Maeda S. *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus DNA complete genome [R]. 1996:GenBank Accession Number L33180

[6] 邓小昭,刁振宇,朱应等.家蚕 BmN 细胞的微载体培养及 HBeAg 的高效表达[J].中国病毒学,1998,13:236～242

[7] Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular Cloning, A Laboratory Manual [M]. 2 ed. Cold Spring Harboor Press, New York. 1989

[8] Sanger F, Nicklen S, Coulsin AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1977, 74:5463

[9] Liu DL, Sun XJ, Qi YP *et al*. Cloning and expression of the vp39 gene of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus in *E. coli* [J]. Wuhan Univ J of Natural Sciences, 1998, 3(1):108～112

[10] Rohrmann G F. Baculovirus structural proteins [J]. J Gen Virol, 1992, 73:749～761

[11] Todd J W, Passarelli A L. Lu A *et al*. Factors regulating baculovirus late and very late gene expression in transient-expression assays [J]. J Virol, 1996, 70:2307～2317

Comparison Study about the vp39 Gene of *Bombyx mori* Nuclear Polyhedrosis Virus Two Isolates from China and Japan

QI Yi-peng, LIU De-li, SUN Xiao-jie

(*Institute of Virology, Wuhan University, Wuhan* 430072, *China*)

Abstract: The nuclear capsid protein gene (vp39) of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus (*Chinese isolate, BmNPV-Ch*) *was amplified by PCR and inserted into pGEM 3zf(+)*. The amplified vp39 gene (1 230 bp) was sequenced with silver-staining dideoxy chain termination. The coding region is 1 053 bp, and code for 351 amino acids. Comparing with the vp39 gene of BmNPV-Ja (Japanese isolate), the homology of the nucleotide and the amino acid sequences is 97.5% and 97.1% respectively. The BmNPV vp39 gene was inserted into the expression vector pRSET-A, and transformed into *E. coli* BL21. This gene from BmNPV-Ch is 9 bp longer than that of BmNPV-Ja. The insertion of nine nucleotides is found in vp39 gene sequence of BmNPV-Ch (CGA at 625 site and GTCGGC at 985～910). Although there are 17 site-mutations, only 7 site-mutations are replacement mutations. There was no effect to the hydrophilicity and charge of two isolates of VP39. The replacement of anino acids caused by the site mutations made the changes of the secondary structure of Bmvp39-Ch. e.g. α-helix increased from 13.2% to 15.4%; rundom coil decreased from 7.2% to 5.8%. β-sheet and β-turn of two isolates were similiar (about 79.6%). It is indicated that the main secondary structure of the VP39 protein is fold sturcture containing high proportion of β-sheet and β-turn. This structure may be concordant with its function.

Key words: Nuclear capsid gene (vp39); Gene cloning, BmNPV; Site mutation; Secondary structure