

## 甘蔗花叶病毒3'末端基因的克隆及外壳蛋白序列分析比较\*

李利君, 周仲驹, 谢联辉\*\*

(福建农林大学植物病毒研究所, 福建福州 350002)

### Cloning of 3'-terminal Part of Sugarcane Mosaic Virus RNA and Sequence Comparison of CP Gene Between Chinese Isolate and Other Strains of SCMV

LI Li-jun, ZHOU Zhong-ju, XIE Lian-hui \*\*

(Institute of Plant Virology of Fujian Agricultural and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

**Abstract:** SCMV-CA, an isolate of the dominant A strain in China continent was propagated on sweet maize and purified. Cloned cDNAs representing more than 0.8kb of the 3' termini were obtained after a reverse transcription and ligation to pUC19 in *Sma*I site using an oligo(dT) primer. One clone named SCMV-CA54 was sequenced and the length of the SCMV-CA54 was 1296 bp. The sequence covered the 3' untranslated region (3'-UTR), coat protein (CP) and part of the nuclear inclusion b (NIb) genes of the virus. The nucleotide and deduced amino acid sequence in the CP gene between Chinese isolate SCMV-CA and other isolates or strains of SCMV subgroup were compared. Results showed that the homology of nucleotide sequence in CP gene between SCMV-CA and other isolates or strains of SCMV subgroup ranged from 63.7% to 77.6%, and amino acid sequence from 64% to 89%. This homology degree lies between the range for distinct viruses and that between related strains of potyviruses, arguing that the Chinese isolate might represent a distinct virus.

**Key words:** Sugarcane mosaic virus; 3' untranslated region; Coat protein; Sequence analysis

**摘要:** 选取我国SCMV优势株系A株系的分离物SCMV-CA为材料, 经过病毒和病毒RNA的提纯, 反转录获得病毒cDNA, 并克隆到载体pUC19的Sma I位点上, 筛选得到多个重组质粒。选取其中一个克隆SCMV-CA54进行测序, 得到一个全长为1296 bp的核苷酸序列。这段序列由一个长为1044 bp的开放阅读框架(ORF)和一个长279 bp的3'末端非编码区序列(3'-UTR)及poly(A)尾巴组成。这个ORF包括病毒完整的外壳蛋白(CP)及部分核内含体蛋白b(NIb)基因序列。将所得序列同已知SCMV亚组中各株系分离物的核苷酸和氨基酸进行同源性比较。结果表明该序列与其它株系分离物CP核苷酸序列的同源性介于63.7%~77.6%之间, 氨基酸的同源性介于64%~89%之间。根据马铃薯Y病毒属的序列同源性划分标准, SCMV-CA与其它株系或分离物的同源性关系均介于种与株系划分标准之间。这是我国首次报道SCMV CP基因序列。

**关键词:** 甘蔗花叶病毒; 3'端非编码区; 外壳蛋白; 序列分析

**文献标识码:** A   **中国分类号:** S435   **文章编号:** 1003-5125(2001)01-0045-06

收稿日期: 1999-09-27, 修回日期: 2000-02-17

\* 基金项目: 福建省教委资助项目(K96022)

作者简介: 李利君(1973-), 女, 河北籍, 硕士, 研究方向为植物病毒及病毒病害。

\*\* 通讯作者. For correspondence.

甘蔗花叶病毒(Sugarcane mosaic virus, SCMV)是马铃薯Y病毒属的重要成员之一,病毒粒子为柔軟的丝状结构,无被膜,长度为750 nm左右,直径13 nm左右。SCMV寄主范围虽仅限于禾本科植物,但所涉及的范围较广,包括甘蔗、玉米、高粱、狗尾草、小麦、大麦、黑麦和稻等40个属的100多种禾本科寄主<sup>[1]</sup>。它所引起的甘蔗花叶病(sugarcane mosaic disease)是一种重要的世界性甘蔗病害,在我国闽、台、粤、桂、蜀、滇、浙等蔗区均有普遍发生,局部地区为害严重<sup>[2~4]</sup>。

陈宇航等从广西、福建主要蔗区分离到10个病毒分离物,鉴定出SCMV-A为我国大陆的优势株系<sup>[3]</sup>,并开展了甘蔗品种抗性鉴定<sup>[4]</sup>、病毒提纯<sup>[5]</sup>和病毒对寄主生理代谢的影响等方面的研究。为了进一步在分子水平上弄清我国SCMV的特点,作者对我国该病毒分离物的外壳蛋白(CP)基因及3'端非编码区进行了研究,现将结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试毒源为保存于福建农林大学植物病毒研究所的SCMV-A株系的分离物SCMV-CA,按常规擦接种方法将其繁殖在健康的甜玉米幼苗上,待玉米植株发病后取症状典型的嫩叶作为试验材料。

### 1.2 方法

1.2.1 病毒及病毒RNA的提纯 病毒提纯方法参照陈启建等的方法<sup>[5]</sup>。病毒RNA的提纯按照常规方法进行。

1.2.2 cDNA的合成 20 μL含有2~4 μg病毒RNA的溶液制剂,15℃处理5 min;加入100 mmol/L的羟甲基汞,室温10 min,加入2 μL新配置的1%β-巯基乙醇,室温5 min;加入5×MMLV反转录酶缓冲液[250 mmol/L Tris-HCl(pH 8.3, 25℃), 373 mmol/L KCl, 15 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 0.1 mmol/L DTT]10 μL, dNTP(5 mmol/L) 4 μL, Oligo d(T)(0.5 μg/μL) 10 μL, MMLV反转录酶(5 U/μL)(BRL) 2.5 μL, 加水至终体积50 μL;于37℃处理120 min;向上述反应液中加入5×MMLV反转录酶缓冲液37.5 μL, dNTP(5 mmol/L) 15 μL, MgCl<sub>2</sub>(1 mol/L) 1.5 μL, KCl(1 mol/L) 25 μL, DNA聚合酶I(10 U/μL) 10 μL, 加水至终体积400 μL,于15℃下过夜。

1.2.3 病毒cDNA的末端补平反应体系:cDNA 35 μL, 10×T<sub>4</sub>DNA聚合酶缓冲液[335 mmol/L Tris-

HCl(pH 8.8 25℃), 33 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 5 mmol/L DTT, 84 mmol/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] 10 μL, dNTPs(5 mmol/L) 6 μL, T<sub>4</sub>DNA聚合酶(10 U/(L)) 1.5 μL, 加水至终体积100 μL,于13℃处理20 min;75℃处理10 min。

1.2.4 cDNA的克隆和序列分析 将补平后的cDNA连接到经Sma I酶切的质粒载体pUC19,转化到E. coli DH5α感受态细胞。经酶切鉴定重组质粒。

采用双脱氧核苷酸链终止法在北京赛百盛生物公司的ABI 377型DNA自动测序仪上进行双向的序列测定。序列测定结果采用DNASIS和PROSIS软件进行分析。

## 2 结果

### 2.1 插入片段的序列分析

插入片段的序列如图1所示,这段核苷酸序列由一个长为1 044 bp的开放阅读框架(open reading frame, ORF),279 bp长的3'末端非编码区序列(3'-untranslated region, UTR)及poly(A)尾巴组成。在这个长为1 044 bp的ORF中包括病毒的完整外壳蛋白(capsid protein, CP)序列及部分核内含体蛋白b(nuclear inclusion b, NIb)序列。因为病毒采用翻译后修饰进行蛋白的编译,整个病毒核酸序列只有一个大的ORF,由一个起始密码子ATG决定氨基酸编码的起始位置,所以所得序列的ORF并非始于ATG。NIb和CP之间的蛋白酶切位点是根据Dougherty<sup>[6]</sup>的分析结果(NIb和CP间位点为Vx-HQ/S, A)及与其他已知序列分析比较得到的<sup>[7]</sup>。在NIb和CP序列的下游存在着DAG这样的氨基酸序列结构,位于该部位的此结构被认为与蚜虫传播相关<sup>[8,9]</sup>。

### 2.2 病毒外壳蛋白基因核苷酸序列分析与比较

将SCMV-CA外壳蛋白的核苷酸序列和氨基酸序列与SCMV亚组各株系、分离物进行比较,结果表明SCMV-CA与这些株系或分离物的核苷酸序列同源性介于63.7~77.6%之间;而氨基酸序列的同源性有些明显高于核苷酸序列,最高可达89%。此外对各病毒株系或分离物的N-末端序列和核心区序列也进行了同源性的比较,结果发现SCMV-CA与大部分株系或分离物核心区序列的同源性均在90%左右,最高可达93%。

进一步比较我国大陆分离物SCMV-CA与SCMV

L D V Y Y T Q F I K D L P E Y V E D E I I D V F \*H  
 5' CIG GAT GPP TAT TAT ACA CAA TTT ATC AAA GAT TTA CCT GAG TAT CTG GAA GAT GAG TTA ATT GAT GTG TTT CAI 75  
 Q ↓ A G G D T Y **D A G** A A T A H A T A W A Q R E A A  
 CAA GCA CGG GCA GAC AGG GTC GAT GCG GCA CCT AAC ACA GCA GAT GCA AGC GCA CAA GCA GCA GAG GCT GCA 150  
 A K A Q Q D A D A K K R A D D E A A I K Q R Q D A.  
 GCA AAA CCC CAA CAG GAT GGC GAT GUG AAA AAG ACA GAT GAT GAA GCA GCA GAG AAA CAG ATA CAA GAT GCT 225  
 A A K K K A D D D A K A K A D A H A K K K A D D E  
 GCT GCA AAG AAG AAA GCT GAC GAT GAT GCT AAA GCA AAA GCG GAT GCT GAT GCG AAA AAG AAA GCA GAT GAC GAA 300  
 A A Q R A Q N Q K D K D V D Y G T S G T V T V P K  
 GCA GCG CAG AGA GCA CAA AAT CAG AAA GAT AAA GAC GTP GAT GTP GCA AGC TCA GGC AUA UTC ACA GTC CCA AAA 375  
 I K A M S K K M R I P Q A R G K N I I H I D E I  
 CTC AAA CCT ATC TCC AAG AAG ATG CCT TTG CCA LAA GCA AAA GGA AAG AAT ATT TTA CAT UTC GAT TTC CTA UTC 450  
 G Y K P Q Q Q D I S N I R A ? R A E I D R W Y A A  
 GCA TAC AAG CCA CAA CAG CAA GAC ATC TCA AAC ACA CCA GCA AGC GCA GAG TTT GAT AGG TGG TAT GCA GCG 525  
 V Q K F Y I E D D T Q W I D Y M S G I M A W C I E  
 GTC CAA AAA GAA TAT GAA CCT GAT GAC ACA CMA ATG ACA GAT GTC ATG ATG ATG GCA UTC ATG GCA TGG TGT ATG GAA 600  
 N G C S P N I S G Y W I M M D G I E Q R T I P E K  
 AAT GTC TCA CGG AAT ATC AAT GGT GTP TGG AUC ATG AAT GAT GCA GAA GAA CAA AGA AAT TTT CCT TTA AAC 675  
 P I E N A S P E I R Q I W H H F S H A A I A Y I  
 CTA AIA AAT GAA AAT GCT TCT CCA ACA TTT ATG CAG AAT AAT CAT CAC TTT AGT GAT GCA GAT GTC TAT AIA 750  
 I Y R N S E I R Y W P R Y G I Q R N I E D Y N I A  
 GAA TAC CGT AAG TCA AUG GAA CGG TAC ATG UCA AGA TAU GCA CTT CAG CGA AAC TIA ACC TAC AAC TIA GCA 825  
 R Y A I D P Y L I T S R I I A R A K F A D M Q W K  
 CGT TAT GCT TCT GAT TTC TAT GAC AAC ACA TCA CGT AGC AIA GCA CGT GCT AAG GAG GGC TAC AAC CAG ATG AAA 900  
 A A A V R G S N T R W I E G L D G N V G I S Q I N I  
 GTC TCA GCA GTC CGT GGC TCA ATG AUC CGG ARG TTC GTC TGG TAT GGC AAT GTC GTC GAG TCC CAG GAG ATG ACT 975  
 I R H I A G D V S R N W H T L L G V Q' Q H Q \*  
 GAA CGT CAC ATG ATC GTC GGC GTC ATG CGC AAC ATG CAC AGC ACC CTT CTT GGG CGG CAN CAN CGC CAA TGA CGC GAC 1050  
 GCA AAT CTC GTC TGC AGC AAT TAA TTA TTA TAT ATA TAT CTC AAT GTC GTC AGG CGC CGC TGC CTC GTC AGC ATA ATA 1125  
 TAT AAT TAC TTT CAA AGC AAT TAC TAT TCT GCA AGG GAG TGA GCA CTC ATG CTC CGA GCT TTT AGT AGC TAC TTT 1200  
 AAT AAC TGC GAA TCA CTA GAC CGA CGM PCT GPP GPG TGG CGC CGC TGC TAC GAT GCA GAT GCT GCG AGT CTC GIG GCA 1275  
 AGA GAC AAA AAA AAA AAA AAA 3' 1298

图1 SCMV-CA基因组3'末端核苷酸序列及推得得到的氨基酸序列

图中包括SCMV-CA的3'端的1296个核苷酸及推得得到的一个ORF的氨基酸序列。ORF终止密码子的位置用\*表示，NtB和CP间的蛋白酶切位点用垂直的箭头隔开，与蚜虫传播有关的序列用方框表示。

Fig.1 Nucleotide and derived amino acid sequences of the 3' termini of the SCMV-CA genome.

The sequence of the 3' terminal 1296 nucleotides of the SCMV-CA genome is shown together with the derived protein sequence of the open reading frame which extends to the termination codon (\*). The putative cleavage site is indicated by the vertical arrow. The DAG motif thought to be involved in the aphid transmission is shown in box.

亚组中具有代表意义的9个株系氨基酸序列<sup>[10-12]</sup>，结果(图2)表明：在SCMV亚组的大部分株系或分离物中发现在CP N-末端区域具有一定的

重复序列，且有多种重复形式，这是病毒CP同源性较低的主要部分。SCMV-CA的N-末端序列同样有重复序列，存在形式与高粱花叶病毒(sorghum

SCMV-A	AG	TVDAGAQGGGNVGTQPPATGAAQGAQPPATGAAQPPATQGS --- QPPTGGA
SCMV-D	AG	TVDAGAQGGGNAGTQPPATGAAQGAQPPATGAAQPPAAQ ----- PTGGA
SCMV-SC	AG	TVDAGAQGGGNAGTQPPATGAAQGAQPPATGAAQPPATQGS --- QLPQGGA
SCMV-SA	AG	TVDAGAQEGGGNAGTQPPATGAAQGAQPPATGAAQPPATQGS --- QPPTGGA
SCMV-HOE	SG	SVDAGAQGGNSGASASA ----- AGSGSGTRPPSTGSAQGNTPPASGG
SCMV-MDB	SG	TVDAGAQGGSGSQGTTPATGSGAKPATSGAGSGSGTGAGTGVQQARTGSGTGT
MDMV-A	AGEN	VDAQKQT ----- DAQKEAEKKAAE -----
SrMV-SCH		AGGGTVDAGATTAEATAQAQRDAAAKAQRDADAKKADDEAAERQRQDAAAKKKADDDAK
SrMV-SCM		AGGGTVDAGAATAEATAQAQRDAAAKAQRDADAKKADDEAAERQRQEAACAKKKADDDAK
SCMV-CA		AGGDTVDAGANTADATAQAQREAAAKAQQDADAKKRADDEAAEKQRQDAAAKKKADDDAK
CONSENSUS		

★

SCMV-A	TGGGGAQ -----	VTGGQRDKDVDAAGTTGK1TVPKLKAMS
SCMV-D	TGGGGAQGTGAGGT	----- VTGGQRDKDVDAAGTTGK1TVPKLKAMS
SCMV-SC	TGGGGAQGTGAGGTG	----- VTGGQRDKDVDAAGTTGK1TVPKLKAMS
SCMV-SA	TGGGGAQGTGTATGA	----- VTGGQRDKDVDAAGTTGK1TVPKLKAMS
SCMV-HOE	SSCNNGGQSGSNGTGGQAGSSG	----- TGGQRDKDVDAAGSTGK1SVPKLKAMS
SCMV-MDB	<u>GSGATGGQSGSGSGTEQVNNTGAGTNA</u>	----- TGGQRDRDVDAAGSTGK1SVPKLKAMS
MDMV-A	EKKAKEAEAKQK-----	ETKEKSTEKTGDGGS1GKDVKDVDAAGTSGSVSPKLKAMS
SrMV-SCH	AKADADAKAKS -----	DADAKKKADDEAASKARNQKDVKDVDAVGTSQTVAVPKLKAMS
SrMV-SCM	AKADADAKA -----	DADAKKKADDEAANKAQNQKDVKDVDAVGTSQTVAVPKLKAMS
SCMV-CA	AKA -----	DADAKKKADDEAAQRAQNQKDVKDVDAVGTSQTVAVPKLKAMS
CONSENSUS		DV G P

SCMV-A	KKMRLPKAKGKDVLHLDFLI.TYKPQQQD1SNTRATRREEFDRWYEAIKKKEYEIDDTQMTVV
SCMV-D	KKMRLPKAKGKDVLHLDFLI.TYKPQQQD1SNTRATRREEFDRWYEAIKKKEYEIDDTQMTVV
SCMV-SC	KKMRLPKAKGKDVLHLDFLI.TYKPQQQD1SNTRATRREEFDRWYEAIKKKEYEIDDTQMTVV
SCMV-SA	KKMRLPKAKGKDVLHLDFLI.TYKPQQQD1SNTRATRREEFDRWYEAIKKKEYEIDDTQMTVV
SCMV-HOE	KKMRLPKAKGKDVLHLDFLI.TYKPQQQD1SNTRATRREEFDRWYEAIKKKEYEIDDTQMTVV
SCMV-MDB	KKMRLPKAKAKDVLHLDFLI.TYKPQQQD1SNTRATRKEEFDRWYDALKKEYEIDDTQMTVV
MDMV-A	KKMRLPQAKGKN1LHIDFLKYKPQQQD1SNTRATRKEEFDRWYDALKKEYEIDDTQMTVV
SrMV-SCH	KKMRLPQAKGKN1LHLDFLLGYKPQQQD1SNTRATRKEEFDRWYDALKKEYEIDDTQMTVV
SrMV-SCM	KKMRLPQAKGKN1LHLDFLLGYKPQQQD1SNTRATRKEEFDRWYDALKKEYEIDDTQMTVV
SCMV-CA	KKMRLPQAKGKN1LHLDFLLGYKPQQQD1SNTRATRKEEFDRWYDALKKEYEIDDTQMTVV
CONSENSUS	K P G H L Y P Q N R A I Q F W Y Y M

SCMV-A	MSGIMWWCTENGCSPTNINGSWTMMDGDEQRVFPI.KPV1ENASPTI.RQ1MIIIPSDAAEAYI
SCMV-D	MSGIMWWCTENGCSPTNINGSWTMMDGDEQRVFPI.KPV1ENASPTI.RQ1MIIIPSDAAEAYI
SCMV-SC	MSGIMWWCTENGCSPTNISGSWTMMDGDEQRVFPI.KPV1ENASPTI.RQ1MIIIPSDAAEAYI
SCMV-SA	MSGIMWWCTENGCSPTNINGSWTMMDGDEQRVFPI.KPV1ENASPTI.RQ1MIIIPSDAAEAYI
SCMV-HOE	MSGIMWWCTENGCSPTNINGSWTMMDGDEQRVFPI.KPV1ENASPTI.RQ1MIIIPSDAAEAYI
SCMV-MDB	MSGIMWWCTENGCSPTNINGSWTMMDGDEQRVFPI.KPV1ENASPTI.RQ1MIIIPSDAAEAYI
MDMV-A	MSGIMWWCTENGCSPTNINGSWTMMDGDEQRVFPI.KPV1ENASPTI.RQ1MIIIPSDAAEAYI
SrMV-SCH	ASGLIMWWCTENGCSPTNINGSWTMMDGDEQRKFPI.KPV1ENASPTI.RQ1MIIIPSDAAEAYI
SrMV-SCM	ASGLIMWWCTENGCSPTNINGSWTMMDGDEQRKFPI.KPV1ENASPTI.RQ1MIIIPSDAAEAYI
SCMV-CA	MSGIMAWCTENGCSPTNINGSWTMMDGELQR1FPLKPT1ENASPTI.RQ1MIIIPSDAAEAYI
CONSENSUS	NG WYWC1ENGCSPTN G W MM DG Q Y P P A P R Q I M II IP S D A A E A Y I

SCMV-A	EYRNSIERYMPRYGLQRNLTDYSLARYAFDIYEMNSRTIPARAKLAHMQMKAAVRGSNTR
SCMV-D	FYRNSTEREYMPRYGLQRNLTDYSLARYAFDIYEMNSRTIPARAKEAHMQMKAAVRGSNTR
SCMV-SC	CYRNSTEREYMPRYGLQRNLTDYSLARYAFDIYEMNSRTIPARAKEAHMQMKAAVRGSNTR
SCMV-SA	EYRNSIERYMPRYGLQRNLTDYSLARYAFDIYEMNSRTIPARAKLAHMQMKAAVRGSNTR
SCMV-HOE	EYRNSIERYMPRYGLQRNLTDYSLARYAFDIYEMNSRTIPARAKEAHMQMKAAVRGSNTR
SCMV-MDB	CYRNSTEREYMPRYGLQRNLTDYSLARYAFDIYEMNSRTIPARAKEAHMQMKAAVRGSNTR
MDMV-A	EYRNSTEKMPRYALQRNLTDYSLARYAFDIYEISSRTIPVRAKEAHMQMKAAVRGSNTR
SrMV-SCII	EYRNSTEREYMPRYGLQRNLTDYSLARYAFDIYEITSRTIPARAREAHMQMKAAVRGSNTR
SrMV-SCM	EYRNSTEREYMPRYGLQRNLTDYSLARYAFDIYEITSRTIPARAREAHMQMKAAVRGSNTR
SCMV-CA	EYRNSTEREYMPRYGLQRNLTDYSLARYAFDIYEITSRTIPARAKLAHMQMKAAVRGSNTR
CONSENSUS	F RN YMPRYGL RNL D LARYAFDIYE T P RAREAH MQMKA AVRGSNTR
※	
SCMV-A	LFGLDGTVGETQENTERHITAGDVSFGLDGNNMHSI LGVQQHII*
SCMV-D	LFGLDGTVGETQENTERHTAGDVSFGLDGNNMHSI LGVQQHII*
SCMV-SC	LFGLDGTVGETQENTERHITAGDVS - - - RNMHSI LGVQQHII*
SCMV-SA	LFGLDGTVGETQENTERHITAGDVS - - - RNMHSI LGVQQHII*
SCMV-HOE	LFGLDGTVGETQENTERHTAGDVS - - - RNMHSI LGVQQHII*
SCMV-MDB	LFGLDGTVGETQENTERHTAGDVS - - - RNMHSI LGVQQHII*
MDMV-A	MFGLDGTVGEAHENTERHTAGDVS - - - PNMHSI LGVQQHII*
SrMV-SCII	MFGLDGTVGESQENTERHTAGDVS - - - RNMHSI LGVQQHII*
SrMV-SCM	- - - MIVGESQENTERHTAGDVS - - - RNMHSI LGVQQHII*
SCMV-CA	- - - MIVGESQENTERHTAGDVS - - - RNMHSI LGVQQHII* FGI DG L
CONSENSUS	TERHIT DV - - - MH L G

图2 SCMV-CA与SCMV亚组10成员间CP氨基酸序列比较

★病毒CP氨基酸核心区序列的开始;※病毒CP氨基酸C-末端序列开始;CONSENSUS:马铃薯Y病毒属CP氨基酸序列中存在的高度保守的氨基酸序列;病毒CP氨基酸N端序列存在的重复序列用下划线表示。

Fig. 2 Comparison of the amino acid sequences of the CPs of different SCMV subgroups strains and isolates

★Beginning of the core region; ※ Beginning of the C-terminal region; CONSENSUS: Highly conserved amino acids of potyviral CPs; the amino acids underlined show the repeated sequence in the N-terminal region.

mosaic virus, SrMV)各株系的基本相同。根据马铃薯Y病毒属一些代表种已知序列所确定的该属CP氨基酸保守序列<sup>[13]</sup>,在SCMV-CA的氨基酸序列中也较充分地体现了出来,如:MVWCIEENGTS等。

### 3 讨论

对于马铃薯Y病毒属成员,目前根据序列同源性进行种和株系鉴定的一个主要标准包括外壳蛋白(CP)基因氨基酸/核苷酸序列的同源性、CP基因N末端和核心区氨基酸/核苷酸序列的同源性<sup>[11]</sup>。SCMV是植物病毒中株系分化比较严重的病毒,国际上对该病毒的株系分化的研究深入程度也是不多见的。对于我国SCMV的归属问题除陈宇航等<sup>[3]</sup>根据美国Abbott修改的鉴别系统对我国蔗区采集的分离物进行了初步鉴定外,还未见其它相关的报

道。本研究首次报道了中国大陆SCMV优势株系A株系的3'末端基因序列,为我国SCMV的分类鉴定在分子生物学水平上提供了一个重要的依据。

将SCMV-CA3'末端基因序列与已知SCMV亚组中的主要株系或分离物进行序列同源性的比较,发现SCMV-CA与这些株系的序列同源性处于马铃薯Y病毒属划分种和株系标准的过渡区域范围内:CP基因的氨基酸/核苷酸序列的同源性介于64%~89%之间,核心区序列的同源性在84%~93%之间,而同种病毒的核心区序列同源性应在92%以上<sup>[15]</sup>。应该如何看待这种介于种和株系间的同源关系,目前还没有定论。但是随着越来越多SCMV亚组中的株系或分离物3'末端基因组序列的测定,人们发现这种不同分离物间介于种与株系间的同源性关系的现象并非偶然。

分析 CP 基因的同源性相差较大的原因, 主要与 N-端序列的变异有关, 这种变异表现在核苷酸/氨基酸的顺序和序列长度两方面。Frenkel 等<sup>[16]</sup>首先提出该部位存在的重复序列是导致同源性降低的一个重要原因。如果不考虑 N 端序列这个多变因素, 那么 SCMV 亚组各株系和分离物之间的关系就会变得清晰起来。Shukla<sup>[17]</sup>在分析 CP 序列同源性在马铃薯 Y 病毒属中的应用时, 进一步明确了这一说法, 认为 CP 的核心序列间的同源关系应当作为划分病毒不同种的重要标志。根据这个标准, 我国大陆分离物 SCMV-CA 似乎与 SrMV 的同源关系更为接近(图 2)。SCMV-CA 分离物虽然经过 Abbott 的鉴定系统鉴定为 SCMV 的 A 株系, 但根据分子生物学方面的证据发现它与其它国家分离得到的 SCMV-A 的序列同源关系并不是非常接近, 这就对该分离物的最终归属提出了疑问。单纯依靠病毒的基因序列判断病毒的归属显然缺乏足够的说服力, 再加上该病毒严重的株系分化现象的存在, 使我国大陆 SCMV 株系的鉴定更加复杂化, 因此在分子生物学方面, 还需在原有基础上进一步开展研究, 以期得到更好的证据。

## 参考文献

- [1] Rosenthal E. New hosts and taxonomic analysis of the Mississippian native species tested for reaction to maize dwarf mosaic and sugarcane mosaic virus[J]. *Phytopathology*, 1987, 77: 598–607.
- [2] 陆关成, 王恭樟, 朱华荣, 等. 浙江省甘蔗花叶病毒及其防治研究[J]. 浙江农业大学学报, 1984, 10(2): 137–148.
- [3] 陈宇航, 周仲驹, 林奇英, 等. 甘蔗花叶病毒株系的研究[J]. 福建农学院学报, 1988, 17(1): 44–48.
- [4] 周仲驹, 黄如娟, 林奇英, 等. 甘蔗花叶病的发生及甘蔗品种抗性[J]. 福建农学院学报, 1989, 18(4): 520–525.
- [5] 陈启建, 周仲驹, 林奇英, 等. 甘蔗花叶病毒的提纯及抗血清的制备[J]. 甘蔗, 1998, 5(1), 19–21.
- [6] Dougherty W G, Cary S M, Pards T D. Molecular genetic analysis of a plant virus polyprotein cleavage site: a model[J]. *Virology*, 1989, 171: 356–364.
- [7] Handley J A, Smith G R, Dale J L, et al. Sequence diversity in the NIb coding region of eight sugarcane mosaic potyvirus isolates infecting sugarcane in Australia[J]. *Arch Virol*, 1996, 141: 2289–2300.
- [8] Atreya C D, Raccah B, Pirone T P. A point mutation in the coat protein abolishes aphid transmissibility of a potyvirus[J]. *Virology*, 1990, 178: 161–165.
- [9] Atreya P L, Atreya C D, Pirone T P. Amino acid substitutions in the coat protein result in loss of insect transmissibility of a plant virus[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 7887–7891.
- [10] Handley J A, Smith G R, Dale J L, et al. Sequence diversity in the coat protein coding region of twelve sugarcane mosaic potyvirus isolates from Australia, USA and South Africa[J]. *Arch Virol*, 1998, 143: 1145–1153.
- [11] Oertel U, Schubert J, Fuchs E. Sequence comparison of the 3'-terminal parts of the RNA of four German isolates of sugarcane mosaic potyvirus (SCMV) [J]. *Arch Virol*, 1997, 142: 675–687.
- [12] Yang Z N, Mirkov T E. Sequence and relationships of sugarcane mosaic and sorghum mosaic virus strains and development of RT-PCR-based RFLPs for strain discrimination [J]. *Phytopathology*, 1997, 87: 932–939.
- [13] Schubert J, Rabenstein F. Sequence of the 3'-terminal region of the RNA of a mite-transmitted potyvirus from *Hordeum murinum* L.[J]. *Eur J Plant Pathol*, 1995, 101: 123–132.
- [14] Ward C W, McKern N M, Frenkel M J, et al. Sequence diversity is the major criterion for potyvirus classification[J]. *Arch Virol Suppl.*, 1992, 5: 283–297.
- [15] Shukla D D, Ward C W. Amino acid sequence homology of coat proteins as a basis for identification and classification of the potyvirus group[J]. *J Gen Virol*, 1988, 69: 2703–2710.
- [16] Frenkel M J, Jilka J M, McKern N M, et al. Unexpected diversity in the amino terminal ends of the coat proteins of sugar cane mosaic virus[J]. *J Gen Virol*, 1991, 72: 237–242.
- [17] Shukla D D, Ward C W, Brunt A A. *The potyviridae* [M]. Center for Agriculture and Biosciences International, Cambridge: Cambridge University Press, 1994.