第19卷6期
2004年11月

中国病毒学
VIROLOGICA SINICA

19（6）：602-606
November 2004

中国淋巴囊肿病毒胸苷酸合酶基因结构特点及分析*

赵 哲[1,2]，张奇亚[1**]

（1. 中国科学院水生生物研究所，淡水生态与生物技术国家重点实验室，湖北武汉 430072；2. 中国科学院研究生院，北京 100039）

Structure Analysis of Thymidylate Synthase Gene from LCDV-C

ZHAO Zhe，ZHANG Qi-ya**

(1. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 2. Graduate school, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: Thymidylate Synthase (TS) is an enzyme involved in making one of the major building blocks for DNA deoxythymidylic acid (dTMP), and plays a critical role in cell growth and division and is overexpressed in the majority of cancers. Lymphocystis disease virus (LCDV) belong to *iridoviridae*, and the causative agent of lymphocystis disease, which has been reported to occur in over 100 different fish species worldwide, and viral infection that causes cells to become megaloblastic, thus forming small tumors (bumps or growths). The complete nucleotide sequence of the LCDV-C genome was recently determined. Among the sequenced vertebrate iridoviruses, lymphocystis disease virus isolated from China (LCDV-C) is of the largest genome. Computer-assisted analysis revealed the potential open reading frames ORF 011L of LCDV-C was TS gene, the first report of complete TS gene from vertebrate iridoviruses. The LCDV-C TS gene consists of 858 bp in length with a base composition of 28.2% G+C, and encoded a protein of 286 amino acids with a predicted size of 32.7KD. Comparison of the LCDV-C TS to TS from *Chilo* iridescent virus(CIV), *Ambystoma tigrinum* virus (ATV) and tiger frog virus (TFV) three iridoviruses and other sixteen species, showed extensive amino acid similarities of TS between four iridoviruses and other species. The predicted LCDV-C TS amino acid sequences contain the folate-binding site in 44-70 residues and dUMP-binding site in 163-206 residues. The secondary structure of LCDV-C TS was predicted with 8 alpha helixes, 6 beta sheets and 23 loops, showed the structure flexible and torsional rotation. Phylogenetic tree was constructed based on the multiple alignments of TS amino acid sequences from twenty species, and LCDV-C TS is a branch alone.

Key words: Lymphocystis disease virus; Thymidylate synthase gene; Structure analysis

摘要：胸苷酸合酶（Thymidylate synthase, TS）是进行DNA合成所必需的酶类，与细胞分化及肿瘤发生密切相关。淋巴囊肿病毒属于虹彩病毒科成员，是能引起百余种淡、海水鱼感染，并产生肿瘤的病毒病原。在已完成中国淋巴囊肿病毒株（Lymphocystis disease virus-China, LCDV-C）基因组序列测定的基础上，本文对位于LCDV-C基因组开放阅读框ORF 011L的TS基因结构、及其推定蛋白结构进行了分析。该基因全长858bp，GC含量为28.2%，编码一个长为286aa、分子量为32.7kD、等电点为7.1的推定蛋白，称之为中国淋巴囊肿病毒胸苷酸合酶(LCDV-C TS)。该酶所具有的叶酸结合区在第44和70位氨基酸之间，dUMP结合区在第163和206位氨基酸之间，24个必需氨基酸具有高度保守性。二级结构预测结果显示LCDV-C TS含8个α螺旋，6个β折叠和23个环，表明其具备酶活性分子所有的柔性和可变性结构特征。这是迄今所知在脊椎动物虹彩病毒中唯一含两个完整结合区的TS。对来自包括LCDV在内二十个物种的TS结构进行同源性分析，显示LCDV-C TS被单独分为一枝。进一步对LCDV-C TS可能的起源途径及与宿主的作用等进行了探讨。

收稿日期：2004-05-21，修回日期：2004-08-23

* 基金项目：国家863项目(2001AA626030, 2002AA626010)；国家自然科学基金(30170726)；中国科学院及水生生物研究所创新项目(KSCX2-SW-302，220301)。

作者简介：赵哲（1980-），男，在读研究生，研究方向为水生动物病毒及其分子生物学。

** 通讯作者. Corresponding author. Tel: 027-87217792. E-mail:zhangqy@ihb.ac.cn

关键词：淋巴囊肿病毒；胸苷酸合酶基因；结构分析
中图分类号：Q938.8　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1003-5125（2004）06-0602-05

淋巴囊肿病毒（Lymphocystis disease virus，LCDV）属于虹彩病毒科（*iridoviridae*）成员，是在世界各地普遍存在的水产动物病毒病原，可引起100多种淡、海水鱼发生囊肿病[1]。自1997年在我国养殖牙鲆（*Paralichthys olivaceus*）中出现淋巴囊肿病以来，已开展对中国淋巴囊肿病毒病原的分离鉴定、免疫学性质、病理变化等的研究[2,3]。第一株淋巴囊肿病毒（LCDV-1）的全基因组结构于1997年报道后[4]，现有学者对LCDV-1 开放阅读框（Open Reading Frame, ORF）ORF 167L编码基因及表达产物进行了研究[5]。由于LCDV感染宿主、并引起产生的症状是在表皮和组织粘膜中出现囊肿，因此我们的研究聚焦于LCDV与肿瘤发生相关基因。

胸苷酸合酶（Thymidylate Synthase, TS; EC 2.1.1.45）是在DNA 合成过程中催化 dUMP 转化为 dTMP 的关键酶类，对细胞内重要基因起调控作用[6]，与肿瘤发生密切相关[7,8]。已在疱疹病毒和昆虫绿虹彩病毒(Chilo Iridescent Virus, CIV)中鉴定了TS 基因，但在虎纹钝口螈病毒（Ambystoma tigrinum Virus, ATV）及虎纹蛙病毒（Tiger Frog Virus, TFV）这两种脊椎动物虹彩病毒中仅存在 TS 基因的部分序列[7,9~11]。在最近完成了已知最大脊椎动物虹彩病毒基因组——中国淋巴囊肿病毒株（LCDV-C）全基因组测序的基础上[1]，我们明确 LCDV-C ORF 011L 含有完整的 TS 基因，这也是第一个完整的脊椎动物虹彩病毒 TS 基因。通过计算机辅助分析，对 TS 基因及其推导产物的结构特征、功能区等进行了分析，并对包括已知虹彩病毒在内二十个物种的 TS 基因结构异同进行了比较。

1　材料和方法

1.1　LCDV-C 及其基因组序列

从沿海某养殖区采集有典型淋巴囊肿症状的患病牙鲆（*Paralichthys olivaceus*），从患病组织中分离纯化LCDV-C病毒，并制备病毒核酸，通过鸟枪法测序后在GenBank中登录，登录号为No.AY 380826[1]。

1.2　LCDV-C TS序列分析及系统进化树的构建

将LCDV-C ORF 011L核苷酸序列及其所推测编码的氨基酸序列通过Internet输入到GenBank/EMBL/DDBJ数据库，用Blast程序进行同源性搜索。利用DNAStar和Clustal X等软件对核酸和蛋白质数据进行了分析。利用PHD program进行LCDV-CTS的二级结构预测。利用PSI-Blast程序和GenBank数据库资料，对LCDV-C、三种虹彩病毒和其它十六个不同物种的TS氨基酸序列进行同源性比较，并构建系统进化树，分析同源性大小及相关性。

```
                                                                    TTAAACTATATACAAATGAGTATATAAT
-90 TTAGGTGTTAAAGGGTGAATATCCTTCACACACCAATAATACTAATGTGTTTAGAGTTAAAGGGTTAAAAGATTACTGTTTAATTTAAAA
  1 ATGGCTAATGAAGAAGGTTATTTAAATCAACTTAAGTATATTTTAGCAAATGGAAGACTTAAAATTGATAGAACTGGAACAGGTACTCTT
  1  M  A  N  E  E  G  Y  L  N  Q  L  K  Y  I  L  A  N  G  R  L  K  I  D  R  T  G  T  G  T  L
 91 TCAGTATTTGGTTTACAGAATAGATATGATTTAAGTACATTCCCTTTATTCACTACAAAAAGAATGTTTTGGCGTGGAATAGTAGAAGAA
 31  S  V  F  G  L  Q  N  R  Y  D  L  S  T  F  P  L  F  T  T  K  R  M  F  W  R  G  I  V  E  E
181 CTTTTATGGTTCCTTAAAGGATCTACAAATTCTTTAAATTTATCAAAAAAATCTGTACATATTTGGGATGCTTATGGATCAAAATCTAAT
 61  L  L  W  F  L  K  G  S  T  N  S  L  N  L  S  K  K  S  V  H  I  W  D  A  Y  G  S  K  S  N
271 TTAAATCGATTAGGATTTAATCATCGTGAAGAAGGTGATTTAGGTCCTATTTATGGGTTTCAATGGAGACATTTTGGAGCTAATTATATA
 91  L  N  R  L  G  F  N  H  R  E  E  G  D  L  G  P  I  Y  G  F  Q  W  R  H  F  G  A  N  Y  I
361 AATTGTCATACTAATTATGAAGGTCAGGGTATAGATCAATTACAAATAATTATAACAAAATTAAAAACAAATCCAAATGATAGACGTATT
121  N  C  H  T  N  Y  E  G  Q  G  I  D  Q  L  Q  I  I  I  T  K  L  K  T  N  P  N  D  R  R  I
451 TTAATGACTGCTTGGAATCCATCTGATATAGATCAGGCTGTTTTACCTCCATGTCATGTATTGTGTCAATTTTATGCTATAGACAATATT
151  L  M  T  A  W  N  P  S  D  I  D  Q  A  V  L  P  P  C  H  V  L  C  Q  F  Y  A  I  D  N  I
541 TTATCTTGTCAATGTTATCAAAGATCAGCAGATATGGGATTAGGTGTACCTTTTAATGTAGCTTCTTATGCATTATTAACATATTTTAATT
181  L  S  C  Q  C  Y  Q  R  S  A  D  M  G  L  G  V  P  F  N  V  A  S  Y  A  L  L  T  Y  L  I
631 GCTCAAGCTGTTGATATGAAACCAGGTGAATTTATTCATACGCTAGGAGATGCTCATATTTATTTAGATCATATAAAAGCTATAAAAGAA
211  A  Q  A  V  D  M  K  P  G  E  F  I  H  T  L  G  D  A  H  I  Y  L  D  H  I  K  A  I  K  E
721 CAATTAACTCGATCAATAAAACCTTCACCTGTTGTAATATTAAAAAAAAAGTCTGATAATTTATGTGATTTTAAATTTGAAGATTTTGAA
241  Q  L  T  R  S  I  K  P  S  P  V  V  I  L  K  K  K  S  D  N  L  C  D  F  K  F  E  D  F  E
811 TTGTTAGATTATAATCCTCATCCAGCTATCTCGTTAGATTTATCTATTTAACTTTTTTAAAAACTAGGTATTAGGCTAAACTAATGCATT
271  L  L  D  Y  N  P  H  P  A  I  S  L  D  L  S  I  *
```

图 1 LCDV-C TS 基因核苷酸序列、推导的氨基酸序列及二级结构预测结果

Fig.1　Complete nucleotide sequence of LCDV-C TS gene, the deduced amino acid sequence and secondary structure of LCDV-C TS. Start and stop codon are presented in boldface type. Deduced signals for transcription and polyadenylation are boxed. Prediction was underlined as the reliability is over 82%, beeline indicates α helix, undee line indicates β sheet and broken line indicates loop.

表 1 不同的虹彩病毒 TS 基因及其产物比较

Table 1 Comparative analysis of TS and TS gene in different iridoviruses

	GC%[a]	Length(aa)	Mw(kDa)[b]	pI[c]
LCDV-C	28.2	286	32.7	7.1
CIV	27.5	295	33.9	8.5
TFV	55.4	124	14.0	5.2
ATV	55.6	95	11.0	5.2

a. G+C Content; b.Molecular Weight "-"; c.Isoelectric Point.

LCDV-C, lymphocystis disease virus isolated from China; CIV, *Chilo* Iridescent Virus; TFV, Tiger Frog Virus; ATV, *Ambystoma tigrinum* Virus.

2 结果

2.1 LCDV-C TS 基因及编码产物特征

LCDV-C TS 基因全长 858bp, GC 含量为 28.2%, 和 LCDV-C 全基因组的 GC 含量 27.25%相近; 在起始密码子 ATG 上游-93 和-107 位置有两个典型的 TATA 框, -54 位置有 CAAT 基序, 在终止密码子 TAA 下游有 Poly(A)结构信号(图 1)。LCDV-C TS 基因编码一个含 286aa 的推定蛋白, 其分子量为 32.7kD, 等电点(pI)为 7.1。包括 LCDV-C TS 基因在内, 现已鉴定出含 TS 基因全长或部分序列的虹彩病毒共有 4 株, 所编码蛋白的分子量大小及其等电点等性质有所不同 (表 1); 昆虫虹彩病毒 CIV (*Chilo* Iridescent Virus)TS 为 295aa, 仅比 LCDV-C TS 多 9 个氨基酸; 但虎纹蛙 TFV (Tiger Frog Virus) 和虎纹钝口螈 ATV(*Ambystoma tigrinum* Virus)这两种脊椎动物虹彩病毒仅含 TS 基因片段, 推测其编码的TS 各含 124aa 和 95aa 残基, 分别比LCDV-C TS 要短 162 和 191 个氨基酸, 显示 LCDV-C TS 基因为第一个报道的完整的脊椎动物虹彩病毒 TS 基因。

2.2 LCDV-C TS 功能区定位及不同虹彩病毒 TS 功能位点的异同

经分析表明, 在第44至70位、和第163至206位氨基酸残基之间, 分别是LCDV-C TS的叶酸结合区(folate-binding site) 和 dUMP 结合区(dUMP-binding site)(图2), 这是TS发挥功能必不可少的两个功能区[12]。进一步用ClustalX软件对LCDV-C TS 进行比对分析, 显示在与底物作用最佳位置所必需的24个氨基酸残基中, LCDV-C与其它已知物种TS 有高度保守性[13], 如酶的催化活性位点 (PCH) 处有 Pro167、Cys168和His169 三个氨基酸。此外, 对四种虹彩病毒的TS功能位点比较, 虽然显示昆虫虹彩病毒CIV TS 在第48至74位、在第162至210氨基酸位点处, 也具有与叶酸和dUMP结合的两个功能区, 但两种脊椎动物虹彩病毒, 其一, TFV TS 缺失了dUMP结合区上游的所有氨基酸; 其二, ATV TS不仅缺失dUMP结合区上游的所有氨基酸, 还缺失了dUMP结合中的大部分氨基酸残基, 包括PCH 位点。

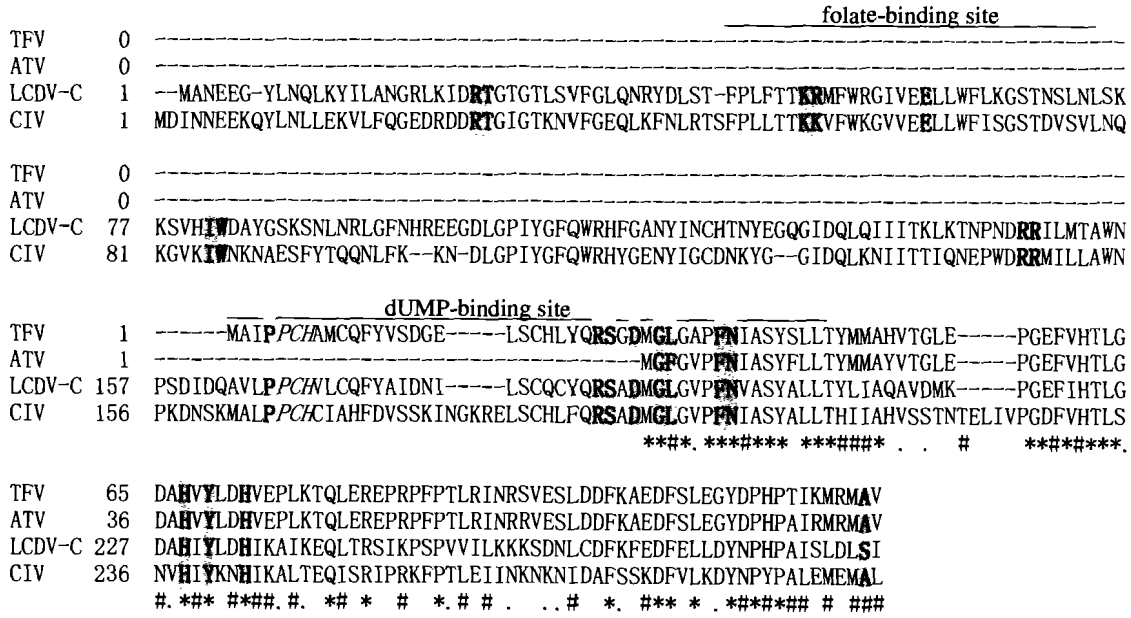

图 2 四种虹彩病毒 TS 氨基酸序列比对结果

Fig .2 Alignment of the amino acid sequence of the TS from different iridoviruses.

Identical amino acids are denoted by asterisks, the dot indicates the position of well conserved amino acids. Dashes indicate artificial gaps that have been introduced to achieve maximal amino acid matching. The critical amino acid residues for catalytic function are presented in italics, other 21 required amino acid residues are presented in boldfaced letters with gray background

2.3 LCDV-C TS 二级结构及其特性

利用 PHD 程序对 LCDV-C TS 的二级结构进行预测的结果表明，含有 8 个 α 螺旋，6 个 β 折叠和 23 个环状结构，这些结构已分别在图 1 中标出。由于环状结构丰富，显示 LCDV-C TS 具有高度的柔性和可变性，这也是酶类活性分子所特有的结构特征。

2.4 LCDV-C 与不同物种 TS 的同源关系及系统进化树

将LCDV-C和其它19个物种的TS氨基酸序列进行了比对，并构建了系统进化树（图3）。结果显示LCDV-C TS与人类同源性最高为61%，与T4噬菌体最低为36%，而与CIV的同源性居中为47%（表2）。在系统进化树中，二十个物种的TS被分为两个类群，十八个物种形成真核生物及其病毒类群，另一类群则由原核生物及其病毒形成。LCDV-C TS与其它虹彩病毒虽处在同一类群，但它们并不在一枝，LCDV-C TS成为单独的一枝。这为深入了解LCDV-C TS的进化、起源及与宿主相互作用的机理提供了新的启示。

表2 来源于二十个不同物种的胸苷酸合酶（TS）含氨基酸数量及同源性比

Table 2 Comparison of length and homologies in amino acids of thymidylate synthase（TS）from twenty species.

Name	Species[a]	Accession Number	Amino acids number	Identity/ Similarity(%)
中国淋巴囊肿病毒株(Lymphocystis disease virus-China)	V	AY380826	286	100/100
人(*Homo sapiens*)	A	X02308	313	61/77
小鼠(*Mus musculus*)	A	M13019	307	60/77
挪威大鼠(*Rattus norvegicus*)	A	L12138	307	59/77
斑马鱼(*Danio rerio*)	A	AY005804	319	60/77
松鼠猴疱疹病毒(*Saimiri* Herpesvirus[b])	V	M86409	294	60/76
蛛猴疱疹病毒(*Ateles* Herpesvirus[b])	V	M22036	291	59/74
猴疱疹病毒 (*Ateline* herpesvirus[b])	V	T42984	290	60/75
玉米夜蛾病毒 1 型(*Heliothis zea* virus 1)	V	AF264019	291	54/72
昆虫绿虹彩病毒(*Chilo* iridescent virus)	V	AF303741	295	47/66
虎纹蛙病毒(*Rana tigrina* ranavirus（TFV）)	V	AF389451	124	53/72
虎纹钝口螈病毒(*Ambystoma tigrinum* virus)	V	AY150217	95	52/75
酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)	F	J02706	304	57/72
白色念珠菌(*Candida albicans*)	F	J04230	315	55/69
旋毛形线虫(*Trichinella spiralis*)	N	AAF80470	307	56/72
秀丽引杆虫(*Caenorhabditis elegans*)	N	AF099673	315	53/72
玉米(*Arabidopsis thaliana*)	P	L08593	518	55/74
拟南芥菜(*Zea mays*)	P	AF073488	521	54/73
大肠杆菌(*Escherichia coli*)	B	J01710	264	44/64
T_4噬菌体(Bacteriophage T4)	V	M12742	286	36/56

Note: a.Abbreviation of species: A, animal; V, virus; P, plant; F, fungi; N, nematode; B, bacterium

b.They are subfamilies of herpesvirus

3 讨论

已证实 DNA 病毒基因能编码有功能的细胞蛋白同系物，包括在复制、转录和核酸代谢中所需的酶类、及干扰细胞周期调控和宿主免疫系统的蛋白因子等[14-16]。虹彩病毒也有编码细胞蛋白同系物的基因[1,4,9~11,17]，TS 基因就是其中之一。由于 TS 在 DNA 合成、细胞分化及肿瘤形成中有重要作用，因此病毒的 TS 研究倍受关注。

现已报道了七株虹彩病毒全基因组序列[1,4,9~11,17,18]，LCDV-C是其中六个脊椎动物虹彩病毒中唯一具有完整TS基因的毒株。本研究揭示，LCDV-C的TS基因能编码具备两个功能区、24个保守功能位点、有柔性和可变性结构特征的酶。另外本文所绘制的TS氨基酸序列系统进化树显示：真核生物及其病毒为一个类群，原核生物及其病毒则为另一个类群，这为病毒TS基因来源于宿主提供了佐证。LCDV-C TS独处一枝，提示脊椎动物虹彩病毒在与宿主长期相互作用中，可能会使某些功能基因重新形成或完全改变，且可凭借自身携带的TS基因及其产物进行DNA复制，这为其感染新的宿主提供了潜在优势。因此，深入探讨LCDV-C TS的起源问题，将有可能获得关于LCDV为何分布极为广泛的重要信息。

部分有囊膜的双链 DNA 病毒复制后，以出芽方式从宿主细胞膜中获得囊膜[19]，同时可使宿主机体的体表皮肤和内脏粘膜产生囊肿。目前对携带有 TS 基因的病毒研究较多的是疱疹病毒[7]。疱疹病毒

具有与虹彩病毒类似的形态结构及成熟方式。疱疹病毒均以引起宿主皮肤和粘膜的疱疹性病变为特征，这一点也与LCDV引起鱼类产生囊肿相似。疱疹病毒使宿主产生疱疹，可能与TS对宿主细胞内p53基因的表达抑制作用有关，并推测TS在疱疹病毒诱导肿瘤发生时起作用[7]。尤其值得关注的是，最近有报道指出，将人类TS基因在体内外异位表达都能转化鼠类细胞，造成细胞无限增殖和病灶形成，证明TS具有癌基因的活性，可诱导肿瘤[8]。可见，研究LCDV-C的TS，将有助于认识和阐明鱼类LCDV致病的分子机理。

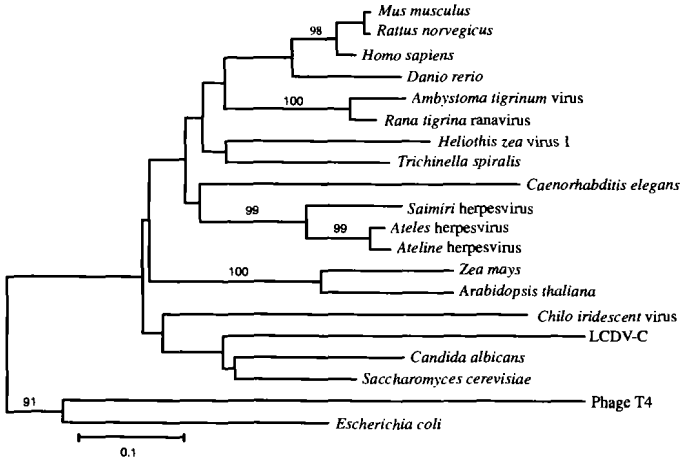

图3 根据20个物种(表2)的TS氨基酸序列构建的系统进化树

Fig.3 Phylogenetic analysis of TS based on the deduced amino acid sequence from 20 different species.

LCDV-C（中国淋巴囊肿病毒株）；*Homo sapiens*（人）；*Mus musculus*（小鼠）；*Rattus norvegicus*（挪威大鼠）；*Dario rerio*（斑马鱼）；*Saimiri* herpesvirus（松鼠猴疱疹病毒）；*Ateles* herpesvirus（蛛猴疱疹病毒）；*Ateline* herpesvirus（猴疱疹病毒）；*Heliothis zea* virus 1（玉米夜蛾病毒1型）；*Chilo iridescent* virus（昆虫绿虹彩病毒）；*Rana tigrina* ranavirus（虎纹蛙病毒）；*Ambystoma tigrinum* virus（虎纹钝口螈病毒）；*Saccharomyces cerevisiae*（酿酒酵母）；*Candida albicans*（白色念珠菌）；*Trichinella spiralis*（旋毛形线虫）；*Caenorhabditis elegans*（秀丽引杆虫）；*Zea mays*（玉米）；*Arabidopsis thalina*（拟南芥菜）；*Escherichia coli*（大肠杆菌）；Phage T_4（T_4噬菌体）。Accession number of 20 species was listed in table 2.

参考文献

[1] Zhang Q Y, xiao F, Xie J, *et al.* Complete Genome Sequence of Lymphocystis Disease Virus (LCDV-C) Isolated from China[J]. J Virol, 2004, 78:6982-6994.

[2] Zhang Q Y, Ruan H M, Li Z Q, *et al.* Infection and propagation of lymphocystis virus isolated from the cultured flounder *Paralichthys olivaceus* in grass carp cell lines [J]. Dis Aquat Org, 2003, 57: 27-34.

[3] 孙修勤，曲凌云，张进兴. 牙鲆淋巴囊肿病毒的病原性与免疫原性[J]. 高技术通讯, 2000, 9:19-21.

[4] Tidona C A, Darai G. The complete DNA sequence of lymphocystis disease virus[J]. Virology, 1997, 230:207-216.

[5] Essbauer S, Fischer U, Bergmann S, *et al.* Investigations on the ORF 167L of Lymphocystis Disease Virus (Iridoviridae) [J]. Virus Genes , 2004, 28:19-39.

[6] Ju J F, Pedersen-lane J, Maley F, *et al.* Regulation of p53 expression by thymidylate synthase[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96: 3769-3774.

[7] Gaspar G, De Clercq E, Neyts J. Human Herpesvirus 8 Gene Encodes a Functional Thymidylate Synthase[J]. J Virol, 2002, 76: 10530-10532.

[8] Rahman L, Voeller D, Rahman M, *et al.* Thymidylate synthase as an oncogene: A novel role for an essential DNA synthesis enzyme[J]. Cancer Cell, 2004, 5:341-351.

[9] Jakob N J, Müller K, Bahr U, *et al.* Analysis of the first complete DNA sequence of an invertebrate iridovirus coding strategy of the genome of *Chilo* iridescent virus[J]. Virology, 2001, 286: 182-196.

[10] Jancovich J K , Mao J, Chinchar V J, *et al.* Genomic sequence of a ranavirus (family Iridoviridae) associated with salamander mortalities in North America[J]. Virology, 2003, 316: 90-103.

[11] He J G, Lü L, Deng M, *et al.* Sequence analysis of the complete genome of an iridovirus isolated from the tiger frog[J]. Virology, 2002, 292:185-197.

[12] Chu F K, Maley G F, Maley F, *et al.* Intervening sequence in the thymidylate synthase gene of bacteriophage T4[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1984, 81:3049-3053.

[13] Carreras C W, Santi D V. The catalytic mechanism and structure of thymidylate synthase[J]. Annu Rev Biochem, 1995, 64:721-62.

[14] Tidona C A, Darai G. Iridovirus homologues of cellular genes-implications for the molecular evolution of large DNA viruses[J]. Virus Genes, 2000, 21: 77-81,

[15] Bugert J J, Darai G. Poxvirus homologues of cellular genes [J]. Virus Genes, 2000, 21: 111-133.

[16] Raftery M, Muller A, Schonrich G. Herpesvirus homologues of cellular genes [J]. Virus Genes, 2000, 21: 65-75. [19]

[17] He J G, Deng M, Weng S P, *et al.* Complete genome analysis of the mandarin fish infectious spleen and kidney necrosis iridovirus[J]. Virology, 2001, 291: 126-139

[18] Tan W G H, Barkman T J, Chinchar V G, *et al.* Comparative genomic analyses of frog virus 3, type species of the genus Ranavirus (family Iridoviridae) [J]. Virology, 2004, 323 :70-84

[19] Zhang Q Y, Li Z Q, Gui J F. Studies on morphogenesis and cellular interactions of *Rana grylio* virus in an infected fish cell line. Aquaculture, 1999, 175:185-197.