

# 猪瘟流行野毒 $E^{ms}$ 基因的序列分析

刘湘涛<sup>1</sup>, 韩雪清<sup>1</sup>, 刘伯华<sup>2</sup>, 赵启祖<sup>1</sup>,  
李明晖<sup>2</sup>, 马军武<sup>1</sup>, 李建强<sup>2</sup>, 谢庆阁<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 中国农业科学院兰州兽医研究所, 兰州 730046; <sup>2</sup> 西北农林科技大学)

摘要: 利用反转录(RT)和 PCR 技术完成了 5 株近期(1997~ 1998 年)猪瘟流行毒和 1 株猪瘟 C-株弱毒疫苗毒(兰州) $E^{ms}$ (或称  $E_0$ )基因的核酸序列测定。通过序列分析发现, 这 5 株流行毒与 C-株疫苗毒的核酸序列同源性的 83%~ 84%; 推导的氨基酸序列同源性的 88%~ 91%, 我国 50~ 60 年代流行的中国石门株(SM)的核酸序列同源性的 85%; 氨基酸序列同源性的 89%~ 91%。而 5 株流行毒间的核酸序列同源性的 91%~ 98%; 氨基酸序列同源性的 94%~ 98%。

关键词: 猪瘟病毒;  $E^{ms}$  基因; 序列分析

中图分类号: S852.65+1 文献标识码: A 文章编号: 0578-1752(2000)04-0075-07

猪瘟病毒(HCV)属黄病毒科瘟病毒属, 为单股正链 RNA 病毒。HCV 的 RNA 长约 12.3Kb, 含有一个大的开读框架(ORF)。位于 5' 端的  $E^{ms}$ (或  $E_0$ )、 $E_1$  和  $E_2$  基因所编码的糖蛋白构成了 HCV 的外鞘, 其中  $E_2$  和  $E^{ms}$  参与 HCV 感染细胞的过程, 并且可诱导宿主动物产生保护性免疫应答。近几年, 对猪瘟病毒  $E^{ms}$  的生物学活性研究有了重要发现。 $E^{ms}$  有 RNase(RNA 酶)活性<sup>[6]</sup>, 可降解病毒和细胞的 RNA。 $E^{ms}$  可导致免疫抑制, 引起动物的淋巴和上皮细胞凋亡<sup>[7]</sup>。HCV 的宿主嗜性也与  $E^{ms}$  有关<sup>[8]</sup>, 用  $E^{ms}$  可有效阻断 HCV 对易感动物细胞的感染。这表明  $E^{ms}$  可能在 HCV 对细胞的感染过程中以及在细胞中的复制、表达和调控过程中起重要作用。 $E^{ms}$  还表现出神经细胞毒性和抗凝集活性, 由于  $E^{ms}$  没有膜锚定结构, 为可分泌蛋白。HCV 感染动物后所产生的  $E^{ms}$  蛋白在其致病过程中起重要作用<sup>[9,10]</sup>。HCV 的致病力呈现多样性, 具有高、中、低毒力毒株和无致病性毒株<sup>[1,2]</sup>。从自然界中获取流行毒株的  $E^{ms}$  基因, 在序列分析的基础上, 利用基因重组技术对其相应的生物学活性的研究, 将有利于阐明 HCV 的致病机制。本研究完成了 5 株 1997~ 1998 年猪瘟流行毒和 1 株 C-株细胞疫苗毒的  $E^{ms}$  基因的序列分析, 为我们今后开展对  $E^{ms}$  的生物学功能研究奠定了基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料

1.1.1 病毒 C-株犊牛睾丸细胞毒, 购自农业部兰州生物药厂冻干疫苗, 批号: 9828。5 株猪瘟流行毒病猪脾病料, 分别为 GSJC, 采自金昌市某个体小猪场的发病仔猪, 症状典型。GSWW, 采自武威市某个体小猪场的发病仔猪, 症状典型。GSHY, 采自武威地区黄羊镇农

收稿日期: 1999-04-26

基金项目: 国家 B 类攀登计划项目(85-44)

作者简介: 刘湘涛(1962-), 男, 湖南衡阳人, 副研究员, 主要从事动物病毒学的研究工作。

户症状典型的架子猪。GSHG, 采自兰州市红古区某集体小猪场的发病仔猪, 症状典型(因购进四川猪引起猪场发生猪瘟)。GSLX, 采自临夏地区某农户的发病仔猪, 症状典型(母猪也有发病)。

1.1.2 试剂 RNA 提取试剂盒为 GIBCOBRL 公司产品; 反转录酶及反转录试剂、Taq DNA 聚合酶及 PCR 试剂、限制性内切酶、PGEM-T Easy 载体为 Promega 公司产品; DNA 纯化试剂为 BOEHRINGER MANHEIM 公司产品; JM109 为兰州兽医研究所病毒室提供。

1.1.3 仪器 高速台式冷冻离心机 2K15 为 Sigma 公司产品, Gen Amp 2400 为 PE 公司产品。

1.1.4 引物的设计及合成 根据 HCV Alfort 株<sup>[11]</sup>、Brescia 株<sup>[12]</sup>和 C-株<sup>[3]</sup>序列, 设计引物 4 条, 并由大连宝生物工程有限公司合成。引物位置(参照 C-株)及序列如下:

X2 5' ATGGTTGCATACTGCTGAA 3' 778-798

X3 5' TGGAACCTGAGTGACAACG 3' 1190-1208

T4 5' AATTCTGATAGGTGGCCCC 3' 2025-2007

T5 5' ACCTTGCACAACCTGTCCTCT 3' 2404-2385

## 1.2 方法

1.2.1 RNA 提取 参照试剂盒操作方法进行。

1.2.2 RT-PCR 及 nPCR 取适量上述所提取的 RNA, 分别加入 T5 引物、反转录酶缓冲液、dNTP、RNasin 和 AMV, 42℃ 下 1 h 进行反转录。反转录结束后, 取适量反转录产物, 加入引物 X2/T5、dNTP、PCR buffer、Taq DNA 聚合酶, 先于 98℃ 5 min, 再 96℃ 1 min, 49℃ 1 min, 72℃ 2 min, 35 个循环, 最后在 72℃ 延伸 10 min。套式扩增(nPCR)时, 取适量上述 PCR 产物, 以 X3、T4 为引物, 其余条件同上。扩增结束后, 将上述产物在 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.3 扩增产物的纯化 参照试剂盒操作方法进行。

1.2.4 扩增片段的克隆 取适量纯化后的 PCR 产物, 加入 T4 连接酶缓冲液, PGEM-T Easy 载体, T4 连接酶, 然后 4℃ 下过夜。再将连接好的产物适量转化感受态 JM109<sup>[4]</sup>。挑选白色菌落, 培养后提取少量细菌质粒(质粒提取参照文献[4]进行), 以 X3、T4 为引物, 进行 PCR 鉴定。

1.2.5 质粒的制备及纯化 质粒的制备参照文献[4]进行, 纯化时加入等体积 13% PEG8000(含 20% 4 mol/L NaCl)混匀, 冰浴 20 min, 12000g 离心 15 min, 弃上清, 用 70% 乙醇洗沉淀 1 次, 离心, 弃上清, 加灭菌双蒸水溶解。

1.2.6 核酸序列测定 采用自动化测序仪测序, 由大连宝生物工程有限公司完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 E<sup>ms</sup>基因的核苷酸序列测定

琼脂糖凝胶电泳表明, 以 X2、T5 和 X3、T4 为引物, 扩增出与预期大小相符的片段, 克隆后测序。核苷酸序列见图 1, 推导的氨基酸序列见图 2。

### 2.2 核苷酸和氨基酸序列同源性比较

从 Genbank 调出 Alfort 株(Alf)、Brescia 株(Bre)、C 株(C-株适应 SK6 细胞)、中国台湾流行毒(TWP97)和我国经典强毒中国石门株(SM)等 5 株猪瘟病毒参考株的 E<sup>ms</sup>基因序

```

GSHY 1  acaagcggca tccagcaagc tatgtatctc agaggggtca ttagggactt acatgggacg tggcctgaaa aaatatgcaa gggggtcctt 90
GSHG      -t-      -t-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSLX      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSHW      -at-t-  -t-g-  -c-      -t-      -t-a-      -g-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSJC      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
C-LZ      -t-at-t- -t-      -c-t-      -t-  ac-a-  g-      -      -g-gg-      -      -      -      -      -      -      -      -
GSHY 91  actcatctgg ccactgatac ggaactgaca gagatagcgg ggatgatgga cgccagttag aggacgaact acactgtgtg taggttgacg 180
GSHG      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSLX      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSHW      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSJC      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
C-LZ      -c-c-      -a-cgt- g-a-  a-ag-a-  t-c-  g-a-  t-c-  a-a-
GSHY 181 agacacgaat ggaataaaca tggatggtgt aactgttaca acatagacct ttggattcag ttaatgaaca ggacccaagc aaatttgaca 270
GSHG      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSLX      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSHW      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSJC      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
C-LZ      -t-      -c-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSHY 271 gaaggccctc caaataaaga gtgcgccgtg acttgcaggt atgacaaaaa taccgacgtt aacgiggica cccagccagc gaacagacca 360
GSHG      -g-c-g-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSLX      -g-c-g-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSHW      -g-      -g-c-g-  -t-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSJC      -g-c-g-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
C-LZ      -ggtc-g-      -t-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSHY 361 accactctga ctggctgcaa gaaagggaaa aatttttcat ttgcaggtac ggcatagag ggcccatgca acttcaactg atccgtggag 450
GSHG      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSLX      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSHW      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSJC      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
C-LZ      -a-c-  -c-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSHY 451 gacatcttat atggagacca tgagtgtgac agcctgttcc aggacacggc tctgtaccta atagatggaa tgaccaaacac tatagagaaa 540
GSHG      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSLX      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSHW      -t-      -g-t-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSJC      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
C-LZ      -t-c-g-  -g-t-      -c-  -tt-ac-  -g-a-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSHY 541 gccagcagg gtgcggcag agtcacatct tggctaggga ggcaactcag tactacaggg aagaagtgg agagaggaag caaacctgg 630
GSHG      -a-      -a-  -t-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSLX      -a-      -a-  -t-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSHW      -a-      -a-  -t-a-  -t-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSJC      -a-      -a-  -t-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
C-LZ      -a-  -a-a-  g-g-      -c-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSHY 631 ttcggtcct atgccctgtc accttactgt aatgtaacaa ggaaatagg giacatatgg tacacgaaca attgcactcc ggcattgcctc 720
GSHG      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSLX      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSHW      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSJC      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
C-LZ      -t-c-t-  -a-  g-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSHY 721 ccaaaaaaca caaaatagt agggccagga aaatttgaca ccaacgcaga agacgggaag atcctacatg aaatgg 796
GSHG      -g-      -a-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSLX      -c-      -a-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSHW      -t-g-      -a-      -t-g-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
GSJC      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -
C-LZ      -c-      -g-a-  -t-t-      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -      -

```

图1 E<sup>ms</sup>基因核苷酸序列及比较(-指相同核苷酸)Fig. 1 Nucleotide sequence of E<sup>ms</sup> genes and comparison with in them (-Indicated same nucleotide)

GSWW	1	TNGIQRAMYL	RGVNR <u>SLHGI</u>	WPBKICKGVP	THLATDTELV	EIRGMDASE	RTNYTCCKLQ	RHEWNRKHWG	NWYNIDPWIQ	LMNRTQTNLT	90
GSJC		-S-Q-	-----	-----	M-I	-----	-----	-----	-----	-----	A
GSHG		-S-QV-	-----	-----	T	-----	-----	-----	-----	-----	A
GSHY		-S-Q-	I-----	-----	T	-----	-----	-----	-----	-----	A
GSLX		-S-Q-I-	-----	-----	T	-----	-----	-----	-----	-----	A
C-LZ		-H-	-----	C-----	V-K	Q-----	G-----	K-----	-----	H-----	AD-A
GSWW	91	EGPPDKECAV	TCRYDRNADV	NVVTQARNRP	TTLTGCKKCK	NFSFAGTVIE	GPCNFVSVSE	DILYGDHECG	SLLQDTALYL	LDGMTNTIES	180
GSJC		-----	K-----	-----	-----	-----	-----	F-----	-----	-----	K
GSHG		-----	K-----	-----	-----	-----	-----	PH-----	-----	-----	K
GSHY		N-----	K-T-----	-----	-----	-----	-----	F-----	I-----	-----	K
GSLX		-----	G-K-----	-----	-----	-----	A-----	F-----	-----	-----	K
C-LZ		V-----	KD-I-----	-----	-----	S-----	T-----	-----	A-----	V-----	N
GSWW	181	ARQGAARVTS	WLGRLSTAG	KKLERRSKTW	FGAYALSPYC	NVTRKIGYIW	YTNNCTPACL	PRNTRIGPG	KPDTNAEDCK	ILHEM	265
GSJC		-----	T-----	G-----	-----	-----	-----	K-----	-----	-----	
GSHG		-----	T-----	G-----	-----	-----	-----	KS-----	-----	-----	
GSHY		-----	T-----	G-----	-----	-----	-----	K-----	V-----	-----	
GSLX		-----	T-----	G-----	-----	-----	-----	N-----	-----	-----	
C-LZ		-----	-----	R-G-----	-----	S-----	S-----	K-----	-----	-----	

-指相同氨基酸 Indicated same amino acid

下划线表示 RNase 活性区 Under line indicated active region of RNase

图 2  $E^{ms}$  氨基酸序列及比较

Fig. 2 Amino acid sequences of  $E^{ms}$  and comparison with them

列,应用 Gold key 软件,比较 5 株国内近期猪瘟流行野毒、1 株 C-株细胞疫苗毒(C-LZ 兰州)、1 株 C-株兔组织毒(疫苗种毒,C-st)<sup>[5]</sup>和 5 株参考毒  $E^{ms}$  基因间的核苷酸及氨基酸序列同源性,结果见表。

由表中结果可见,所有 C-株毒(3 株)与国内近期流行毒(5 株)有较大的差异,其核酸的序列同源性为 83%~84%;氨基酸序列同源性为 88%~91%。国内近期流行毒与我国 50~60 年代流行的石门毒株也存在较大的差异,核酸的序列同源性为 85%;氨基酸序列同源性为 89%~91%。5 株近期流行毒间的差异较小,核酸序列同源性为 91%~98%;氨基酸序列同源性为 94%~98%。

### 2.3 $E^{ms}$ 的 RNase 活性区序列比较

$E^{ms}$  的 RNase 活性区已被确认,在其分子的第 28 位到第 88 位氨基酸间,其中有两段序列为 RNase 活性的基础序列,每段由 8 个氨基酸组成,两段间隔 38 个氨基酸。猪瘟病毒 C-株(C-E0, SK6 细胞)、C-LZ 和流行毒的  $E^{ms}$  与真菌 RNase T2、Rh 及植物 RNase S2<sup>[6]</sup>间在该区段的氨基酸序列比较见图 3。在 2 个基础序列中,C-株毒与流行毒仅有一个氨基酸不同。

## 3 讨论

在我们前不久完成的“猪瘟(HC)流行毒遗传发生关系分析”的研究中<sup>[5]</sup>,通过比较 44 株国内外疫苗毒、经典强毒以及不同时期的流行毒的 E2 基因序列,把除了 TWP97 之外的所有 43 株毒分成 2 个基因组群(Group),其中的组群 1 分为 2 个亚组群(Subgroup),组群 2 分为 3 个亚组群。组群 1 和组群 2 间的核酸序列同源性为 82%~84%,氨基酸序列同源性

表 猪瘟病毒株 E<sup>ms</sup>基因的核酸与氨基酸序列同源性(%)比较<sup>1)</sup>Table The homology of E<sup>ms</sup> gene of HCV strains

	C-st*	C*	C-LZ	SM*	Bre*	Alf*	TW*	JC	HY	LX	WW	HG
C-st*		99	99	95	91	85	86	84	83	84	83	84
Csk6*	98		99	95	91	85	86	84	84	84	83	84
C-LZ	98	99		95	91	85	86	84	84	84	83	84
SM*	94	94	95		93	87	87	85	85	85	85	85
Bre*	92	93	93	95		85	85	86	86	86	85	86
Alf*	91	91	92	92	92		86	90	90	90	92	91
TW*	92	93	93	95	92	94		84	84	84	85	85
JC	89	90	90	90	91	96	92		95	98	92	97
HY	88	89	89	90	91	95	91	97		95	91	96
LX	88	88	89	89	90	95	91	97	97		91	97
WW	90	90	91	91	92	98	93	95	94	95		92
HG	88	89	89	90	90	95	92	98	97	97	95	

<sup>1)</sup>表中带\* 序列来自参考文献或 Genbank, 右上为核酸序列同源性, 左下为氨基酸序列同源性

\* Sequences were from references or Genbank, the right and left triangle show nucleotide homology and deduced amino acid homology respectively

```

T2  TIHGLWPDNCDGSYGQ__FCDKSREYSNITAILQEQRTE.....LLSYMKKKWPNYEGDDEEFWEHEWNNKKGTC|NTIE
Rh  -L-----K-S-A-APSGG--SN-AS-S-ASVIKSKDSSL.....YN-SMLTY--SNQ-NNNV--S----S-----VS-YD
S2  -----HTTMLN__Y--R-KP--M-DGKKKNDLDE.....RWPDLT-TKFDSL-KQA--KD-YV-----CSDKF
C-E0 SL--I--GEICKGVPT__HLATDV-LKE-_____--MMD.....A-EG__T--TC-KLQ__R-|-----W-NWHNI
GSWW SL--I--EKICKGVPT__HLATDT-LVE-_____R-MMD.....A-ER__T--TC-RLQ__R-|-----W-NWHNI
C-LZ SL--I--GKICKGVPT__HLATDV-LVE-_____--MMD.....A-EG__T--TC-KLQ__R-|-----W-NWHNI

```

图 3 RNase 与猪瘟病毒 E<sup>ms</sup>的序列比较Fig. 3 Comparison the amino acid sequence of RNase and E<sup>ms</sup> genes of HCV strains

为 88% ~ 91%。按上述分类结果, 所有 C-株毒、SM 毒和 Brescia 毒属于组群 1, 而所有近期流行毒(80 年代以后)和 Alfort 毒属于组群 2。比较相应毒株的 E<sup>ms</sup>基因序列, 组群 1 和组群 2 毒株间的核酸序列同源性为 83% ~ 87%, 氨基酸序列同源性是 88% ~ 92%。较为特殊的 TW P97 毒株与组群 1 和组群 2 毒株间的核酸序列同源性为 84% ~ 87%, 而氨基酸序列同源性是 91% ~ 95%。

无论从 HCV 感染细胞中提取的 E<sup>ms</sup>蛋白, 还是从昆虫细胞中表达的 E<sup>ms</sup>蛋白, 都证明具有 RNase 活性, 只是酶催化活力上有差异。通过破坏 E<sup>ms</sup>的二硫键和去糖基实验表明, E<sup>ms</sup>蛋白所具有的 RNase 活性, 依赖于它的二段各为 8 个氨基酸的基础序列, 其中的组氨酸(H)最为关键, 用其它氨基酸置换后(灭活的 E<sup>ms</sup>)将失去这种活性。在 RNase 活性基础序列中, C-株和 GSWW 毒有一个氨基酸不同, 所有 C-株毒(包括 C-株兔组织毒、C-株 SK6 细胞毒和 C-株犊牛睾丸细胞疫苗毒)是不带电荷的甘氨酸(G), GSWW、GSJC、GSHG、GSLX、GSHY 都是谷氨酸(E), 经典强毒 SM、Alfort、Brescia 株和 TW P97 也都是谷氨酸, 而真菌 T2、Rh 和植物 S2 是天冬氨酸(D), E 和 D 都是带负电荷的氨基酸。不知这一差异对催化活力有无影响。

抗 E<sup>ms</sup> 的 HCV 中和性单抗又是 RNase 活性抑制剂, 以灭活的 E<sup>ms</sup> 免疫产生的抗体仍具有对 HCV 的中和性和抑制 E<sup>ms</sup> 的 RNase 活性作用, 表明中和抗体的产生及它对 RNase 的抑制作用不单纯决定于活性基础序列。E<sup>ms</sup> 可抑制伴刀豆蛋白 A (Con A) 对猪、牛、羊、人等淋巴细胞的促有丝分裂作用, 强烈抑制淋巴细胞的蛋白质合成, 但不损害细胞膜。E<sup>ms</sup> 可导致淋巴细胞和上皮细胞的细胞毒性效应并形成细胞凋亡。在真核细胞上, 普遍存在着可与 E<sup>ms</sup> 结合的细胞受体, E<sup>ms</sup> 与细胞的结合为不可逆过程, 而 E<sub>2</sub> 与细胞的结合是可逆的过程。HCV 的 E<sup>ms</sup> 可有效阻断猪源 HCV、BVDV (牛病毒性腹泻病毒) 对 SK6、PK15 等细胞的感染, 却不能有效阻断牛源 BVDV 对细胞的感染, 表明 E<sup>ms</sup> 与宿主嗜性有关。E<sup>ms</sup> 的这些活性, 表明它可能在 HCV 对细胞的感染过程中以及在细胞中的复制、表达与调控过程中起重要作用。由于 E<sup>ms</sup> 没有膜锚定结构, 表现出神经细胞毒性和抗凝集活性作用的分泌型 E<sup>ms</sup> 蛋白与 HCV 的致病性密切相关。C-株毒与流行毒的 E<sup>ms</sup> 蛋白在氨基酸序列上有多处不同, 这些差异对于相应的 E<sup>ms</sup> 蛋白的生物活性以及对于 HCV 在复制与表达过程中的影响, 有待利用基因重组技术加以深入研究。

#### 参考文献:

- [1] 谢庆阁, 翟中和主编. 畜禽重大疫病免疫研究进展 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1996.
- [2] 杜念兴. 猪瘟的感染与免疫 [J]. 畜牧与兽医. 1991, 23(2): 85~ 88.
- [3] 李红卫. 猪瘟 C-株兔组织毒 RNA 序列分析 [A]. 国家攀登计划 85-44 项目专题讨论会. 广州, 1999.
- [4] 萨姆布鲁克主编. 分子克隆实验指南 (第二版) [M]. 北京: 科学出版社, 1995.
- [5] 韩雪清, 刘湘涛, 赵启祖, 等. 猪瘟(HC) 流行毒遗传发生关系分析 [J]. 中国兽医科技. 1999, 30(6): 3~ 5.
- [6] Hulst M M, Hines G, Moomann R J M. Glycoprotein E<sub>2</sub> of classical swine virus: Expression in insect cells and identification as a ribonuclease [J]. Virology. 1994, 200: 558~ 565.
- [7] Bruscke C J M, Hulst M M, Moomann R J M. Glycoprotein E<sup>ms</sup> of pestiviruses induces apoptosis in lymphocytes of several species [J]. J. Viro. 1997, 71: 6692~ 6696.
- [8] Hulst M M, Moomann R J M. Inhibition of pestivirus infection in cell culture by envelope proteins E<sup>ms</sup> and E<sub>2</sub> of classical swine fever virus: E<sup>ms</sup> and E<sub>2</sub> interact with different receptors [J]. Journal of General Virology. 1997, 78: 2779~ 2787.
- [9] Windisch J M, Schneider R, Thiel H-J. RNase of classical swine fever virus: Biochemical characterization and inhibition by virus-neutralizing monoclonal antibodies [J]. J. Viro. 1996, 70: 352~ 358.
- [10] Hulst M M, Panoto F E, Moomann R J B. Inactivation of the RNase activity of glycoprotein E<sup>ms</sup> of classical swine fever virus results in acytopathogenic virus [J]. J. Viro. 1998, 72: 151~ 157.
- [11] Meyers G. Molecular cloning and nucleotide of the genome of hog cholera virus [J]. Virology. 1989, 171: 555~ 567.
- [12] Moomann R J M. Molecular cloning and nucleotide sequence of hog cholera virus strain Brescia and mapping of the genome region encoding envelope protein E<sub>1</sub> [J]. Virology. 1990, 177: 184~ 198.

## *Analysis of E<sup>ms</sup> Genes Nucleotide Sequences of Prevalent Virulent Strains of Hog Cholera Virus*

Liu Xiangtao<sup>1</sup>, Han Xueqing<sup>1</sup>, Liu Bohua<sup>2</sup>, Zhao Qizu<sup>1</sup>, Li Minghui<sup>2</sup>, Ma Junwu<sup>1</sup>,  
Li Jianqiang<sup>2</sup>, Xie Qingge<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lanzhou Veterinary Research Institute, CAAS, Lanzhou 730046;

<sup>2</sup>Northwest Science and Technology University of Agriculture and Forestry)

**Abstract:** The E<sup>ms</sup> gene of five prevalent virulent strains and one C-strain of Hog Cholera Virus were amplified by reverse transcription(RT). The amplified fragments were cloned and sequenced. Comparison and analysis were made on the nucleotide sequence and the amino acid sequence of five prevalent virulent strains of HCV was deduced. The nucleotide homology was from 91% to 98%; the homology of amino acid was from 94% to 98%. The nucleotide homology of C-strain virus from cells cultured and five prevalent virulent strains of HCV was 83% to 84%. The amino acid homology was from 89% to 91%.

**Key words:** HCV; E<sup>ms</sup> gene; Sequence analysis

## 征 订 启 事

《中国兽医科技》是中国农业科学院兰州兽医研究所主办的兽医学技术类期刊, 辟有中西兽医科学研究报告、调查报告、综述专论、新技术、实验技术、临床诊疗、医案分析、动物检疫、学术讨论、知识讲座、科技动态、比较医学、资料、疫情消息、简讯、来稿摘登、新书评介、信息服务等栏目; 适用于一切从事兽医工作的同志、农业院校畜牧兽医专业师生、兽医行政部门管理干部以及城乡养畜养禽企业技术人员及专业户阅读。月刊, 大16开本, 48页, 定价3.00元, 全年36元。标准刊号: CN62-1069, 邮发代号: 54-33, 国外代号: M4191。如未能在当地邮局(所)订到或错过征订时间者, 可直接汇款至甘肃省兰州市盐场堡徐家坪11号《中国兽医科技》编辑部订购, 不需另加邮费。邮编: 730046; 电话: (0931)8343091。

《杂粮作物》由辽宁省农业科学院主办。主要报道国内外玉米、高粱、马铃薯、杂谷、杂豆(大豆除外)等杂粮作物在生理、生化、遗传、育种、耕作、栽培管理、植保、土肥、生物技术、贮藏加工等各方面的最新科技信息。读者对象为农业科技人员、农业院校师生和各级农业领导干部。双月刊, 16开本, 56页, 定价2.50元, 全年15.00元。由辽阳市邮政局总发行, 邮发代号8-155, 也可直接向本刊编辑部订阅(不另收邮费)。地址: 110161 辽宁省沈阳市东陵路84号; 电话: (024)88419917; E-mail: GNZL@Chinajournal.net.cn。

《生态农业研究》是中国科学院石家庄农业现代化研究所等单位主办的学术期刊。主要刊登生态学、生态经济学、农林牧副渔及资源与环境保护等领域创新的研究学术论文、研究技术报告、研究简报及生态农业建设典型模式等, 读者对象为从事生态学、生态经济学、农林牧副渔、资源与环境保护等领域科技人员、高等院校有关专业师生、管理工作等。国内外公开发行, 刊号CN13-1165/S, 季刊, 大16开, 96页, 定价6.50元, 全年26.00元, 邮发代号: 18-158。漏订者可直接汇款至编辑部补订(需另加邮资6.00元)。地址: 050021 河北省石家庄市槐中路286号; 电话: (0311)5818007。