

褐刺蛾质型多角体病毒多角体 蛋白含量与组成分析

夏春胜 周性恒

(南京林业大学, 南京 210037)

摘要 本文利用现代分析手段, 分析了褐刺蛾质型多角体病毒多角体蛋白组成与含量, 发现其由16种氨基酸组成, 富含谷氨酸和天冬氨酸, 不含脯氨酸, 碱性氨基酸与酸性氨基酸的比值为0.54.

关键词 昆虫病毒; 褐刺蛾; 多角体; 蛋白质

中图分类号 Q966

1981年, 江苏南京、镇江等地悬铃木上褐刺蛾幼虫大量自然死亡, 经研究发现系质型多角体病毒所致^[1]。此后, 我们对该病毒的形态特征、生物活性、病理及野外防治效果、病毒核酸基因组特性及其血清学特征等进行了分析研究^[2~6]。本文对该病毒多角体蛋白的氨基酸组成与含量进行了测定分析, 为进一步研究其蛋白结构提供资料。

1 实验方法

1.1 多角体蛋白的分离纯化

解剖当年病死虫中肠, 研磨、差速离心得粗制褐刺蛾质型多角体病毒 (*Thosea postornata* cytoplasmic polyhedrosis virus, 缩略为Tp-CPV)多角体; 参照文献[6]方法获得纯净多角体。取纯多角体 300 mg (湿重), 置70℃水浴中保温2 h, 以使有关酶失活。然后加入pH 10.8的0.2 mol L⁻¹ Na₂CO₃-NaHCO₃碱液, 在30℃下碱解1 h, 用1.0 mol L⁻¹ HCl调溶液pH至8.0, 以10 000 r/min离心5 min, 去除不溶物, 调上层液pH至6.0~6.2, 溶液置冰箱中20 min后, 经低速离心收集多角体蛋白沉淀。沉淀用0.1 mol L⁻¹ pH6.0的磷酸缓冲液洗涤3次。

1.2 多角体蛋白质的氨基酸组成成分分析

取纯净多角体蛋白干粉7.07 mg, 加20 ml 6 mol L⁻¹的HCl, 抽真空后于110℃烘箱中水解24 h, 定容至100 ml, 在日立835-50型氨基酸自动分析仪上测定氨基酸种类与含量。

2 结果与讨论

经测定, 得褐刺蛾CPV多角体蛋白各组分氨基酸的出峰时间与峰面积如图1所示, 各氨

收稿日期, 1992-09-30

氨基酸组成及含量列于表 1。

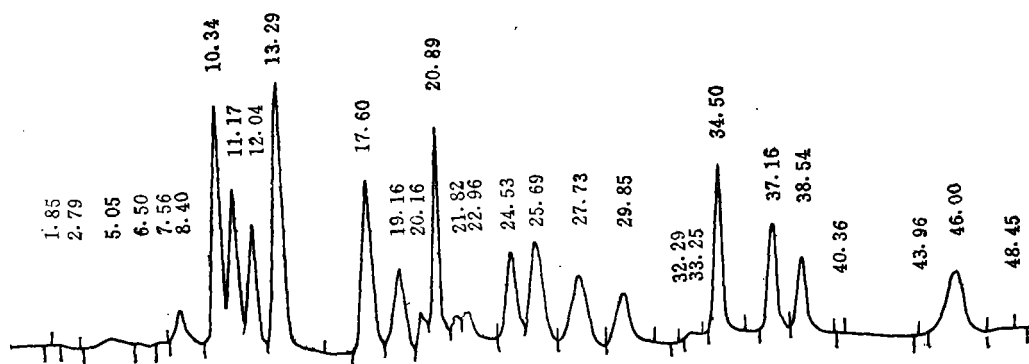


图 1 褐刺蛾Tp-CPV蛋白氨基酸分析图谱
(示各氨基酸的出峰时间与峰面积)

Fig.1 Analysis atlas of polyhedrin amino acids of Tp-CPV

表 1 褐刺蛾Tp-CPV蛋白氨基酸组成及含量

Table 1 Composition and contents of polyhedrin amino acids of Tp-CPV

氨基酸名称	氨基酸分子量	氨基酸含量		摩尔百分比 (%)	蛋白质 (g/100g)
		($\mu\text{mmol/ml}$)	(mg/ml)		
天冬氨酸(Asp)	133.6	279.7	37.21	11.02	10.72
苏氨酸(Thr)	119.2	165.2	19.66	6.30	5.07
丝氨酸(Ser)	105.1	118.0	12.39	3.97	2.82
谷氨酸(Glu)	147.1	285.0	41.90	13.43	12.56
甘氨酸(Gly)	75.1	195.9	14.70	4.71	2.90
丙氨酸(Ala)	89.1	115.5	10.29	3.29	1.67
半胱氨酸(Cys)	121.1	26.9	6.48	2.07	1.47
缬氨酸(Val)	117.1	174.5	20.45	6.56	5.19
蛋氨酸(met)	149.2	45.2	6.75	2.16	1.96
异亮氨酸(Ile)	131.1	119.8	15.73	5.04	4.47
亮氨酸(Leu)	131.1	148.1	19.43	6.23	5.52
酪氨酸(Tyr)	181.1	161.6	29.30	9.39	11.24
苯丙氨酸(Phe)	165.1	103.1	17.04	5.46	6.09
赖氨酸(Lys)	146.1	147.0	21.50	6.89	6.33
组氨酸(His)	155.1	114.0	17.70	5.67	5.95
精氨酸(Arg)	174.1	123.8	21.57	6.91	8.13
总 计		2 323.3	442.08	100.00	92.09

从表中可以看出, 褐刺蛾CPV多角体蛋白组成具以下几个特点: ①由16种氨基酸组成, 不含脯氨酸(Pro), 色氨酸(Try)。②富含谷氨酸(Glu)和天冬氨酸(Asp), 两者占总量的25.35%; 酪氨酸(Tyr)含量也相对较多, 为9.39%; 半胱氨酸(Cys)和蛋氨酸(Met)含量很少, 均在2.00%左右, 两者之和占总量的4.23%。③碱性氨基酸占13.80%, 酸性氨基酸占25.35%, 两者比值为0.54(摩尔比)。

已研究的昆虫病毒多角体蛋白氨基酸组成均存在一些共同特点^[7]。本研究结果说明, 褐

刺蛾CPV多角体蛋白氨基酸组成与含量也具有上述特点。但是在不同昆虫病毒中,其多角体蛋白的氨基酸组成与含量也存在一定差异。如棉铃虫CPV的多角体蛋白中不含有半胱氨酸和色氨酸,而含有脯氨酸和精氨酸^[8],杨尺蠖NPV中不含脯氨酸和精氨酸而含有色氨酸^[9]。本试验测得褐刺蛾CPV多角体蛋白中不含脯氨酸而含有半胱氨酸和精氨酸。另外,不同昆虫病毒多角体蛋白中各种氨基酸的含量百分比也不相同。这些差异可能表现出了病毒株间的差异,从而可作为病毒鉴定的重要指标。具体地分析昆虫病毒多角体蛋白的组成与含量,对进一步了解病毒蛋白质结构,了解昆虫病毒多角体的产生、发展及其对环境的抵抗能力也有一定意义。

参 考 文 献

- 1 武汉大学病毒研究所等. 中国昆虫病毒图谱. 长沙, 湖南科学技术出版社, 1986
- 2 夏春胜等. 南京林业大学学报, 1990, 14(3): 47~52
- 3 夏春胜等. 森林病虫通讯, 1992, (1): 5~7
- 4 周性恒等. 南京林业大学学报, 1991, 15(4): 20~24
- 5 夏春胜等. 林业科学研究, 1992, 7(6): 681~686
- 6 周性恒等. 南京林产工业学院学报, 1985, 9(4): 138~143
- 7 刘小英等. 病毒学报, 1989, 5(2): 150~157
- 8 徐左宇等. 病毒学报, 1986, 2(4): 335~341
- 9 于在林等. 林业科学, 1987, 23(2): 221~226

Xia Chunsheng (Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, PRC), Zhou Xinheng. Analysis of Polyhedrin Composition and Content of *Thosea postornata* Cytoplasmic Polyhedrosis Virus. *J Zhejiang For Coll*, 1993, 10(1): 234~236

Abstract: This paper analyses the polyhedrin composition and contents of *Thosea postornata* cytoplasmic polyhedrosis virus using modern analysis methods. The results showed that the polyhedrin consisted of 16 kinds of amino acids in which aspartic and glutamic were abundant, with a few cysteine and methionine and without proline, alkaline and acid amino acids were in the ratio of 0.54.

Key words: insect virus; *Thosea postornata*; polyhedrosis; protein