

特超强毒 648 株马立克氏病病毒的囊膜糖蛋白 gE 基因的克隆和序列比较*

刘岳龙 崔治中 何良梅 朱素娟 秦爱建

(扬州大学医学院 扬州 225009)

摘 要:鸡马立克氏病毒特超强毒(vv⁺MDV)648 株的囊膜糖蛋白 gE 基因经 PCR 扩增并克隆入 pUC₁₈ 载体。648 株 gE 基因经核酸序列分析测定,全长为 1494 碱基。所编码的蛋白具有跨膜糖蛋白的一些特征。它含有 8 个潜在的糖基化位点、N 端有一段疏水区(1~19aa)所构成的信号肽、C 端有一段疏水区(391~419aa)所构成的膜锚着序列。经 648 株(vv⁺MDV)和马立克氏病毒强毒(vMDV)GA 株的 gE 相比较,在 MDV 血清 1 型中 gE 是较为保守的,二者仅有 2 个核苷酸的差异(第 512 位、第 1472 位),并导致了有二个相应的氨基酸的改变(第 171 位 Leu/Pro、第 491 位 Arg/Lys)。

关键词: vv⁺MDV 648 株, 糖蛋白 gE, 克隆, 序列比较

中图分类号: Q939.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2001) 02-0155-07

鸡马立克氏病病毒(MDV)是少数几种能在其自然宿主中诱导产生肿瘤的疱疹病毒之一,也是世界上第一个以疫苗来预防由肿瘤病毒致癌的成功例子。因而该病的研究在畜禽疾病控制和比较医学领域都享有重要意义。MDV 根据血清型分为血清 1、2、3 型,其中只有血清 1 型 MDV(MDV1)是能致鸡自然发生 T-细胞淋巴瘤的致病型。随着 MDV 本身的演化和鸡群在免疫后产生的免疫压力选择下,MDV 致病力先后有所变化,致病的 MDV1 型根据其致病力又分为温和性 MDV(mMDV)、强毒 MDV(vMDV)、超强毒 MDV(vvMDV)和特超强毒 MDV(vv⁺MDV)。

早先在 MDV 的分类方面,根据其生物学特性尤其是淋巴趋向性归类于丙亚科疱疹病毒,后来据其基因组的 ITR 结构、RFLE 分析,以及一些核酸序列分析和编码蛋白的比较,又倾向于甲亚科(α -)疱疹病毒。MDV 大量的基因是同源和线性等位于 α -疱疹病毒中的单纯疱疹病毒 1 型(HSV-1)与水痘一带状疱疹病毒(VZV)等病毒^[1]。

α -疱疹病毒表面糖蛋白(如 HSV-1 的 gB、gC、gD、gE、gG、gH 和 gI 等^[2~8])在病毒识别和感染过程中起着重要作用,并且是宿主的包含体液免疫和细胞免疫在内的免疫反应的主要靶位点。MDV1 型病毒糖蛋白 gE 和 gI 生物学功能是否也具有如上重要作用还不太清楚。

Peter 等报道了 vMDV GA 株的 gI 和 gE 基因序列^[9]。本实验室也已获得了 648 株

* 国家“863”项目(101-05-03-02)研究的一部分

作者简介:刘岳龙(1970-),男,江苏常州人,扬州大学畜牧兽医学院动物医学系讲师,在职博士生,主要从事畜禽病原微生物学与免疫学、动物分子病毒学研究工作。

收稿日期:2000-01-07,修回日期:2000-04-20

gI 基因^[10]。本文对 vv⁺MDV648 株的 gE 基因进行了体外扩增、克隆;并且与 GA 株 gE 进行了比较分析,以期获得 vv⁺MDV、vMDV gE 序列的异同性,并为马立克氏病毒特超强毒株 gE 糖蛋白的体外表达研究作基础。

1 材料和方法

1.1 病毒

vv⁺MDV648 株由本实验室保存。

1.2 病毒增殖和病毒基因组的提取

以 648 株 MDV 感染鸡胚成纤维细胞(CEF),待形成最佳空斑时收感染细胞,以蛋白酶 K-酚:氯仿法抽提感染细胞 DNA,经乙醇沉淀后溶于 TE 缓冲液(pH8.0)中。

1.3 648 株 MDV gE 基因的 PCR 扩增

根据 vMDV GA 株已有的 gE 序列^[9],设计出 PCR 引物。预扩增片段包含完整的 gE 译读框架。上、下游引物的 5'端分别添加有 *Kpn* I 和 *Sac* I 酶切序列。

上游引物:5'—CGATGGTACCTGCGAGTCAGCGTCATAATG—3'

Kpn I

下游引物:5'—CGATGAGCTCAGCTTCATTTGCATTG—3'

Sac I

PCR 反应循环参数为 94℃ 变性 2 min,随后进行以下循环:93℃ 变性 1 min,54℃ 退火 1 min,72℃ 延伸 1 min 30 s,共 30 个循环。

1.4 648 株 gE 基因重组质粒的构建与鉴定

将 PCR 产物纯化以后,以 *Kpn* I 和 *Sac* I 双酶切,与经相同处理的 pUC₁₈载体连接,转化感受态细菌 TG1,涂含 X-gal 和 IPTG 的 LB 固体平板,筛选出白色菌落,对白色菌落以碱裂解法小规模提取 DNA,再以 *Kpn* I 和 *Sac* I 双酶切鉴定。

1.5 序列分析

由大连宝生物工程公司进行。

1.6 序列比较和编码蛋白的分析

对所测序列以 DNASTAR 软件分析比较 vv⁺MDV648 株和已报道的 vDMV GA 株序列,并分析推导出的 648 株 gE 氨基酸疏水性等特性。

2 结果

2.1 PCR 扩增和 648 株 gE 基因重组质粒的鉴定

用 PCR 技术从 648 株 MDV 感染的 CFE 总 DNA 中扩增出约 1.5kb 大小的条带。(此带的分子量对应于 GA 株 gE 基因)(图 1)

所筛选的白色克隆经碱裂解法提取 DNA,以 *Kpn* I 和 *Sac* I 酶切电泳结果为载体(2.7kb)和外源基因(1.5kb)两个片段。这与预期值相符(图 2),该阳性克隆命名为 p648gE。

2.2 vv⁺MDV 648 株 gE 基因的核苷酸序列分析结果

648 株 gE 基因全长为 1494bp,译读框共编码 498 个氨基酸。所推导的氨基酸序列结

果见图 3。在 648 株 gE 编码蛋白有穿膜糖蛋白的若干特征:①共有 8 个潜在的糖基化位点,分别为第 60~62aa (NET)、133~135aa (NAS)、140~150aa (NGT)、203~205aa (NVS)、229~231aa (NPT)、277~279aa (NCS)、366~368aa (NSS) 和 388~390aa (NGT);②N 端第 1~19aa 是一段疏水区,这是信号肽序列;③C 端(第 391~419aa)为一段疏水区所构成的膜锚着序列。648 株和已发表的 GA 株 gE 基因序列的比较结果(图 3)可见仅有二个碱基的差异,说明这二个 MDV 血清 1 型毒株的 gE 序列较为保守。上述两个碱基的差异导致了两个氨基酸的变化(表 1)。

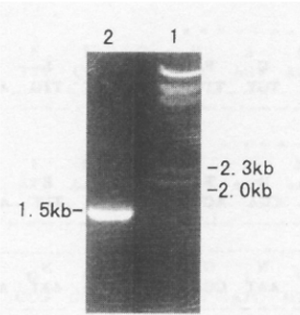


图 1 vv⁺ MDV 648 株 gE 基因的 PCR 产物电泳结果

Fig.1 Electrophoresis of PCR products of vv⁺ MDV 648 strain gE gene

1. λ DNA/*Hind* III; 2. PCR products of 648 strain gE gene.

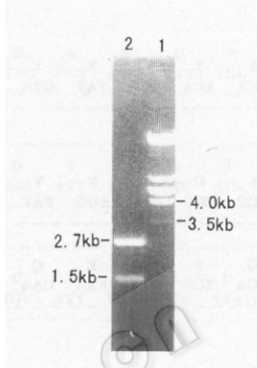


图 2 vv⁺ MDV 648 株 gE 基因重组质粒 p648gE 的 *Kpn* I 和 *Sac* I 酶切鉴定

Fig.2 Digestion of Recombinant plasmid of vv⁺ MDV 648 strain gE gene with *Kpn* I and *Sac* I

1. λ DNA/*Eco*R I; 2. p648 gE digested with *Kpn* I and *Sac* I.

表 1 648 株和 GA 株核苷酸和氨基酸的变化比较

Table 1 Comparison of nucleotide acids and amino acids between 648 strain and GA strain

| | Nucleotide acids (positions) | Amino acids (positions) | Nucleotide acids (positions) | Amino acids (positions) |
|------------|---------------------------------|----------------------------|---------------------------------|----------------------------|
| 648 strain | CTC(512) | Leu(171) | AGA(1472) | Arg(491) |
| GA strain | CCC(512) | Pro(171) | AAA(1472) | Lys(491) |

2.3 应用 DNASTAR 软件对 648 株 MDV gE 糖蛋白进行疏水性分析和抗原表位分析
结果见图 4。

与 GA 株相比,648 株有两个核苷酸的不同。GA 株第 512 株核苷酸为 C,其编码的第 171 位氨基酸为疏水性不强的 Pro,而 648 株 gE 基因的第 512 株核苷酸为 T,其编码的第 171 个氨基酸为疏水性较强的 Leu。这个氨基酸的变化明显导致了疏水性上升、抗原表位优势下降。GA 株第 1472 位核苷酸为 A(编码第 491 位氨基酸为 Lys),648 株第 1472 位核苷酸为 G(编码第 491 位氨基酸为 Arg),这个氨基酸的变化导致的疏水性和抗原表位差异较小,影响则不太明显。

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | M | C | V | F | Q | I | L | I | I | V | T | T | I | K | V | A | G | T | A | N | 20 |
| 648 | ATG | TGT | GTT | TTC | CAA | ATC | CTG | ATA | ATA | GTG | ACG | ACG | ATC | AAA | GAT | GCT | GGA | ACG | GCC | AAC | 60 |
| GA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 60 |
| | I | N | H | I | D | V | P | A | G | H | S | A | T | T | T | I | P | R | Y | P | 40 |
| 648 | ATA | AAT | CAT | ATA | GAC | GTT | CCT | GCA | GGA | CAT | TCT | GCT | ACA | ACG | ACG | ATC | CCG | CGA | TAT | CCA | 120 |
| GA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 120 |
| | P | V | V | D | G | T | L | Y | T | E | T | W | T | W | I | P | N | H | C | N | 60 |
| 648 | CCA | GTT | GTC | GAT | GGG | ACC | CTT | TAC | ACC | GAG | ACG | TGG | ACA | TGG | ATT | CCC | AAT | CAC | TGC | AAC | 180 |
| GA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 180 |
| | E | T | A | T | G | Y | V | C | L | E | S | A | H | C | F | T | D | L | I | L | 80 |
| 648 | GAA | ACG | GCA | ACA | GGC | TAT | GTA | TGT | CTG | GAA | AGT | GCT | CAC | TGT | TTT | ACC | GAT | TTC | ATA | TTA | 240 |
| GA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 240 |
| | G | V | S | C | M | R | Y | A | D | E | I | V | L | R | T | D | K | F | I | V | 100 |
| 648 | GGA | GTA | TCC | TGC | ATG | AGG | TAT | GCG | GAT | GAA | ATC | GTC | TTA | CGA | ACT | GAT | AAA | TTT | ATT | GTC | 300 |
| GA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 300 |
| | D | A | G | S | I | K | Q | I | E | S | L | S | L | N | G | V | P | N | I | F | 120 |
| 648 | GAT | GCG | GGA | TCC | ATT | AAA | CAA | ATA | GAA | TCG | CTA | AGT | CTG | AAT | GGA | GTT | CCG | AAT | ATA | TTC | 360 |
| GA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 360 |
| | L | S | T | K | A | S | N | K | L | E | I | L | N | A | S | L | Q | N | A | G | 140 |
| 648 | CTA | TCT | ACG | AAA | GCA | AGT | AAC | AAG | TTG | GAG | ATA | CTA | AAT | GCT | AGC | CTA | CAA | AAT | GCG | GGT | 420 |
| GA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 420 |
| | I | Y | I | R | Y | S | R | N | G | T | R | T | A | K | L | D | V | V | V | V | 160 |
| 648 | ATC | TAC | ATT | CGG | TAT | TCT | AGA | AAT | GGG | ACG | AGG | ACT | GCA | AAG | CTG | GAT | GTT | GTT | GTG | GTT | 480 |
| GA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 480 |
| | G | V | L | G | Q | A | R | D | R | L | L | Q | M | S | S | P | M | I | S | S | 180 |
| 648 | GGC | GTT | TTG | GGT | CAA | GCA | AGG | GAT | CGC | CTA | CTC | CAA | ATG | TCC | AGT | CCT | ATG | ATC | TCA | TCC | 540 |
| GA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 540 |
| | H | A | D | I | K | L | S | L | K | N | F | K | A | L | V | Y | H | V | G | D | 200 |
| 648 | CAC | GCC | GAT | ATC | AAG | TTG | TCA | TTA | AAA | AAC | TTT | AAA | GCA | TTA | GTA | TAT | CAC | GTG | GGA | GAT | 600 |
| GA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 600 |
| | T | I | N | V | S | T | A | V | I | L | G | P | S | P | E | I | F | T | L | E | 220 |
| 648 | ACT | ATC | AAT | GTC | TCG | ACG | GCG | GTT | ATA | CTA | GGA | CCT | TCT | CCG | GAG | ATA | TTC | ACA | TTG | GAA | 660 |
| GA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 660 |
| | F | R | V | L | F | L | R | Y | N | P | T | C | K | F | V | T | I | Y | E | P | 240 |
| 648 | TTT | AGG | GTG | TTG | TTC | CTC | CGT | TAT | AAT | CCA | ACG | TGC | AAG | TTT | GTC | ACG | ATT | TAT | GAA | CCT | 720 |
| GA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 720 |
| | C | I | F | H | P | K | E | P | E | C | I | T | T | A | E | Q | S | V | C | H | 260 |
| 648 | TGT | ATA | TTT | CAC | CCC | AAA | GAA | CCA | GAG | TGT | ATT | ACT | ACT | GCA | GAA | CAA | TCG | GTA | TGT | CAT | 780 |
| GA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 780 |
| | F | A | S | N | I | D | I | L | Q | I | A | A | A | R | S | E | N | C | S | T | 280 |
| 648 | TTT | GCA | TCC | AAC | ATT | GAC | ATT | CTG | CAG | ATA | GCC | GCC | GCA | CGT | TCT | GAA | AAT | TGT | AGC | ACA | 840 |
| GA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 840 |
| | G | Y | R | R | C | I | Y | D | T | A | I | D | E | S | V | Q | A | R | L | T | 300 |
| 648 | GGG | TAT | CCT | AGA | TGT | ATT | TAT | GAC | ACG | GCT | ATC | GAT | GAA | TCT | GTG | CAG | GCC | AGA | TTA | ACA | 900 |
| GA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 900 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| | F | I | E | P | G | I | P | S | F | K | M | K | D | V | Q | V | D | D | A | G | 320 |
| 648 | TTC | ATA | GAA | CCA | GGA | ATT | CCT | TCC | TFT | AAA | ATG | AAA | GAT | GTC | CAG | GTA | GAC | GAT | GCT | GGA | 960 |
| GA | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | 960 |
| | L | Y | V | V | V | A | L | Y | N | G | R | P | S | A | W | T | Y | I | Y | L | 340 |
| 648 | TTG | TAT | GTG | GTT | GTG | GCT | TTA | TAC | AAT | GGA | CGT | CCA | AGT | GCA | TGG | ACT | TAC | ATT | TAT | TTG | 1020 |
| GA | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | 1020 |
| | S | T | V | E | T | Y | L | N | V | Y | E | N | Y | H | K | P | G | F | G | Y | 360 |
| 648 | TCA | ACG | GTG | GAA | ACA | TAT | CTT | AAT | GTA | TAT | GAA | AAC | TAC | CAC | AAG | CCG | GGA | TTT | GGG | TAT | 1080 |
| GA | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | 1080 |
| | K | S | F | L | Q | N | S | S | I | V | D | E | N | E | A | S | D | W | S | S | 380 |
| 648 | AAA | TCA | TTT | CTA | CAG | AAC | AGT | AGT | ATC | GTC | GAC | GAA | AAT | GAG | GCT | AGC | GAT | TGG | TCC | AGC | 1140 |
| GA | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | 1140 |
| | S | S | I | K | R | R | N | N | G | T | I | I | Y | D | I | L | L | T | S | L | 400 |
| 648 | TCG | TCC | ATT | AAA | CGG | AGA | AAT | AAT | GGT | ACT | ATC | ATT | TAT | GAT | ATT | TTA | CTC | ACA | TCG | CTA | 1200 |
| GA | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | 1200 |
| | S | I | G | A | I | I | I | V | I | V | G | G | V | C | I | A | I | L | I | R | 420 |
| 648 | TCA | ATT | GGG | GCG | ATT | ATT | ATC | GTC | ATA | GTA | GGG | GGT | GTT | TGT | ATT | CCC | ATA | TTA | ATT | AGG | 1260 |
| GA | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | 1260 |
| | R | R | R | R | R | R | T | R | G | L | F | D | E | Y | P | K | Y | M | T | L | 440 |
| 648 | CGT | AGG | AGA | CGA | CGT | CGC | ACG | AGG | GGG | TTA | TTC | GAT | GAA | TAT | CCC | AAA | TAT | ATG | ACG | CTA | 1320 |
| GA | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | 1320 |
| | P | G | N | D | L | G | G | M | N | V | P | Y | D | N | T | C | S | G | N | Q | 460 |
| 648 | CCA | GGA | AAC | GAT | CTG | GGG | GCC | ATG | AAT | GTA | CCG | TAT | GAT | AAT | ACA | TGC | TCT | GGT | AAC | CAA | 1380 |
| GA | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | 1380 |
| | Y | E | Y | Y | Q | E | K | S | A | K | M | K | R | M | G | S | G | Y | T | A | 480 |
| 648 | GTT | GAA | TAT | TAT | CAA | GAA | AAG | TCG | GCT | AAA | ATG | AAA | AGA | ATG | GGT | TCG | GGT | TAT | ACC | GCT | 1440 |
| GA | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | 1440 |
| | W | L | K | N | D | M | P | K | I | R | R | R | L | D | L | Y | H | * | | | 498 |
| 648 | TGG | CTA | AAA | AAT | GAT | ATG | CCG | AAA | ATT | AGG | AGA | CGC | TTA | GAT | TTA | TAC | CAC | TGA | | | 1494 |
| GA | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | 1494 |

图 3 vv⁺MDV 648 株 gE 基因核苷酸序列和推导的氨基酸序列，以及 648 株与 vMDV GA 株 gE 序列的比较

Fig.3 Nucleotide Sequence and deduced amino acid sequence of vv⁺MDV 648 strain gE gene, and comparison of gE gene between vv⁺MDV 648 strain and vMDV GA strain(* * * * * indicate N-glycosylation sites, ~ ~ ~ and indicate the potential signal sequences and transmembrane elements, respectively)

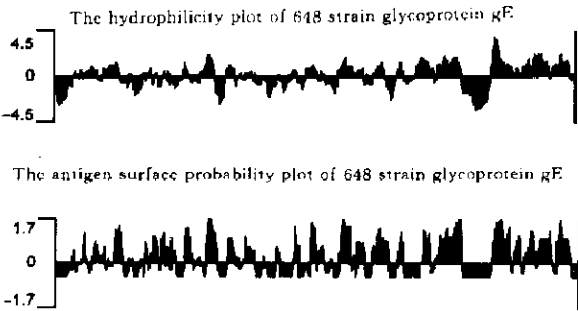


图 4 为根据其氨基酸序列进行的蛋白疏水性分析和抗原表位分析
Fig.4 The hydrophilicity plot and antigen surface probability plot of 648 strain glycoprotein gE

3 讨论

在单纯疱疹病毒 1 型(HSV-1)糖蛋白中,糖蛋白 E(gE)、I(gI)^[3~5]和其它一些糖蛋白在小鼠能激发抗致死剂量的 HSV-1 病毒的腹膜内和眼内攻毒;而且以体外表达 HSV-1 gE 诱导的抗体能显著预防 HSV-1 的潜伏性感染,并在补体调理下能中和 HSV-1 的感染。HSV-1 的 gE 和 gI 能形成一个可结合到免疫球蛋白 G(IgG)Fc 部分的复合体。VZV 的同源于 HSV-1 gE 的糖蛋白 gp I 也和其同源于 HSV-1 gI 的糖蛋白 gp IV 组成了一个参与在 VZV 感染细胞表面诱发的 Fc 受体活性反应的异二聚体^[6,7]。尽管此异二聚体通过封阻 Fc 的识别而使病毒逃避宿主的免疫机制,但其具体意义尚未明了。伪狂犬病病毒(PRV,属 α -疱疹病毒)的 gE-gI 聚合体是病毒粒子穿入宿主细胞所非必需的,但对于病毒在细胞与细胞间的传递和病毒与细胞膜融合又是必需的^[8,11,12]。目前,对 MDV 而言,还不清楚其 gE 能否结合到 IgG 的 Fc 区或它与 IgG Fc 片段的亲和性是否会被 gI 的协同作用所增强。

为此,本研究首次体外扩增了 MDV 特超强毒株的 gE 基因序列,并与 MDV 强毒 GA 株进行了分析比较。发现仅存在二个碱基的差异,并导致了相应的二个氨基酸的改变。此二者的不同与 MDV 的致病性强弱是否相关,还不清楚。所获得的 648 株 MDV gE 基因生物学功能的体外研究正在进行中。

参 考 文 献

- [1] 殷震,刘景华. 动物病毒学. 第 2 版. 北京:科学出版社,1997.1051~1066.
- [2] Ghiasi H, kaiwar R, Nesburn A B, *et al.* *Viol*, 1994,**68**:2118~2126.
- [3] Ghiasi H, kaiwar R, Nesburn A B, *et al.* *J Virol*, 1994,**66**:2505~2509.
- [4] Johnson D C, Feenstra V. *J Virol*, 1982,**61**:2208~2216.
- [5] Johnson D C, Frame M C, Ligas M W, *et al.* *J Virol*, 1988,**62**:1347~1354.
- [6] Litwin V, Jackson W, Grose C. *J Virol*, 1992,**66**:3643~3651.
- [7] Yao Z, Jackson W, Forghani B, *et al.* *J Virol*, 1993,**62**:305~314.
- [8] Zuckermann F A, Mettenleiter T C, Scheurs C, *et al.* *J Virol*, 1988,**62**:4622~4626.
- [9] Peter B, Leland F V. *Virology*, 1995,**206**:324~338.
- [10] 崔治中,何良梅. 中国病毒学,2000,15(2):180~187.
- [11] Dingwel K S, Brunetti C R, Hendricks, *et al.* *J Virol*, 1994,**68**:834~845.
- [12] Zsak L, Zuckermann F A, Sugg N, *et al.* *Viol*, 1992,**66**:2316~2325.

THE CLONE AND COMPARISON OF VERY VIRULENT PLUS MAREK'S DISEASE VIRUS(vv⁺ DMV)648 STRAIN GLYCOPROTEIN E(gE) GENE*

Liu Yuelong Cui Zhizhong He Liangmei Zhu Sujuan Qin Aijian

(Animal and Veterinary Science College, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: The glycoprotein E(gE) gene of very virulent plus Marek's Disease (vv⁺ MDV) 648

strain was amplified by polymerase chain reaction (PCR) and cloned into pUC₁₈ vector. The gE sequence was determined and analysed. The whole length of 648 strain gE gene is 1494 base pairs. The protein encoded by gE gene has several features characteristic of a membrane-associated glycoprotein. It contains eight potential glycosylation sites, a markedly hydrophobic region at the N terminus that could function as a signal peptide and a hydrophobic segment (aa 391~419) at C terminus that could function as a transmembrane anchor element. Comparison of the gE between 648 strain and virulent MDV (vMDV) GA strain revealed that gE sequence is conserved in MDV serotype 1, there are only two basepairs different, (at bp 512 and 1472), which induce two amino acids changed respectively (at aa 171 and 491). The function of 648 strain gE and the difference of gE between 648 strain and GA strain is on study.

Key words: vv⁺ MDV 648 strain, Glycoprotein E(gE), Clone, Sequence comparison