

# 我国大麦条纹花叶病毒的研究

## III. 外壳蛋白氨基酸组成和 N 末端

王小凤 马德芳 裴美云

(中国科学院微生物研究所, 北京)

张伊平 祁国荣

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海)

将大麦条纹花叶病毒新疆分离物 (BSMV-XJ), 用  $\text{CaCl}_2$  降解得到纯化的外壳蛋白。氨基酸组份分析表明, BSMV-XJ 蛋白含 16 种氨基酸, 其中天门冬氨酸、谷氨酸、丙氨酸、亮氨酸和精氨酸含量较高。不含胱氨酸、半胱氨酸和甲硫氨酸。用 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定 BSMV-XJ 蛋白分子量为  $23 \times 10^3$ 。DNS-Cl 法测定其 N 端, 证明是封闭的。

**关键词** 大麦条纹花叶病毒; 外壳蛋白; 氨基酸

关于从新疆小麦上分离到的大麦条纹花叶病毒 (BSMV-XJ) 核酸组份及其 3' 末端多聚腺苷酸结构的研究已作了报道<sup>[1,2]</sup>。为了进一步了解 BSMV-XJ 外壳蛋白的特性, 我们用  $\text{CaCl}_2$  降解病毒, 得到纯化的外壳蛋白, 对其紫外吸收特性、分子量、氨基酸组成及 N 末端进行了研究。

## 材料与 方法

### (一) BSMV-XJ 蛋白的制备

BSMV-XJ 的提纯基本参照前法<sup>[1]</sup>。BSMV-XJ 蛋白的提纯参考 Gumpf 等的方法<sup>[3]</sup>。提纯的 BSMV-XJ 对 1 M  $\text{CaCl}_2$  透析 20 小时, 离心除去核酸沉淀, 上清含 BSMV-XJ 蛋白, 将其透析后再经超离心除去杂质。蛋白浓度的定量按  $A_{280}^{1\%} = 1.7$  计。

### (二) 氨基酸组成分析

BSMV-XJ 蛋白 (2 mg/ml) 在 6 N 盐酸中, 110℃ 水解 24 小时, 用氨基酸自动分析仪测定氨基酸组成。采用 Graham 的对二甲氨基苯甲醛方法<sup>[4]</sup>测定色氨酸; 用 Ellman 盐酸胍方法<sup>[5]</sup>测定半胱氨酸。

### (三) 蛋白分子量测定

用 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳<sup>[6]</sup>测定 BSMV-XJ 蛋白分子量, 以牛血清蛋白、卵蛋白、细胞色素 C (分子量分别为 68,000、45,000 和 12,500) 作参照物。电泳前, 所有样品均加 1% SDS 和 1% 巯基乙醇, 用沸水浴处理 2 分钟。BSMV-XJ 蛋白上样量约 15  $\mu\text{g}$  左右。进行园管电泳, 电流 7 mA/管, 电泳 6 小时左右。电泳后, 用 7% 醋酸固定, 考马斯亮兰染色。

### (四) N-末端的测定

用 DNS-Cl (二甲氨基萘磺酰氯) 末端法测定<sup>[7]</sup>。BSMV-XJ 蛋白溶液 50  $\mu\text{l}$  (内含 86  $\mu\text{g}$  蛋白), 加等体积 DNS-Cl 丙酮液, 于 38℃ 保温 2 小时。抽干后加 0.2 ml 6 N 盐酸, 封管于 110℃ 水解 16 小时。用乙酸乙酯抽提标记物, 合并乙酸乙酯液, 浓缩后点样于聚酰胺薄膜, 经双向展层 (第一向, 甲酸: 水 = 1.5:100 (V/V); 第二向, 苯: 冰醋酸 = 9:1 (V/V), 紫外灯下观察结果。

## 试 验 结 果

### (一) BSMV-XJ 蛋白紫外吸收特性

BSMV-XJ 最高吸收在 260—270 nm, 最低吸收在 250—255 nm,  $A_{\text{max}}/\text{min} = 1.09$

本文于 1985 年 3 月 27 日收到。

—1.22,  $A_{260}/280 = 1.0-1.3$ 。BSMV-XJ 蛋白的最高吸收在 280 nm, 最低吸收在 250 nm,  $A_{\max}/\min = 2.1-2.66$ ,  $A_{260}/280 = 0.6$  (见图 1)。

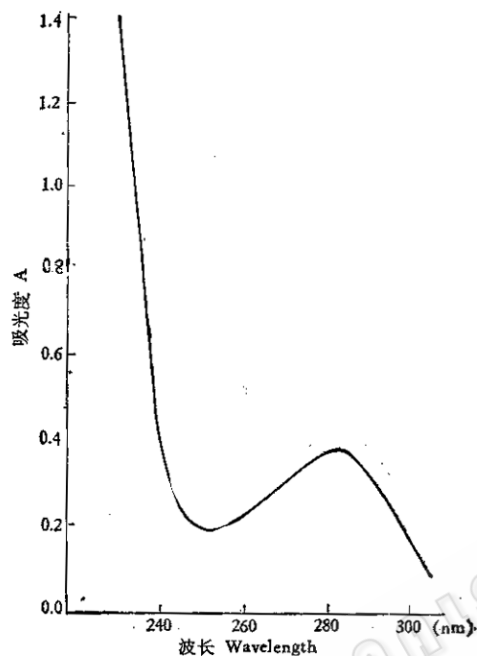


图 1 BSMV-XJ 蛋白紫外吸收光谱

Fig. 1 Ultraviolet absorption spectrum of BSMV-XJ protein

## (二) BSMV-XJ 蛋白的氨基酸组成

BSMV-XJ 蛋白水解后经氨基酸分析仪测出 16 种氨基酸(表 1), 其中天门冬氨酸、谷氨酸、丙氨酸、亮氨酸和精氨酸等含量较高。用 Graham 等的方法<sup>[4]</sup>定性测出了色氨酸。用 Ellman 等的方法<sup>[5]</sup>证明不含胱氨酸和半胱氨酸。

## (三) BSMV-XJ 蛋白分子量

从凝胶电泳结果(图 2)可见, BSMV-XJ 蛋白主带(图 2-a)与 BSMV-XJ 裂解液的蛋白带同处一水平(图 2-b), 此外, 在相当于细胞色素 c 的位置有一极浅的带, 可能是蛋白提纯过程中的降解物。

从参照蛋白所作标准曲线测出 BSMV-

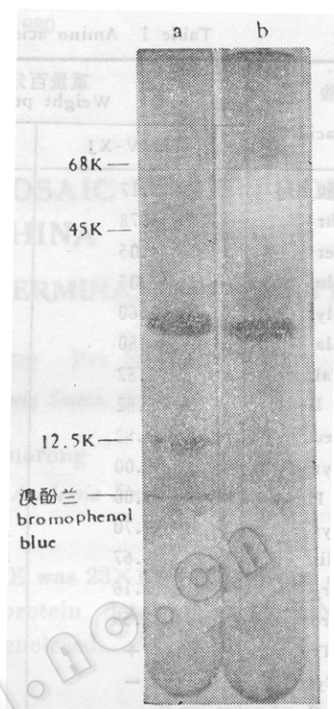


图 2 BSMV-XJ 蛋白的 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳

a. BSMV-XJ 提纯的蛋白 b. BSMV-XJ 解聚后的蛋白样品 左边是参照蛋白分子量

Fig. 2 10% SDS-PAGE of BSMV-XJ protein  
a. Purified protein b. Protein sample of dissociated virus M. W. of protein markers were positioned on the left lane

XJ 蛋白分子量为 23,000。

从 BSMV-XJ 蛋白分子量和氨基酸组成, 可推算出 BSMV-XJ 蛋白分子约含 186 个氨基酸(色氨酸为定性结果, 未列个数)。

## (四) BSMV-XJ 蛋白的 N 末端

在紫外灯下观察, 除了 DNS-OH、酪氨酸羟基与 DNS 的衍生物外, 没有 N 端的游离氨基与 DNS 形成的衍生物出现, 说明该蛋白的 N 端是封闭的。

## 讨 论

从以上试验结果可以看出, BSMV-XJ 蛋白的紫外吸收特性、氨基酸组成种类、百

表 1 BSMV-XJ 蛋白氨基酸组成

Table 1 Amino acid composition of BSMV-XJ coat protein

氨基酸 Amino acid	重量百分比 Weight percent		分子数 Number of molecules	
	BSMV-XJ	Atabekov <sup>[8]</sup>	BSMV-XJ	Atabekov <sup>[8]</sup>
天门冬氨酸 Asp	13.17	13.23	24	25—26
苏氨酸 Thr	4.78	4.05	10	9
丝氨酸 Ser	4.05	3.47	9	9
谷氨酸 Glu	12.05	11.16	20	19—20
甘氨酸 Gly	2.60	2.03	8	8
丙氨酸 Ala	6.80	6.53	19	20
缬氨酸 Val	4.82	4.53	10	10
异亮氨酸 Ile	3.82	3.03	7	6
亮氨酸 Leu	10.52	10.60	20	21
酪氨酸 Tyr	4.00	5.56	5	8
苯丙氨酸 Phe	5.00	4.52	7	7
赖氨酸 Lys	4.70	3.68	8	7
组氨酸 His	3.67	2.37	6	4
精氨酸 Arg	12.16	11.79	17	17
脯氨酸 Pro	7.59	5.68	16	12—13
色氨酸* Try	+	4.12	+	5
胱氨酸 Cyss	—	—	—	—
半胱氨酸 Cys	—	—	—	—
甲硫氨酸 Met	—	—	—	—
总数 Total			186	187—190

注：色氨酸系定性测定，未计分子个数。

Note: For tryptophane only qualitative analysis was made.

分比与 Gumpf 等<sup>[3]</sup>和 Atabekov 等<sup>[8]</sup>报道的资料相近。个别氨基酸含量的差别可能反映了不同毒株外壳蛋白的特性。例如 BSMV-XJ 蛋白中脯氨酸含量稍高于国外报道的资料。不同毒株外壳蛋白氨基酸组成上的差异也见于其它病毒<sup>[9]</sup>。

由于方法的不同(沉降法、聚丙烯酰胺凝胶电泳等)，BSMV 蛋白分子量的报道稍有差别<sup>[10]</sup>，其范围在 21,500—25,000 之间。

据文献报道，四种烟花叶病毒毒株的外壳蛋白、苜蓿花叶病毒和萝卜黄化花叶病毒蛋白的 N 端氨基酸均由乙酰基所保护<sup>[11]</sup>。从我们的试验结果看，BSMV-XJ 蛋白 N 端是封闭的，但是否由乙酰基保护尚须进一步研究。

## 参 考 文 献

- [1] 裴美云等：生物化学与生物物理学报，14 (3): 273—277, 1982。
- [2] 祁国荣等：生物化学与生物物理学报，16(3): 216—220, 1984。
- [3] Gumpf, D. J. et al.: *Virology*, 35: 87—93, 1968.
- [4] Graham, J. R. et al.: *Anal. Chem.*, 21: 1249—1266, 1947.
- [5] Ellman, G. L. et al.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 82: 70—79, 1959.
- [6] Weber, K. et al.: *J. Biological Chemistry*, 244 (16): 4406—4412, 1969.
- [7] 陈远聪等：生物化学与生物物理进展，1: 38, 1975。
- [8] Atabekov, J. G. et al., *Virology*, 36: 620—638, 1968.
- [9] 张友尚等：生物化学与生物物理学报，3: 47—54, 1964。
- [10] Jackson, A. O. et al.: *Handbook of Plant Virus Infections and Comparative Diagnosis*,

- E. Kurstak (ed.) Elsevier./North-Holland  
Biochemical Press, p. 582—593, 1981.  
[11] Croft, L. R.: Handbook of Protein Sequence

Analysis, 2nd ed. John Wiley and Sons Ltd.,  
1980.

## STUDY OF BARLEY STRIPE MOSAIC VIRUS FROM XINJIANG OF CHINA

### III. AMINO ACID COMPOSITION AND N-TERMINAL OF COAT PROTEIN

Wang Xiaofeng Ma Defang Pei Meiyun  
(*Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing*)

Zhang Yiping Qi Guorong  
(*Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica, Shanghai*)

Coat protein was isolated from barley stripe mosaic virus Xinjiang isolate (BSMV-XJ) by calcium chloride dissociation. The analysis of amino acid composition showed that the BSMV-XJ protein contained 16 amino acids, among which Asp, Glu, Ala, Leu and Arg were in high percentage and without Cyss, Cys and Met. The M. W. estimated by 10% SDS-

PAGE was  $23 \times 10^3$ . N-terminal of BSMV-XJ protein determined by DNS-method was enclosed.

#### Key words

Barley stripe mosaic virus; Coat protein; Amino acids